



# REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG



Tese de Doutorado

## "DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE SISTEMAS PARA LIBERAÇÃO PROLONGADA DE FERTILIZANTES OBTIDOS COM NANOFIBRAS DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB) INCORPORADAS COM HIDROGÉIS"



Autor: Artur Caron Mottin



Orientador: Prof. Dr. Jairo José Drummond Câmara  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliane Ayres

Novembro de 2016



# REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG

**Artur Caron Mottin**

**"DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE SISTEMAS PARA LIBERAÇÃO PROLONGADA DE FERTILIZANTES OBTIDOS COM NANOFIBRAS DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB) INCORPORADAS COM HIDROGÉIS"**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais da REDEMAT, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Análise e Seleção de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Jairo José Drummond Câmara

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Eliane Ayres

Ouro Preto, Novembro de 2016

M922d Mottin, Artur Caron.  
Desenvolvimento e aplicação de sistemas para liberação prolongada de fertilizantes obtidos com nanofibras de POLI(3-hidroxi-butirato) (PHB) incorporadas com hidrogéis [manuscrito] / Artur Caron Mottin. - 2016.  
109f.: il.: color; graf.; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Jairo José Drummond Câmara.  
Coorientadora: Profa. Dra. Eliane Ayres.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Rede Temática em Engenharia de Materiais.  
Área de Concentração: Análise e Seleção de Materiais.

1. Nanotecnologia - Fibras. 2. Eletrofição. 3. Hidrogel. 4. Adubos e fertilizantes. I. Câmara, Jairo José Drummond. II. Ayres, Eliane. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 620.3

Catálogo: [www.sisbin.ufop.br](http://www.sisbin.ufop.br)



## REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP - UEMG

Pós-Graduação em Engenharia de Materiais



### “Desenvolvimento e Aplicação de Sistemas para Liberação Prolongada de Fertilizantes Obtidos com Nanofibras de Poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) Incorporadas com Hidrogéis”

**Autor: Artur Caron Mottin**

Tese defendida e aprovada, em 16 de novembro de 2016, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Jairo José Drummond Câmara (Doutor) - Orientador  
Universidade do Estado de Minas Gerais / REDEMAT

Prof.ª Patrícia Santiago de Oliveira Patrício (Doutora)  
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais  
Campus Belo Horizonte

Prof. Carlos Alberto Silva de Miranda (Doutor)  
Universidade do Estado de Minas Gerais

Prof. Róber Dias Botelho (Doutor)  
Universidade do Estado de Minas Gerais

Prof.ª Eliane Ayres (Doutora) – Co-orientadora  
Universidade do Estado de Minas Gerais

REDEMAT / Escola de Minas / Universidade Federal de Ouro Preto  
Praça Tiradentes, 20 - Centro - CEP 35.400-000 - Ouro Preto - MG  
Tel./ Fax 31 3559-1596 - Home page: [www.redemat.ufop.br](http://www.redemat.ufop.br) - Email: [redemat@redemat.em.ufop.br](mailto:redemat@redemat.em.ufop.br)

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”. (Albert Einstein)

## **Dedicatória**

A minha família, Jorge, Maria, Raquel, Matheus e Caroline.

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador Prof. Dr. Jairo José Drummond Câmara, por despertar o interesse na área da pesquisa, pela amizade, pelas orientações, incentivo nos momentos difíceis e pelas boas conversas sobre a vida, regadas a bons cafés.

À minha co-orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Eliane Ayres, pela amizade, incentivo, pelo exemplo de amor e dedicação à ciência, e pela ajuda ímpar com análises, testes, estudos e correções durante todo o caminho percorrido.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Lambert Oréfice, pelo acolhimento no LEPCOM – Laboratório de Estudos em Polímeros e Compósitos da Universidade Federal de Minas Gerais, e por colaborar com os ensaios da tese.

À prof.<sup>a</sup> Dra. Patrícia Santiago de Oliveira Patrício, pela colaboração e apoio.

Ao prof. Dr. Carlos Alberto Silva de Miranda, pelo apoio e incentivo desde minha época de aluno da Escola de Design, e depois como colega na mesma instituição.

Ao prof. Dr. Róber Dias Botelho, pelo apoio e colaboração.

Às instituições REDEMAT, UFOP, UEMG, CEFET/MG e UFMG pelo auxílio nos estudos e a CAPES pela bolsa concedida.

Ao Prof. Dr. Antônio Valadão Cardoso e equipe por disponibilizar a infraestrutura do CBEIH – Centro de Bioengenharia de Espécies Invasoras de Hidrelétricas, para realização de ensaios da tese.

Aos colegas da UEMG, André Mol, Eduardo Wilke, Lia Paletta, Paulo Miranda, Samantha Cidaley, Robert Gomes, Fernando Casanova, e Marcos Breder por me incentivarem durante o andamento do doutorado. Aos colegas de Laboratório (LEPCOM) Orlando, Camila, Monique, Diego, Sarah, Giuliano, Alberto, Renata, a prof. Janaína Villanova, pelo apoio e companheirismo, e em especial Tadeu Henrique de Lima por dividir o aprendizado e estudos sobre eletrofiação, a Marys Lene Braga de Almeida pela paciência e ajuda com o espectrofotômetro UV-Vis, e a Clara Trindade pela ajuda na preparação de amostras e realização de testes.

À minha família que sempre me proporcionou momentos especiais, com muito carinho, amor, compreensão e incentivo em todas as etapas da minha vida. A meus pais Maria da Graça e Jorge Mottin, pelo amor, educação, incentivo e toda ajuda na minha formação. A minha irmã Raquel pelo companheirismo, atenção e carinho durante todos estes anos. Ao meu sobrinho e afilhado Matheus, por trazer alegria e mais amor a nossa família. A Caroline Pagnan pelo amor incondicional, carinho, companheirismo, compreensão, ajuda, e por tornar esta uma jornada muito mais tranquila e feliz de se estar.

Agradeço a todos colegas que por ventura tenha esquecido de mencionar, e que colaboraram para o sucesso deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
2.1 Objetivo geral .....	5
2.2 Objetivos específicos.....	5
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>6</b>
3.1 Contexto dos polímeros biodegradáveis .....	6
3.1.1 Poli(hidroxi butirato) (PHB).....	8
3.1.2 Gelatina (GEL).....	11
3.1.3 Quitosana (QUI) .....	13
3.2 Eletrofição .....	14
3.3 Nanofibras de poli(hidroxi alcanoatos) (PHAs).....	27
3.4 Sistemas para liberação prolongada de fertilizantes .....	30
<b>4 RECURSOS UTILIZADOS E METODOLOGIA</b> .....	<b>36</b>
4.1 Materiais.....	36
4.2 Metodologia .....	39
4.3 Métodos.....	42
4.3.1 Preparação das soluções para eletrofição.....	42
4.3.2 Produção das nanofibras .....	43
4.3.3 Preparação dos filmes de gelatina e quitosana .....	44
4.4 Caracterizações.....	44
4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	44
4.4.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR) .....	44
4.4.3. Análise Termogravimétrica (TGA).....	44
4.4.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	45
4.4.5 Espalhamento de Raios X a Baixo Ângulo (SAXS) .....	45
4.4.6 Difração de Raio X (XRD) .....	45
4.4.7 Ensaio de Tração .....	45
4.4.8 Espectrofotometria na Região Ultravioleta e Visível (UV-Vis) .....	46
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>47</b>
5.1 Produção das nanofibras de PHB .....	47
5.2 Estudo das propriedades das nanofibras de PHB .....	56
5.3 Estudos do comportamento de liberação da ureia nos compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia.....	73
5.4 Produção do artefato de liberação controlada .....	87
<b>6 CONCLUSÃO E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>92</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>94</b>
<b>8 ANEXOS</b> .....	<b>107</b>
8.1 Lista de equipamentos utilizados nos ensaios .....	107
8.2 Projeto técnico do artefato para liberação prolongada .....	108
8.3 Deconvolução do Espectro FTIR .....	108

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Classificação dos polímeros quanto à compostabilidade. ....	6
<b>Figura 2:</b> Classificação dos principais polímeros biodegradáveis. ....	7
<b>Figura 3:</b> Classificação dos poliésteres biodegradáveis. ....	8
<b>Figura 4:</b> <i>Alcaligenes latus DSM 1122</i> - Célula no final da fase de acumulação contendo aproximadamente 93% de PHB - Magnitude: 6000 x. ....	9
<b>Figura 5:</b> Processo de eletrofição. ....	16
<b>Figura 6:</b> Evolução da formação do cone de Taylor em relação ao tempo. O tempo zero representa o início do processo de eletrofição. ....	17
<b>Figura 7:</b> Estrutura do jato polimérico eletrofiado. ....	17
<b>Figura 8:</b> Fotografia de quatro jatos poliméricos característicos do processo de eletrofição com segmento linear e região de espalhamento. ....	18
<b>Figura 9:</b> Evolução da morfologia das fibras de poli(óxido de etileno) em função do aumento da viscosidade. ....	20
<b>Figura 10:</b> Morfologia das fibras de PHB submetidas a diferentes tensões de processamento. ....	22
<b>Figura 11:</b> Efeitos da polaridade no processamento por eletrofição. ....	23
<b>Figura 12:</b> Mecanismo de formação de contas. As imagens correspondem a diferentes distâncias da ponta da agulha até o coletor: (a) 1 cm; (b) 3 cm; (c) 5 cm; (d) 7 cm; (e) 9 cm; (f) 12 cm; (g) 15 cm; (h) 30 cm. ....	24
<b>Figura 13:</b> Morfologia das fibras com o uso de diferentes coletores: (a) coletor estático; (b) coletor rotativo de alta velocidade; (c) coletor rotativo de baixa velocidade. ....	25
<b>Figura 14:</b> Estrutura química de um hidrogel. ....	31
<b>Figura 15:</b> Representação esquemática da fórmula do Poli(hidroxi-butarato) (PHB). ....	36
<b>Figura 16:</b> Representação esquemática da fórmula da Gelatina (GEL). ....	36
<b>Figura 17:</b> Representação esquemática da fórmula da Quitosana (QUI). ....	37
<b>Figura 18:</b> Representação esquemática da fórmula do Clorofórmio. ....	37
<b>Figura 19:</b> Representação esquemática da fórmula do N,N - Dimetilformamida. ....	38
<b>Figura 20:</b> Representação esquemática da fórmula do Glutaraldeído. ....	38
<b>Figura 21:</b> Representação esquemática da fórmula da Ureia. ....	38
<b>Figura 22:</b> Representação esquemática da fórmula do 4-Dimetilaminobenzaldeído. ....	39
<b>Figura 23:</b> Esquema da metodologia utilizada no desenvolvimento do trabalho. ....	40
<b>Figura 24:</b> Equipamento de eletrofição com dois acionadores de seringa. ....	43
<b>Figura 25:</b> Esferas a partir de solução de PHB 2% em clorofórmio. (a) d= 12,5 cm; (b) d= 15 cm. ....	48
<b>Figura 26:</b> Microfibras obtidas a partir de solução 5% de PHB em clorofórmio e eletrofiadas usando V= 13 kV. ....	49
<b>Figura 27:</b> Microfibras obtidas a partir de solução 5% de PHB em clorofórmio e eletrofiadas usando V= 17 kV. ....	50
<b>Figura 28:</b> Resultados obtidos com a eletrofição de soluções 4% de PHB em diferentes solventes. (a) esferas com PHB solubilizado em clorofórmio; (b) nanofibras com PHB solubilizado em clorofórmio e DMF na proporção 90:10. ....	51
<b>Figura 29:</b> Estudo da influência da distância entre o coletor e a ponta da agulha (d) na morfologia obtida com a eletrofição da solução de PHB 6% solubilizado em clorofórmio e DMF na proporção 90:10: (a) d= 5 cm; (b) d= 10 cm; (c) d= 15 cm. ....	53

<b>Figura 30:</b> Estudo da influência da tensão (V) aplicada na morfologia das nanofibras obtidas para PHB 6% solubilizado em clorofórmio e DMF na proporção 90:10: (a) V= 12,5 kV; (b) V= 13,5 kV; (c) V= 10,5 kV.....	55
<b>Figura 31:</b> Micrografia da manta eletrofiada de nanofibras de PHB.....	56
<b>Figura 32:</b> Espectro FTIR: (a) Pó do PHB (como recebido); (b) Nanofibras de PHB; (c) Filme termo-prensado de PHB.....	57
<b>Figura 33:</b> Difrátogramas (DRX) do PHB: (a) filme termoprocessado por compressão; (b) manta de nanofibras. Os planos de difração associados à forma cristalina $\alpha$ foram indicados. O pico em cerca de $2\Theta = 20^\circ$ indica a presença da forma cristalina $\beta$ . .....	60
<b>Figura 34:</b> Curvas de resfriamento e segundo aquecimento obtidas por DSC: (a) Filme de PHB termoprocessado; (b) Manta de nanofibras eletrofiadas de PHB.....	62
<b>Figura 35:</b> SAXS 2D: (a) Filme de PHB termoprocessado; (b) Manta de nanofibras de PHB eletrofiado.....	64
<b>Figura 36:</b> Perfis de SAXS com correção de Lorentz: (a) filmes de PHB termoprocessados; (b) mantas de nanofibras de PHB eletrofiado.....	66
<b>Figura 37:</b> Modelo lamelar ideal mostrando o espaço d entre as lamelas cristalinas adjacentes. ....	66
<b>Figura 38:</b> Curvas TG e DTG: (a) Filme de PHB termoprocessado; (b) Manta de nanofibras de PHB eletrofiado.....	69
<b>Figura 39:</b> Propriedades de tração do filme de PHB termoprocessado e das mantas de nanofibras eletrofiadas: (a) resistência à tração; (b) alongamento na ruptura; (c) módulo de elasticidade.....	70
<b>Figura 40:</b> Formato da gota de água no lado do ar: (a) Filme de PHB ( $\theta=77^\circ$ ); (b) Nanofibras de PHB ( $\theta=130^\circ$ ).....	72
<b>Figura 41:</b> Gráfico de inchamento em água (%) versus tempo (min) para gelatina e quitosana. ....	74
<b>Figura 42:</b> Curva de calibração da ureia para absorvância versus concentração (parte por milhão). ....	78
<b>Figura 43:</b> Curvas de liberação da ureia (%) versus tempo (minutos) para os compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia.....	81
<b>Figura 44:</b> Micrografias do compósito nanofibras de PHB / gelatina: (a) região da fratura; (b) detalhe da interface nanofibras e matriz.....	82
<b>Figura 45:</b> Micrografias do compósito nanofibras de PHB com quitosana: (a) região da fratura; (b) detalhe da interface nanofibras e matriz.....	83
<b>Figura 46:</b> Valores de tensão de ruptura (MPa) das nanofibras de PHB, das matrizes e dos compósitos: (a) Gelatina; (b) Quitosana.....	84
<b>Figura 47:</b> Gráficos de deformação (%) das nanofibras de PHB, das matrizes e dos compósitos: (a) Gelatina; (b) Quitosana.....	85
<b>Figura 48:</b> Gráficos do Módulo de Young (MPa) das nanofibras de PHB, das matrizes e dos compósitos: (a) Gelatina; (b) Quitosana.....	85
<b>Figura 49:</b> MEV do compósito de quitosana com nanofibras de PHB: superfície (a) e fratura (b). ....	86
<b>Figura 50:</b> MEV do compósito de gelatina com nanofibras de PHB: superfície (a) e fratura (b). ....	87
<b>Figura 51:</b> Projeto do molde realizado em software paramétrico de modelamento 3D.....	88
<b>Figura 52:</b> Componentes do molde após o processo de usinagem.....	88
<b>Figura 53:</b> Artefato desenvolvido por moldagem por vazamento.....	89
<b>Figura 54:</b> Vasos com semente de painço. À esquerda o arcabouço com compósito nanofibras de PHB / gelatina / ureia no centro do vaso e a direita o vaso controle (sem o compósito). ....	89

- Figura 55:** Mudanças de painço estudadas no teste de germinação: (a) vaso com arcabouço do compósito de nanofibras de PHB / gelatina / ureia; (b) vaso controle (sem o compósito). ..... 90
- Figura 56:** Mudanças após 7 dias do plantio: (a) vaso com arcabouço do compósito de nanofibras de PHB / gelatina / ureia; (b) vaso controle (sem o compósito). ..... 91

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Parâmetros do processo de eletrofiação e seus efeitos sobre a morfologia das fibras. ....	26
<b>Tabela 2:</b> Parâmetros de processamento e solubilidade para nanofibras de PHB.....	29
<b>Tabela 3:</b> Bandas FTIR e suas áreas correspondentes após a deconvolução da região da carbonila. ....	58
<b>Tabela 4:</b> Índice de absorção calculado através da razão $A_{1228} / A_{1453}$ .....	59
<b>Tabela 5:</b> Parâmetros morfológicos da estrutura lamelar do filme de PHB termoprocessado e das mantas de nanofibras de PHB eletrofiadas. ....	68
<b>Tabela 6:</b> Tabela de correspondência entre as concentrações em porcentagem (%) e molaridade (M) da solução de ureia. ....	76
<b>Tabela 7:</b> Análises dos dados do carregamento da ureia nos compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana. ....	80

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

$\mu\text{A}$	Microampère
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$2\theta$	Ângulo de Bragg
Å	Angstrom
AAC	Alifático-aromático copoliéster
cm	Centímetro
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
cp	Centipoise (unidade de medida de viscosidade dinâmica)
DMF	Dimetilformamida
DRX	Difração de raio X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
FC	Força de Coulomb
FCE	Força do campo eletromagnético
FG	Força da gravidade
FTIR	Espectrometria de absorção na região do infravermelho
G	Gauges
g	Gramas
GEL	Gelatina
GLU	Glutaraldeído

h	Hora
HFIP	Hexafluoroisopropanol
IA	Índice de absorção
K	Potássio
kg	Quilograma
kV	Quilovolt
keV	Quiloeletronvolt
L	Litro
M	Molar
MEV	Microscopia eletrônica de Varredura
min	Minutos
ml	Mililitro
mm	Milímetro
ms	Milisegundo
MPa	Mega Pascal
M <sub>w</sub>	Massa molecular / peso molecular
N	Newton
N	Nitrogênio
NH <sub>3</sub>	Amônia
nm	Nanômetro
ns	Nanosegundo

NPK	Fertilizante (nitrogênio, fósforo e potássio)
°C	Graus Celsius
P	Fósforo
pA	Picoampère
PA	Polímero de amido
PA6	Poliamida 6 / Nylon 6
PAA	Poli(ácido acrílico)
PBS	Poli(butileno succinato)
PBSA	Poli(butileno succinato adipato)
PBT	Poli(butileno tereftalato)
PCL	Poli(caprolactona)
PE	Polietileno
PET	Poli(etileno tereftalato)
pH	Potencial de Hidrogênio
PHA	Poli(hidroxiálcanoato)
PHB	Poli(hidroxibutirato)
PHB/HHx	Poli(3-hidroibutirato-co-3hidroxihexanoato)
PHB-V	Poli-b-(hidroxibutirato-co-valerato)
PHH	Poli(hidroxihexanoato)
PLA	Poli(ácido láctico)
POE	Poli(óxido de etileno)

POEA	Poli(o-etoxianilina)
PP	Polipropileno
ppm	Partes por milhão
PS	Poliestireno
PTMAT	Poli(tetrametileno adipato/tereftalato)
QUI	Quitosana
rpm	Rotações por minuto
s	Segundo
SAXS	Espalhamento de raios X de baixo ângulo
TFA	Ácido trifluoroacético
Tg	Temperatura de transição vítrea
TGA	Análise Termogravimétrica
Tm	Temperatura de fusão
V	Tensão
Vicat	Temperatura de amolecimento
WAXS	Espalhamento de raios X de alto ângulo
WS	Glúten de trigo
$\beta$	Beta

## RESUMO

Para atender à crescente demanda de alimentos, o setor agrícola é obrigado a empregar enormes quantidades de fertilizantes produzindo um impacto ambiental indesejável. A expectativa é que a demanda per capita por alimento dobre por volta de 2050. Portanto, é de suma importância desenvolver sistemas que aumentem a produção e reduzam os problemas ambientais. Os potenciais riscos e outros fatores relacionados à poluição do meio ambiente têm imposto algumas limitações ao uso da ureia como fonte de nutrientes para as plantas. Portanto, é imperativo melhorar o desempenho da ureia durante a sua utilização. Fertilizantes de liberação controlada são tidos como uma das soluções para aumentar o rendimento das culturas, reduzindo a poluição ambiental causada pelas emissões perigosas de nitratos dos fertilizantes. O presente trabalho tem por objetivo desenvolver e testar sistemas de liberação prolongada para fertilizantes, usando nanofibras de PHB obtidas pela técnica de eletrofiação incorporadas com hidrogel de gelatina ou quitosana carregado com ureia. A morfologia das nanofibras obtidas foi acompanhada com auxílio do MEV. O grau de cristalinidade das nanofibras foi avaliado através de FTIR, XRD, DSC e SAXS. Os resultados de FTIR apontaram que as nanofibras de PHB são menos cristalinas do que o filme de PHB obtido por termoprensagem. Pela análise de XRD foi possível estimar o tamanho dos cristalitos de PHB nas nanofibras em 190 Å. A eficiência do carregamento de ureia no hidrogel de quitosana incorporado nas nanofibras de PHB foi mais alta do que no hidrogel de gelatina incorporado nas nanofibras de PHB. Os resultados das propriedades mecânicas indicaram que a presença das nanofibras de PHB promoveu um aumento de 100 % na tensão na ruptura em relação à gelatina pura e demonstra a capacidade de reforço das nanofibras de PHB quando adicionado à matriz. No entanto, para a quitosana, a combinação das nanofibras com a matriz ocasionou uma redução no valor da tensão de ruptura, da ordem de 87% aproximadamente. As curvas de liberação da ureia obtidas com o uso do espectrofotômetro UV-Vis mostraram que o efeito “*burst*” ainda não superado, ocorrendo a liberação de grande parte da ureia no início dos experimentos. Apesar disso, foi possível perceber que após o “*burst*” inicial de liberação da ureia, o compósito obtido com gelatina passou a liberar a ureia mais lentamente do que aquele obtido com quitosana. Esse resultado foi explicado através das análises de MEV, realizadas para avaliar a interação entre as fases do sistema hidrogel/nanofibras. Por fim, foi desenvolvido um dispositivo tridimensional para o crescimento de mudas de painço a partir dos compósitos PHB / hidrogel / ureia. Os resultados demonstraram que o dispositivo é promissor, pois além de prolongar a liberação da ureia, cria um ambiente com umidade constante devido à presença do hidrogel.

**Palavras-chave:** PHB, Nanofibras, Hidrogel, Ureia, Liberação prolongada.

## **ABSTRACT**

To meet the growing demand for food, the agricultural sector is required to use huge amounts of fertilizer producing an undesirable environmental impact. The expectation is that the per capita demand for food double by 2050. Therefore, it is very important to develop systems that increase production and reduce environmental problems. Potential risks and other factors related to environmental pollution have imposed some limitations to the use of urea as a source of nutrients for plants. Therefore, it is imperative to improve the performance of urea during use. Controlled release fertilizers are regarded as one of the solutions to increase crop yields, reducing environmental pollution caused by hazardous emissions of nitrate fertilizers. This study aims to develop and test extended-release systems for fertilizer, using as nanofiber matrix of PHB obtained by electrospinning technique incorporated gelatin hydrogel or chitosan loaded with urea. The morphology of the nanofibers obtained was accompanied with the aid of SEM. The degree of crystallinity of the nanofibers was evaluated by FTIR, XRD, DSC and SAXS. The FTIR results showed that PHB nanofibers are less crystalline than the PHB film obtained by thermopressing. By XRD analysis it was possible to estimate the crystallite size of the PHB nanofibers at 190 Å. The efficiency of urea loading on chitosan hydrogel embedded in the nanofiber PHB was higher in the gelatin hydrogel embedded in the nanofiber PHB. The results of the mechanical properties indicated that the presence of nanofibers PHB caused a 100% increase in the stress at break compared to the pure gelatin and demonstrates the enhanced capability of nanofibers PHB when added to the matrix. However, for chitosan, the combination of the nanofiber with the matrix caused a reduction in the value of breakdown voltage, of approximately -87% order. The urea release curves obtained with the use of UV-Vis spectrophotometer showed that the effect "burst" not exceeded, the release occurs much of urea at the beginning of the experiments. Nevertheless, it is noted that after the burst initial release of the urea, the composite obtained gelatin began to slowly release the more urea than that obtained with chitosan. This result was explained by the SEM analyzes carried out to assess the interaction between the phases of the hydrogel system / nanofibers. Finally, we developed a three-dimensional device for growing millet seedlings from composite PHB / hydrogel / urea. The results showed that the device is promising as well as prolong the release of urea, creates an environment with constant humidity due to the presence of the hydrogel.

**Keywords:** PHB, nanofibers, Hydrogel, urea, prolonged release.

## **1 INTRODUÇÃO**

A humanidade vem usando os polímeros há milhares de anos. Antigamente, gomas naturais de plantas eram usadas para aderir pedaços de madeira na construção de casas. Quando os antigos começaram a explorar os oceanos, gomas naturais provenientes de plantas eram usadas para criar coberturas em botas e deixá-las a prova d'água. Naquela época as pessoas não sabiam até que ponto os polímeros poderiam ser utilizados, de modo que sua aplicação era restrita. Antigamente se dependia dos polímeros naturais, o que restringia a modificação da formulação do material, não permitindo assim melhorias nas suas propriedades. (SIN et. al., 2013; SUN, 2013)

O desenvolvimento dos polímeros sintéticos é considerado um dos grandes avanços do século XX, devido à multiplicação de suas possibilidades, não só na indústria, mas na vida cotidiana. Estes polímeros sintéticos são obtidos principalmente a partir do petróleo e são criados para funções específicas. Os plásticos são populares porque eles são ao mesmo tempo econômicos, leves, resistentes à oxidação, não afetados fortemente pelo intemperismo, versáteis, são isolantes elétricos e podem substituir a madeira, pedra ou metal em muitas funções. (VALERO-VALDIVIESO et. al., 2013)

Os materiais compósitos, sobretudo os de matriz termoplástica, impuseram-se nas últimas décadas do século XX como um dos grupos de materiais mais utilizados e empregados nos setores tecnológicos. Estes materiais foram aplicados, em sua maioria, nos setores de construção civil (tintas, concreto, telhas e revestimentos), indústria eletroeletrônica (placas de circuito), automotiva (chassis, pneus e componentes estruturais) e produtos de lazer (indústria náutica e esportiva). Existem ainda aplicações já consolidadas, como na indústria aeronáutica e aeroespacial, na produção de peças como fuselagem e estruturas. (OLIVEIRA, 2005)

No entanto, essas mesmas vantagens que impulsionaram os polímeros e os materiais compósitos de matriz polimérica, podem ser seus piores inconvenientes. A alta resistência à corrosão, à água e à decomposição bacteriana dos seus resíduos, torna difícil a remoção do material do meio ambiente, tornando-se um problema de ordem ambiental. Por estas razões, conseguir substituir plásticos convencionais por polímeros biodegradáveis, particularmente em produtos de vida útil reduzida, como em embalagens e na agricultura, é de grande interesse para a sociedade como um todo, tanto para as indústrias de plástico como para os cidadãos. (AVÉROUS & POLLET, 2012) Diferentes classificações dos vários polímeros biodegradáveis

têm sido propostas. Avérous & Pollet (2012) propuseram uma classificação final bastante simples na qual os polímeros biodegradáveis podem ser divididos em duas categorias principais: os derivados de fontes renováveis (chamaram de agropolímeros) e os poliésteres biodegradáveis ou biopoliésteres (fonte renovável ou petroquímica).

A quitina é o segundo polímero derivado de fonte renovável mais abundante da natureza depois de celulose. É um polissacarídeo acetilado a partir do qual, através de desacetilação, é obtida a quitosana. (LARANJEIRA & de FÁVERE, 2009) As proteínas também fazem parte desse grupo e são produzidas por animais, plantas e bactérias. Dentre as proteínas, a gelatina é a mais amplamente utilizada devido à sua abundância. É obtida pelo tratamento hidrolítico de colágeno, a principal proteína estrutural da maioria dos tecidos conjuntivos. (URANGA et al., 2016) Tanto a quitosana como a gelatina são polímeros que podem se apresentar sob a forma de hidrogel.

Hidrogéis são definidos como materiais poliméricos com capacidade de inchar em água e reter uma fração significativa de água (maior que 20%) no interior de suas estruturas sem, no entanto, dissolver na água. (ZOHURIAAN-MEHR & KABIRI, 2008) A possibilidade de aproveitar a capacidade de absorção de água dos hidrogéis para contornar problemas no setor da agricultura tem sido vastamente pesquisada. (ZOHURIAAN-MEHR & KABIRI, 2008)

O nitrogênio (N) é o principal agente para favorecer o crescimento foliáceo (folhas), sendo absorvido principalmente nas primeiras fases de desenvolvimento da planta. A falta desse nutriente prejudica o crescimento e, conseqüentemente, a produção. Ele é importante no cultivo da cana-de-açúcar e do milho, sendo as duas culturas responsáveis por quase 60% do consumo brasileiro deste componente. O fósforo (P) é indispensável na transformação dos hidratos de carbono em açúcares, participando de forma determinante no processo de divisão celular. É importante na formação da clorofila e no desenvolvimento das raízes da planta. É essencial para o plantio da soja, que utiliza cerca de 56% do volume total consumido no Brasil. O potássio (K) é importante na produção dos amidos e açúcares e para a respiração e desenvolvimento das raízes. Sem este nutriente a planta atrofia. Também é amplamente utilizado no cultivo da soja e da cana-de-açúcar. (SILVA et. al., 2013)

No entanto, o nitrogênio é um dos nutrientes mais limitantes no solo e um dos mais requeridos pelas plantas cultivadas. A principal fonte de nitrogênio usada no Brasil é a ureia, que apresenta como vantagem a alta concentração de N e o menor preço por unidade. Possui ainda, alta

solubilidade em água, menor corrosividade e compatibilidade com muitos outros fertilizantes. Contudo, apresenta desvantagens, como a possibilidade de perdas de N por volatilização de NH<sub>3</sub>, fitotoxidez de biureto e perdas por lixiviação. (CIVARDI et. al., 2011)

A perda do nitrogênio pode ocorrer quando o solo apresenta pH alcalino, baixa capacidade de troca de cátions, baixa propriedade tampão do hidrogênio, alta temperatura, baixa umidade e altas doses de nitrogênio, ou pela ação conjunta de dois ou mais fatores. Isto ocorre em parte, por meio dos processos de lixiviação do nitrato, volatilização da amônia, desnitrificação e erosão do solo. (CIVARDI et. al., 2011)

Cerca de 40-70% de nitrogênio, 80-90% de fósforo, e de 50-70% de potássio nos fertilizantes normalmente aplicados são perdidos para o ambiente e não podem ser absorvidos pelas plantas, causando não apenas perdas econômicas e de recursos substanciais, mas também uma grave poluição ambiental. (SAVCI, 2012; CASTRO-ENRÍQUEZ et al., 2012; CORRADINI et. al., 2010; WU & LIU, 2008)

No caso da ureia como fonte de N, as perdas de NH<sub>3</sub> podem chegar a quase 80% com a aplicação superficial do adubo no plantio direto, e 30% no plantio convencional. E a incorporação, em aproximadamente 5 a 7 cm de profundidade no solo, reduz drasticamente as perdas de amônia. Como o uso da ureia é crescente, diferentes estratégias vêm sendo estudadas para melhorar sua eficiência. Dentre estas estratégias estão o uso de inibidores de urease e nitrificação, a adição de compostos acidificantes e adutos de ureia, além do uso de polímeros ou géis poliméricos para revestir a ureia, também conhecidos como fertilizantes de liberação lenta ou controlada. (NI et. al, 2013; CIVARDI et. al., 2011; BOGNOLA & BELLOTE, 2011)

Além da perda do nitrogênio, o uso indiscriminado de fertilizantes sintéticos pode levar à poluição do solo, e em grandes quantidades ou se muito fortes são extremamente prejudiciais às plantas. Os fertilizantes de liberação lenta ou controlada contribuem ainda para redução do desperdício de nutrientes, da contaminação do solo e das águas e a emissão de gases do efeito estufa, além de proteger as plantas de sobrecargas de nutrientes. (KAMPEERAPPUN & PHANOMKATE, 2013; NI et al., 2013)

Uma vez que uma fração substancial do hidrogel é água, um fator limitante para ampliar a aplicação desse material tem sido seu baixo desempenho em termos de propriedades mecânicas. Principalmente quando os hidrogéis são comparados com materiais de engenharia tradicionais no contexto de comportamento mecânico. Como estes são materiais têm valores relativamente

baixos de módulo elástico, e que exibem comportamento intermediário entre sólido e líquido, tanto a medição como a interpretação dos dados de propriedades mecânicas apresentam desafios significativos para o pesquisador. (OYEN, 2014)

Por outro lado, o poli(3-hidroxi-butarato) (PHB) pertence à segunda categoria da classificação de polímeros biodegradáveis, que são os biopoliésteres. PHB é um polímero natural sintetizado por diferentes espécies de bactérias como material de armazenamento intracelular. É um poliéster termoplástico altamente cristalino com propriedades similares às do polipropileno sintético, apresenta um alto ponto de fusão (173-180 °C) e uma temperatura de transição vítrea de cerca de 5 °C. (D'AMICO et al., 2016)

Lins et al. (2016) reportaram que em micropartículas de PHB empregadas para sistemas de liberação prolongada de fármacos foi observada alta porosidade devido à cristalinidade incomum do PHB, levando ao chamado efeito “*burst*”, no qual grande quantidade de fármaco é liberada logo no início do processo. Segundo esses autores, a combinação de PHB com quitosana tem sido reportada como um sistema eficiente para liberação prolongada.

Li & He (2016) testaram um sistema interessante para liberação prolongada. Tais autores produziram um emaranhado de fios de titânio (diâmetro de 27  $\mu$ m) e preencheram os espaços vazios (poros) com gelatina, utilizando esse hidrogel como carreador da substância ativa a ser liberada. De acordo com os autores todos os sistemas testados apresentaram o efeito “*burst*”, isto é, liberaram mais de 50% da substância ativa nas primeiras 12 horas. Evitar o efeito “*burst*”, ou pelo menos minimizá-lo, é o grande desafio dos sistemas de liberação prolongada.

Fibras poliméricas submicrométricas podem ser obtidas por eletrospinning e são caracterizadas por uma elevada área superficial em relação ao volume. Eletrospinning é uma tecnologia que utiliza forças eletrostáticas para produzir fibras a partir de soluções poliméricas ou polímeros fundidos. (BHARDWAJ & KUNDU, 2010)

Nesse contexto, a presente pesquisa se propôs a desenvolver e testar sistemas de liberação prolongada para fertilizantes, usando como matriz nanofibras eletrospinnadas de PHB incorporadas com hidrogel de gelatina ou quitosana carregado com ureia, usada como fertilizante modelo.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver e testar sistemas de liberação prolongada para fertilizantes, usando como matriz nanofibras eletrofiadas de PHB, incorporadas com hidrogel de gelatina ou quitosana carregado com ureia, usada como fertilizante modelo.

### **2.2 Objetivos específicos**

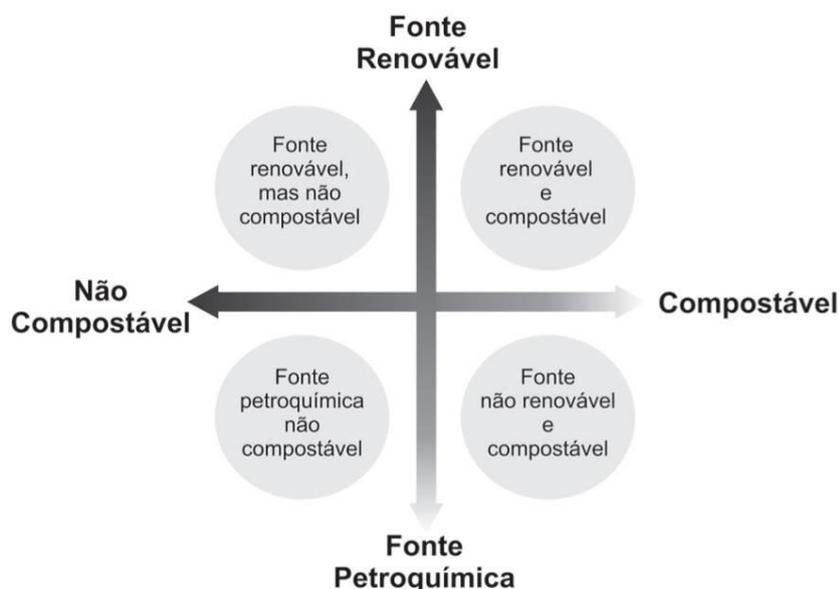
- Estudar os parâmetros de processamento e de solução para obtenção de mantas de nanofibras de poli(hidroxibutirato) (PHB);
- Caracterizar as nanofibras de poli(hidroxibutirato) (PHB) através das seguintes análises: MEV, FTIR, TGA, DSC, DRX e SAXS e comparar os resultados com filmes de PHB;
- Obter filmes de gelatina (GEL) reticulados com glutaraldeído (GLU) carregados com diferentes teores de ureia (fertilizante modelo) e verificar o comportamento de liberação da ureia em água através de espectrometria no UV-Vis;
- Obter filmes de quitosana (QUI) carregados reticulados com glutaraldeído (GLU) com diferentes teores de ureia (fertilizante modelo) e verificar o comportamento de liberação da ureia em água através de espectrometria no UV-Vis;
- Incorporar solução de gelatina carregada com ureia nas mantas de nanofibras de PHB e caracterizar a blenda após secagem através de MEV e UV-Vis;
- Incorporar solução de quitosana carregada com ureia nas mantas de nanofibras de PHB e caracterizar a blenda após secagem através de MEV e UV-Vis;
- Produzir dispositivos aplicados à plantação de mudas na agroindústria a partir dos sistemas desenvolvidos;
- Testar os dispositivos produzidos em crescimento de uma muda modelo (painço).

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Contexto dos polímeros biodegradáveis

Avérous & Pollet (2012 p. 15) reportam o conceito de biodegradação segundo a definição da norma europeia EN 13432-2000. Segundo essa norma, biodegradação é a degradação de um material orgânico causada pela atividade biológica (degradação biótica), principalmente pela ação enzimática de microorganismos. Os produtos finais são o CO<sub>2</sub>, nova biomassa e água (na presença de oxigênio, isto é, condições aeróbicas) ou metano (na ausência de oxigênio, isto é, condições anaeróbicas).

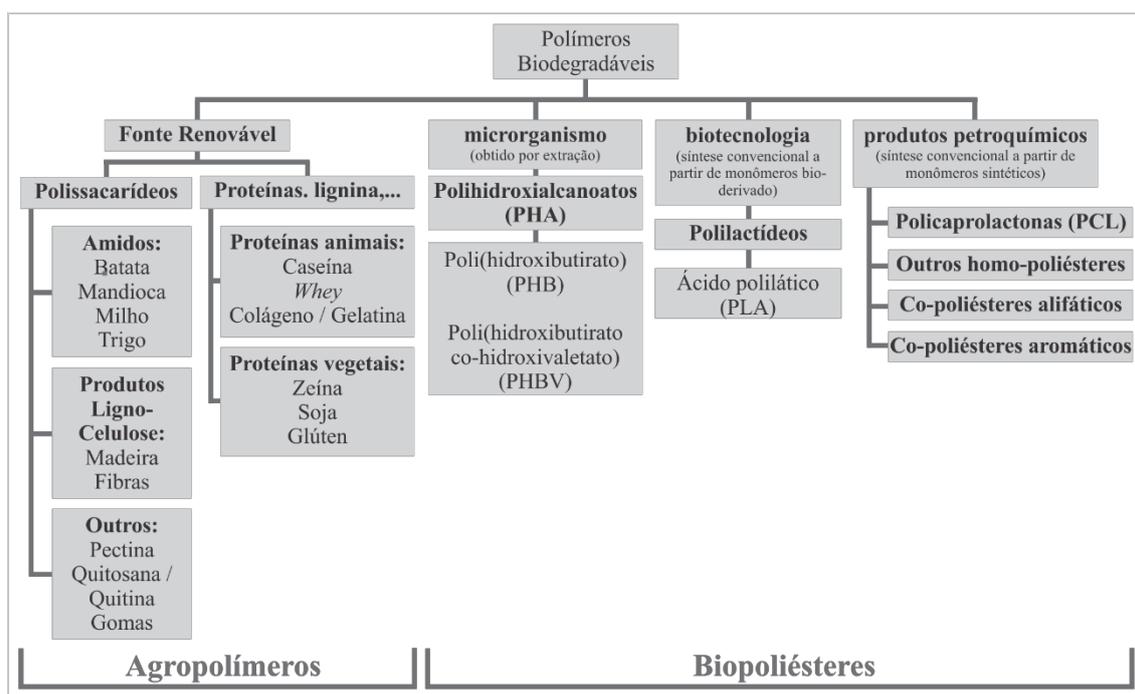
Por outro lado compostabilidade é a biodegradabilidade do material avaliada em um meio composto. Dessa maneira, entre os meios propostos como inoculantes para a avaliação da biodegradação de polímeros encontramos o composto orgânico. (ROSA & PANTANO FILHO, 2003 p. 70) O composto orgânico (húmus) é o produto final de um processo de compostagem utilizado como forma de reciclagem da matéria orgânica presente em resíduos sólidos urbanos. Nos compostos orgânicos está presente uma grande variedade de microorganismos, em geral fungos e bactérias, os agentes responsáveis pela degradação dos polímeros biodegradáveis. (ROSA & PANTANO FILHO, 2003 p. 71) O conceito de compostabilidade em polímeros fica mais claro na ilustração apresentada na Figura 1.



**Figura 1:** Classificação dos polímeros quanto à compostabilidade. Fonte: Adaptado de Endres & Siebert-Raths (2011).

Os polímeros biodegradáveis surgem como alternativa aos polímeros que utilizam fontes petroquímicas, que tendem a se tornar mais caras ao longo dos anos, além de gerarem um impacto ambiental considerável pelo seu descarte inadequado. (YATES, BARLOW, 2013)

Avérous & Pollet (2012 p. 16) propuseram classificar os polímeros biodegradáveis de acordo com seu processo de síntese, conforme está apresentado na Figura 2.



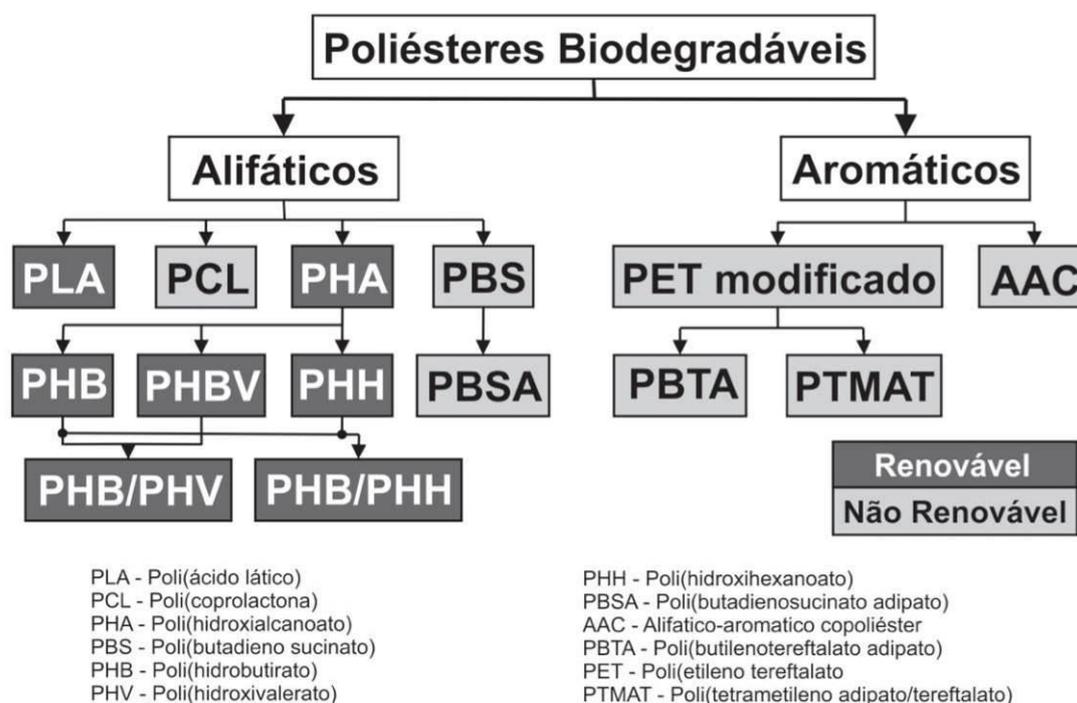
**Figura 2:** Classificação dos principais polímeros biodegradáveis.

Fonte: Adaptado de Avérous & Pollet (2012).

Entre os polímeros biodegradáveis de maior importância no mercado estão o poli(ácido lático) (PLA), poli(hidroxicanoatos) (PHA) e o polímero de amido (PA). (YATES & BARLOW, 2013; PRADELLA, 2006)

Como pode ser observado, grande parte dos polímeros biodegradáveis de maior relevância faz parte do grupo dos poliésteres. Isto se deve à presença do grupo funcional éster, com uma natureza polar reativa. A presença desse grupo permite que a cadeia seja quebrada facilmente pela reação de hidrólise. Os poliésteres biodegradáveis podem ainda ser divididos em alifáticos

e aromáticos, sendo que os membros de cada grupo podem ser derivados de fontes renováveis e não renováveis, como mostra a Figura 3.



**Figura 3:** Classificação dos poliésteres biodegradáveis.

Fonte: Adaptado de SIN et al. (2013).

### 3.1.1 Poli(hidroxibutirato) (PHB)

O Poli(hidroxibutirato) (PHB) foi descoberto e estudado pelo pesquisador francês Maurice Lemoigne, do *Institut Pasteur*, em 1926. A ideia era desenvolver uma resina termoplástica, derivada de culturas bacterianas alimentadas com sacarose, que propicia a formação do termoplástico em grânulos no interior de determinadas linhagens de células bacterianas (Figura 4). Este ainda é motivo e objeto de várias pesquisas. (OLIVEIRA, 2005; HABLLOT et al., 2008; SORRENTINO et al., 2007; CARLI et al., 2011; MAGRINI et al., 2012; SIN et al., 2013; RUDNIK, 2013)

O processo de obtenção do PHB constitui-se basicamente de duas etapas: (1) uma etapa pré-fermentativa, na qual as células são cultivadas a 30 °C em uma corrente de ar, em meio mineral com a glucose como fonte de carbono. As células se multiplicam após 24 h e atingem uma

densidade de células de  $20 \text{ g L}^{-1}$ . (2) Na etapa seguinte as células continuam se multiplicando e metabolizando o açúcar disponível, acumulando o PHB intracelularmente como fonte de carbono e energia. Após 24-48 h a densidade de células é de  $100 \text{ g L}^{-1}$  e são obtidos grânulos de PHB de  $0,3\text{-}1\mu\text{m}$  com níveis superiores a 90% do peso da célula drenada. Por fim, o polímero acumulado no interior do microrganismo é extraído e purificado até a obtenção do produto final sólido e seco, pronto para ser utilizado nos processos de transformação convencionais de termoplásticos. Para 1 Kg de PHB, são necessários aproximadamente 2,8 Kg de açúcar. (RUDNIK, 2013; NASCIMENTO, 2001)



**Figura 4:** *Alcaligenes latus* DSM 1122 - Célula no final da fase de acumulação contendo aproximadamente 93% de PHB - Magnitude: 6000 x.  
Fonte: PHB Industrial, apud PAGNAN, 2014.

Esse poliéster também pode ser sintetizado quimicamente pela polimerização através da abertura de cadeia da  $\beta$ -butirolactona na presença de catalisadores de alumínio ou zinco. (ROSA & PANTANO FILHO, 2003 p. 41)

Desde que foi descoberta a família de homopolímeros de PHB, já foram descobertas mais de 100 variações do poliéster alifático com a mesma estrutura geral de cadeia. (RUDNIK, 2013) As propriedades dos PHAs são ajustáveis, variando de rígido até elástico, dependendo do arranjo de unidades monoméricas do polímero. PHAs considerados de cadeias curtas como o PHB, geralmente têm propriedades rígidas. PHAs de cadeia curta, com ultra-alta massa molar,

podem ser transformados em fibras fortes por meio de diversas técnicas. Em contraste, os copolímeros de PHA de cadeia média são também materiais desejáveis, devido a sua elasticidade e resistência. (GROSS & KALRA, 2002; MATSUMOTO & TAGUSHI, 2013)

O PHB é um polímero completamente biodegradável, com atividade ótica, piezoelectricidade e ótimas propriedades de barreira. É parcialmente cristalino com elevada temperatura de fusão e elevado grau de cristalinidade. Os poli(hidroxiálcanoatos) (PHAs) família ao qual o PHB pertence, são polímeros com características físico-químicas muito semelhantes às do polipropileno (PP) e do polietileno (PE). (MODI et al., 2011; MORAES, 2004) Contudo o PHB é considerado um polímero mais duro e quebradiço. (NASCIMENTO, 2001 p.08; CARLI et al., 2011)

O Brasil tem um grande potencial de exploração, pois possui uma fábrica para a obtenção do Poli(hidroxiбутirato) (PHB), além de contar com uma indústria de açúcar que produz aproximadamente 31 milhões de toneladas / ano, tendo uma posição importante entre os produtores de bioplásticos, segundo a UNICA – união das indústrias de cana-de-açúcar / Safra 2008/2009. De acordo com a Maxiquim (2013) em especial os PHAs e o PLA devem ter sua produção quadruplicada até 2020.

Molinari (2008) destacou que a PHB Industrial S/A, fabricante responsável pela produção do PHB - *Biocycle* no Brasil tinha capacidade produtiva de 60 toneladas/neste ano, porém estava previsto que em 2011 a empresa fabricaria 36 mil toneladas/ano. Atualmente toda produção da fábrica é exportada para países como Estados Unidos, Japão e da Europa. A família dos PHAs tem 1,7% do mercado de polímeros obtidos de fontes renováveis, e a expectativa é que chegue a 2,5% em 2016. (IfBB, 2014)

Uma das principais vantagens do PHB produzido no Brasil é seu preço, segundo a PHB industrial S/A, o polímero de cana-de-açúcar custa em torno de US\$ 4,00/kg, enquanto outros polímeros biodegradáveis, oriundos de milho e de beterraba, custam US\$ 14,00/kg (MOLINARI, 2008). Mesmo aparentemente barato frente aos concorrentes biodegradáveis estrangeiros, o PHB possui custo elevado, tendo em vista que é considerado como substituto de polímeros convencionais poliolefinicos que custam em torno de US\$ 1,00/Kg. (VALERO-VALDIVIESO et al., 2013; VASCONCELOS, 2002)

O PHB teve uma curta história de uso em embalagens e garrafas, mas não é amplamente utilizado para estas aplicações atualmente. O PHB está cada vez mais sendo utilizado em

aplicações específicas, como na indústria médica e agrícola. Para utilização como polímero de engenharia ele ainda possui algumas desvantagens comerciais e tecnológicas, sendo a principal a dificuldade de processamento, além de apresentar propriedades mecânicas muito pobres devido à sua alta cristalinidade. (HOTTLE et al., 2013; VALERO-VALDIVIESO et al., 2013; JESUS, 2008)

Segundo Gurunathan et al. (2015) com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas, nos últimos anos o PHB tem sido produzido comercialmente em muitas formas diferentes, alguns plastificados e outros copolimerizados. Garcia-Garcia et al. (2016), por exemplo, focaram no desenvolvimento de blendas binárias de PHB e policaprolactona (PCL). Segundo esses autores o PCL atuou como modificador de impacto, portanto, produziu aumento da flexibilidade e ductibilidade. Assim, à medida que o teor de PCL nas blendas PHB-PCL era aumentado, foram observados aumentos significativos no alongamento na ruptura e absorção de energia nas condições de impacto (tenacidade).

Para Elain et al. (2016), o maior desafio para tornar os PHAs mais competitivos frente aos polímeros derivados do petróleo continua sendo a redução de custo do processo de biossíntese. De acordo com esses autores uma alternativa é o uso de subprodutos baratos e facilmente disponíveis, ou até mesmo resíduos, como substrato para o crescimento bacteriano.

Pensando em uma estratégia desse tipo, os autores testaram águas derivadas do processamento das indústrias de leguminosas e de frutas como meio de crescimento para produção de PHAs. Segundo os autores, tal estratégia permite tanto a diminuição do custo de produção dos PHAs como a redução da pegada de carbono das agroindústrias. Além disso, embora esse estudo ainda necessite ser aperfeiçoado, o principal achado dos pesquisadores foi que, a partir de uma mesma estirpe de células, as propriedades dos PHAs podem ser moduladas variando-se o meio de crescimento.

### 3.1.2 Gelatina (GEL)

A gelatina é um polipeptídeo de alta massa molar solúvel em água, e obtido a partir da desnaturação e hidrólise parcial do colágeno. (GORGIEVA et al., 2011; DJAGNY et al., 2001) Geralmente, a gelatina é obtida por um tratamento ácido (tipo A) ou alcalino (tipo B) de colágeno a partir de subprodutos de animais, tais como ossos bovinos e peles de porco. Devido à variedade de fontes de colágeno e processos produtivos, uma grande variedade de gelatinas

com composições químicas e propriedades físicas variáveis pode ser produzida. (DJAGNY et al., 2001; CHAPLIN, 2007; PARK et al., 2008)

A gelatina apresenta uma interação específica proteína-água, diferente do observado em polímeros hidrofílicos sintéticos. Esta interação regula as propriedades estruturais e físico-mecânicas da gelatina no estado sólido. Além disto, a gelatina é um material biocompatível e biodegradável, sendo aplicada amplamente na área biomédica. (LAI, 2010).

Como conhecido, as gelatinas ao serem dissolvidas em água formam soluções de baixa viscosidade a temperaturas acima de 35 °C, mas sofrem uma transição sol-gel quando resfriadas, formando géis físicos. (COIMBRA et al., 2014) O mecanismo desta gelificação termorreversível tem sido extensivamente investigado. (DJABOUROV et al., 1988; NORMAND et al., 2000; GUO et al., 2003; URICANU et al., 2003)

A gelificação induzida pela diminuição da temperatura faz com que a gelatina se dissolva prontamente ao ter sua temperatura elevada. A fim de melhorar a estabilidade do material, ligações cruzadas permanentes são induzidas através da introdução de ligações covalentes intermoleculares entre as cadeias da gelatina. (COIMBRA et al., 2014) Isto pode ser conseguido através de métodos físicos, como por exemplo, o tratamento com calor ou radiação (OZEKI & TABATA, 2005; TERAO et al., 2003), ou por métodos químicos, através de reações da gelatina com diferentes tipos de agentes químicos, sendo o mais conhecido o glutaraldeído. (COIMBRA et al., 2014)

Uranga et al. (2016) preparam filmes de gelatina extraída de colágeno de peixe e reticularam os filmes com ácido cítrico. Existe essa tendência de substituir o glutaraldeído, tido como tóxico, por agentes reticulantes mais ambientalmente amigáveis. Segundo os autores, foram alcançados filmes transparentes com boas propriedades mecânicas quando foi usado um teor de ácido cítrico de até 20%. A partir desse teor foram observados efeitos negativos nos filmes atribuídos ao excesso de ácido cítrico não reagido. Os autores alertam que essa linha de pesquisa é promissora, porém ainda necessita de estudos adicionais para aprimoramento da formulação.

A gelatina reticulada se encaixa dentro do conceito de hidrogel. Hidrogéis são definidos como materiais poliméricos que exibem habilidade para inchar em água e reter uma fração significativa dessa água em sua estrutura (<20%). Segundo Zohuriaan-Mehr & Kabiri (2008), têm sido reportados poucos trabalhos relacionados com hidrogéis obtidos a partir de polipeptídeos.

Um desses trabalhos foi o de Pulat & Akalin (2013) que reportaram uma série de hidrogéis de gelatina preparados pelo método da reticulação com glutaraldeído (GLU). Tais autores relataram que, conforme esperado, o aumento da quantidade de glutaraldeído reduz a porcentagem de inchamento dos hidrogéis. Eles encontraram reduções de, por exemplo, 366% para 266%.

### 3.1.3 Quitosana (QUI)

A quitosana é um polissacarídeo composto unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucose e 2-unidades acetamido-2-desoxi-D-glicose ligadas através ligações  $\beta$ -(1  $\rightarrow$ 4) que é derivado da desacetilação alcalina da quitina, um dos polissacarídeos naturais mais abundantes. (LARANJEIRA & FÁVERE, 2009) A quitina é insolúvel em água, álcool e ácidos diluídos. Já a quitosana é solúvel em alguns ácidos diluídos. A quitina encontra mais aplicações quando transformada em quitosana. (MUZZARELLI, 2009)

Devido à sua elevada porcentagem de nitrogênio (cerca de 6,89%), a quitosana é mais interessante comercialmente se comparada, por exemplo, ao acetato de celulose (1,25%). Outra característica atraente da quitosana é o seu baixo custo, uma vez que normalmente é obtida partir de resíduos de caranguejo e camarão descartados do processamento das indústrias de conservas, ou de cascas de crustáceos obtidas da indústria alimentícia. A quitosana possui ainda propriedades vantajosas comprovadas, tais como biodegradabilidade, atividade antibacteriana, não-toxicidade e alta densidade de carga. (AGUILAR et al., 2016)

Da mesma forma como ocorre com a gelatina, agentes reticulantes, tais como glutaraldeído, etilenoglicol diglicidil éter, tripolifosfato, ácido sulfúrico e epicloriglicina, são usados para aumentar a estabilidade química e a resistência mecânica da quitosana, induzindo a ligações cruzadas em sua estrutura. (XUE & WILSON, 2016)

Glutaraldeído é o agente reticulante mais usado, porém devido às características tóxicas a ele atribuídas numerosas pesquisas têm sido encontradas na literatura abordando o uso de agentes reticulantes alternativos, principalmente genipin ou ácido cítrico. (DIMIDA et al., 2015; BAGHERI et al., 2015)

Os hidrogéis de quitosana são utilizados principalmente em aplicações biomédicas, devido às características atraentes de biocompatibilidade e durabilidade. (RAFIQUE et al., 2016) Tsai et al. (2016), reportam um exemplo desse tipo de aplicação. Esses autores desenvolveram um

hidrogel termosensível do tipo quitosana/gelatina/glicerol fosfato o qual é líquido à temperatura ambiente, mas se torna gel na temperatura do corpo. Os resultados encontrados nos testes realizados em córneas de coelho queimadas com álcali, que foram usadas como modelo, indicaram que o pós-tratamento com o hidrogel carregado com ácido ferúlico (antioxidante) pode acelerar a cicatrização de feridas na córnea. Um hidrogel a base de quitosana bastante similar a esse foi reportado por Wang & Chen (2016), como extremamente vantajoso por ser injetável enquanto líquido (procedimento menos invasivo) e possuir propriedades semelhantes ao tecido natural enquanto gel depois de injetado no corpo.

### **3.2 Eletrofiação**

A fabricação de fibras ultrafinas com elevada área superficial tem sido o foco de muita atenção por parte da comunidade científica. Em comparação com o processo de desenho de fibra convencional, a eletrofiação é uma abordagem simples e direta. (NEO et al., 2012; <sup>2</sup>COSTA et al., 2012)

A técnica de eletrofiação foi inicialmente observada por Rayleigh em 1897, e patenteada por Formhal em 1934, porém, somente com o advento das novas aplicações da nanotecnologia esta importante técnica foi redescoberta. As potencialidades das nanofibras, de diâmetro de 3nm a 5µm e com extensão micrométrica, têm sido investigadas para diferentes materiais, com resultados promissores em diferentes aplicações. (LUZIO et. al., 2014; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012; WANG et al., 2011; CHASE et al., 2011; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)

As nanofibras podem ser produzidas a partir de uma ampla gama de polímeros, sendo eles olefínicos, de fontes renováveis ou polímeros naturais. Estas nanofibras têm altíssima área superficial devido ao seu pequeno diâmetro, e mantas de nanofibras podem ser altamente permeáveis com poros com excelentes interconexões. Estas características únicas, além das funcionalidades inerentes dos polímeros, possibilitam a obtenção de nanofibras com propriedades desejáveis para aplicações avançadas. (WANG et al., 2009)

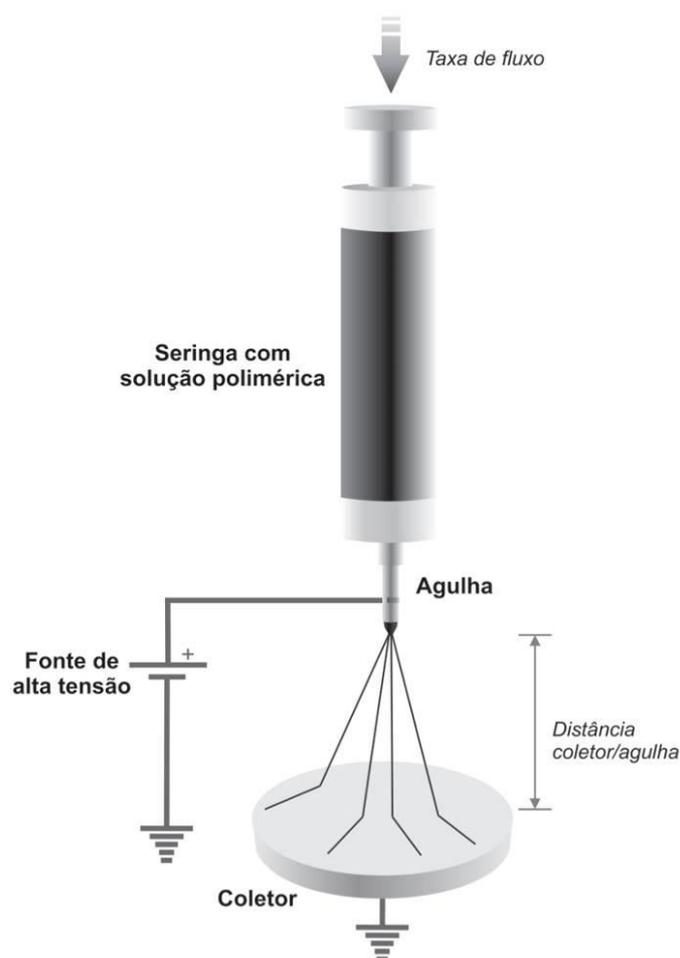
O potencial de aplicação da eletrofiação inclui membranas de filtração, biossensores, liberação de fármacos, materiais condutores elétricos, curativos, armazenamento de energia, engenharia de tecidos, materiais para absorção de som, reforços de compósitos e na indústria de alimentos.

(OKUTAN et al., 2014; NEO et al., 2012; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012; FANG et al., 2008; KILIC et al., 2007; PHAM et al., 2006; SOMBATMANKHONG et al., 2006)

A eletrofiação é um método de baixo custo e de fácil produção de nanofibras comparado a alternativas como a síntese via *template* e métodos de separação de fase. Ao contrário dos sistemas de fiação convencional como a fiação por fusão, usada para produzir fibras de poliéster, ou a fiação por coagulação, usada para produzir fibras de viscose, a eletrofiação usa campo de força eletromagnética ao invés de força mecânica para extrair e esticar o jato polimérico. (LUZIO et al., 2014; KILIC et al., 2007)

A eletrofiação de um único jato é comumente usada para produção de fibras poliméricas muito finas. A taxa de produção em massa da eletrofiação a partir de um único jato é muito baixa. Métodos alternativos para lançar jatos múltiplos e aumentar a taxa de produção são estudados a cada dia. (CHASE et al., 2011)

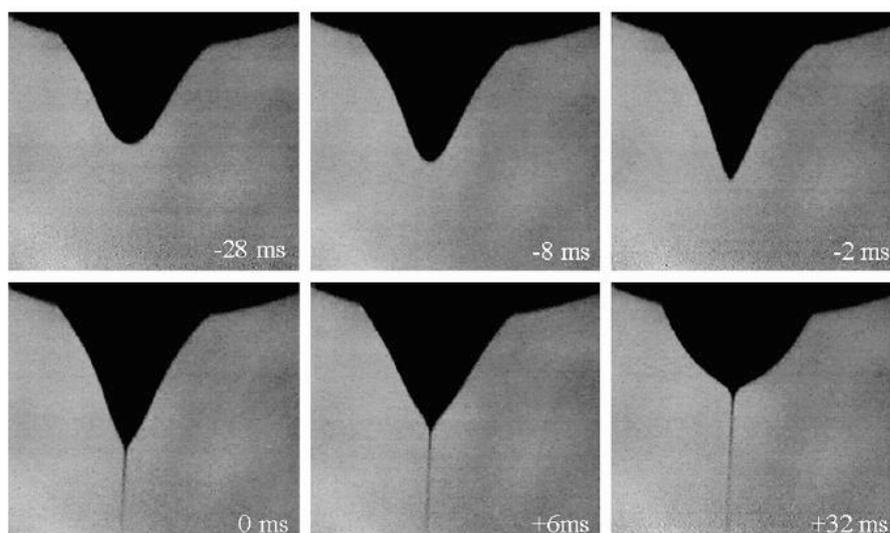
A grande vantagem da eletrofiação está na simplicidade da configuração do sistema de fiação, o diagrama proposto na patente de Formhal é composto por uma seringa com solução polimérica, um fonte de alta tensão e um coletor aterrado, como pode ser visto na Figura 5. (LUZIO et al., 2014; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)



**Figura 5:** Processo de eletrofiação.

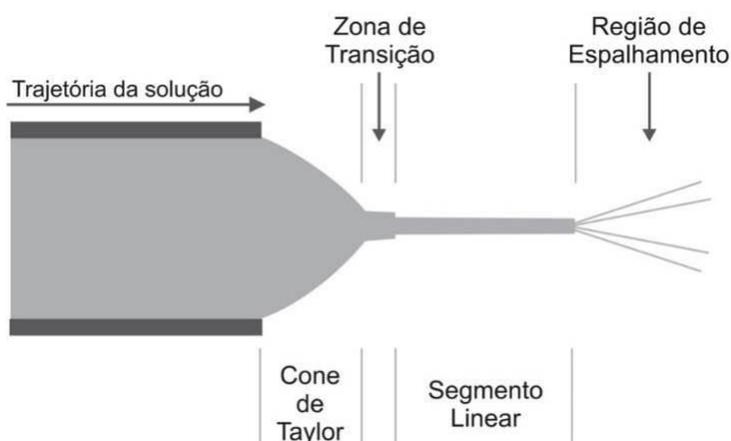
Fonte: Próprio autor.

O processo de eletrofiação envolve uma solução polimérica que é bombeada por uma seringa, através de uma agulha para formar uma pequena gota pendente na ponta da agulha. A agulha é carregada eletricamente a uma tensão elevada, induzindo cargas no interior do polímero, resultando na repulsão de cargas dentro da solução. As forças elétricas superam a tensão superficial e o jato líquido carregado é lançado a partir do ápice da gota pendurada na agulha. Quando o jato se afasta poucos centímetros da gota, a interação entre as superfícies e as forças moleculares se torna instável, o jato começa a chicotear flexionando e estirando o jato polimérico, que reduz de tamanho enquanto o solvente com alta pressão de vapor começa a evaporar, diminuindo a velocidade do jato e dando origem a uma fibra sólida. Esta evolução da gota até o desenvolvimento do jato pode ser visto na Figura 6. (OKUTAN et al., 2014; LUZIO et al., 2014; NEO et al., 2012; WANG et al., 2011; CHASE et al., 2011; PHAM et al., 2006)



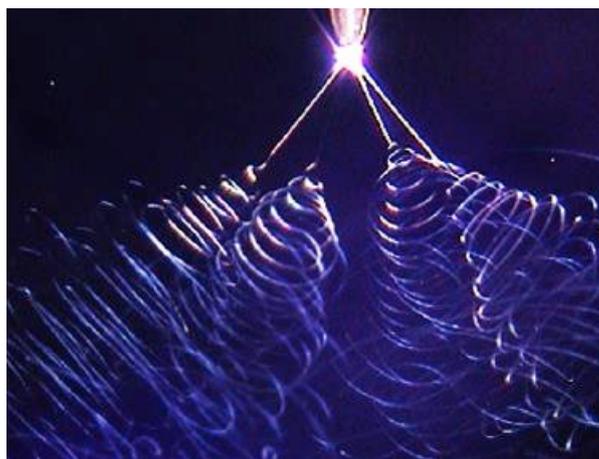
**Figura 6:** Evolução da formação do cone de Taylor em relação ao tempo. O tempo zero representa o início do processo de eletrofiação.  
Fonte: RENEKER & YARIN (2008).

O jato estabilizado da eletrofiação pode ser decomposto em quatro regiões distintas: Cone de Taylor, Zona de transição, Segmento linear e Região de espalhamento (Figura 7). O cone de Taylor foi reportado como uma gota que ao ser sujeita a um potencial elétrico cada vez maior é submetida a um estiramento até o ponto em que subitamente se tende a um formato aproximadamente cônico. (LUZIO et al., 2014; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012) A forma do cone dependerá da tensão superficial da solução e da força do campo elétrico aplicado. Jatos podem ser ejetados a partir de superfícies que são essencialmente planas, se o campo elétrico aplicado for suficientemente forte. (PHAM et al., 2006)



**Figura 7:** Estrutura do jato polimérico eletrofiado.  
Fonte: <sup>1</sup>COSTA et al. (2012).

Estudos indicam que um estiramento significativo ocorre nas soluções poliméricas no início da zona de transição entre o cone de Taylor, onde a tensão de estiramento ainda é pequena, e o segmento linear, uma região estável reta com um comprimento na ordem de 1 cm, onde o fluido já se encontra pré-estirado. Como consequência deste estiramento o diâmetro inicial é reduzido. Após a região linear ocorre o espalhamento e propriamente a formação das nanofibras (Figura 8). (LUZIO et al., 2014; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012)



**Figura 8:** Fotografia de quatro jatos poliméricos característicos do processo de eletrofiação com segmento linear e região de espalhamento.

Fonte: RENEKER & YARIN (2008).

O processo de eletrofiação pode ser controlado por diversas variáveis, que se acredita ter um efeito sobre a morfologia das fibras eletrofiadas, e podem ser classificadas como: propriedades da solução, variáveis de controle e parâmetros ambientais.

As propriedades de solução incluem a viscosidade, condutividade, tensão superficial, massa molar do polímero, momento dipolar e constante dielétrica. No entanto é difícil controlar separadamente as propriedades da solução sem que sejam afetados outros parâmetros (por exemplo, mudando a condutividade podemos mudar a viscosidade). As variáveis de controle incluem a taxa de injeção, intensidade do campo elétrico aplicado, distância entre coletor e agulha, forma da agulha/fieira, e a composição e geometria do coletor. Os parâmetros ambientais incluem temperatura, umidade, e fluxo de ar. (LUZIO et al., 2014; OKUTAN et al., 2014; NEO et al., 2012; WANG et al., 2011; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)

### 3.2.1 Propriedades da solução

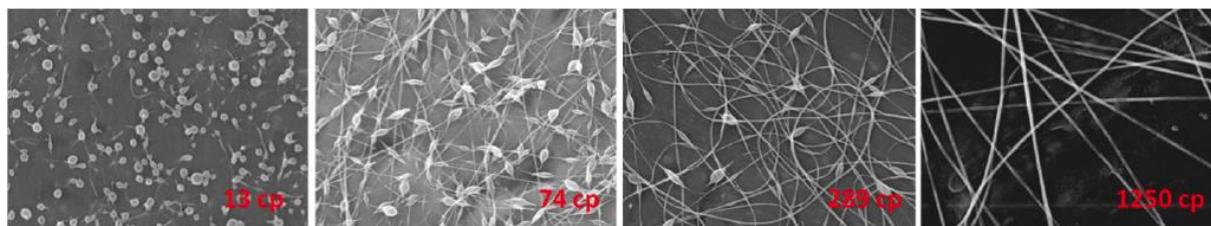
- **Viscosidade / concentração da solução**

A viscoelasticidade da solução pode ser uma das maiores determinantes para a morfologia e diâmetro das fibras eletrofiadas. Para se obter nanofibras uniformes e sem contas é necessário que se tenha um grau de emaranhamento das cadeias na solução polimérica, o que corresponde a um valor de concentração mínimo.

Uma vez que a concentração do polímero e a massa molar do polímero determinam a viscosidade da solução, a viscosidade não é uma variável independente. Em geral, a viscosidade de um polímero de elevada massa molar dissolvido numa solução será mais elevada do que a viscosidade do mesmo polímero, mas com massa molar mais baixa. Uma questão importante é que a massa molar de um polímero é proporcional ao comprimento da sua cadeia e, portanto, a massa molar irá caracterizar o grau de emaranhamento das cadeias poliméricas no solvente. Este emaranhamento das cadeias poliméricas resulta em níveis mais elevados na produção de fibras por eletrofiação e em níveis mais baixos na produção de contas ou esferas por eletroatomização (*elektrospraying*). (LUZIO et al., 2014; NEO et al., 2012; MELLO et al., 2006)

A baixa concentração da solução dá origem a gotas e partículas, além de produzir fibras que chegam ao coletor ainda molhadas criando junções e grânulos em suas estruturas. O processo é causando por uma instabilidade capilar na extremidade do jato dando origem a partículas esféricas em vez de fibras e é chamado de eletroatomização (*elektrospraying*) em vez de eletrofiação. (COSTA et al., 2012; NEO et al., 2012; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006; SOMBATMANKHONG et al., 2006)

Aumentando a concentração da solução polimérica é possível produzir fibras uniformes sem junções e grânulos. No entanto, o diâmetro das fibras apresenta aumento conforme a solução polimérica fica mais viscosa. Além disto, soluções poliméricas com alta viscosidade tendem a secar na ponta da agulha não iniciando o processo eletrofiação. (OKUTAN et al., 2014; COSTA et al., 2012; NEO et al., 2012; PHAM et al., 2006; MELLO et al., 2006) Um exemplo de estudo de viscosidade de solução é apresentado por Luzio et al., 2014 e pode ser visto na Figura 9 [MEV de fibras de poli(óxido de etileno)].



**Figura 9:** Evolução da morfologia das fibras de poli(óxido de etileno) em função do aumento da viscosidade.

Fonte: LUZIO et al. (2014).

Da esquerda para direita, pode ser visto que com o aumento progressivo da viscosidade, a distância média entre os grânulos das fibras se tornam maiores e a forma dos grânulos muda de esférico para fusiforme, até sumirem e serem produzidas fibras uniformes.

#### • Condutividade elétrica

Os fatores de viscosidade juntamente com a condutividade elétrica de solventes, têm um "efeito primário" em relação aos outros (taxa de tensão e alimentação), que são classificados como "parâmetros secundários". (LUZIO et al., 2014) O aumento da condutividade da solução, ou densidade de carga, pode ser utilizado para produzir fibras mais uniformes e com menor número de grânulos e contas.

Com o aumento da condutividade elétrica da solução, há uma redução significativa do diâmetro das nanofibras eletrofiadas, enquanto que com baixa condutividade da solução, ocorre um alongamento insuficiente do jato proporcionado pelas forças elétricas. Soluções altamente condutoras são extremamente instáveis na presença de um forte campo elétrico, o que resulta numa instabilidade drástica de flexão, bem como uma distribuição desuniforme de diâmetro. Geralmente, nanofibras eletrofiadas com o menor diâmetro da fibra pode ser obtido com a mais elevada condutividade elétrica. Uma definição importante é que o raio do jato varia inversamente com a raiz cúbica da condutividade elétrica da solução. (BHARDWAJ; KUNDU, 2010)

Uma técnica muito utilizada é a adição de sais na solução para aumentar sua condutividade elétrica, com isso, a uniformidade das fibras aumenta e a quantidade de grânulos diminui. Sais com menor raio iônico produzem fibras menores, enquanto sais com maior raio iônico produzem fibras maiores. Isto pode ser atribuído à maior diferença de densidade de carga, e, assim, a mobilidade de íons com raios menores resulta no aumento das forças de alongamento

exercidas sobre o jato de solução polimérica, produzindo uma fibra de menor diâmetro. (LUZIO et al., 2014; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)

### 3.2.2 Variáveis de Controle

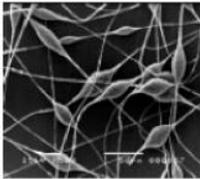
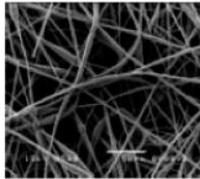
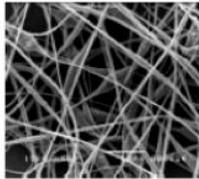
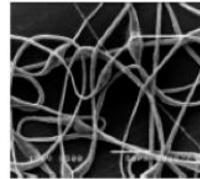
- **Taxa de Injeção/alimentação**

As taxas de injeção da solução polimérica estão geralmente entre 0,1 e 10 mL h<sup>-1</sup>. Taxas de injeção mais baixas produzem fibras com diâmetros menores, no entanto, podem gerar processos de fiação descontínuos. As taxas de injeção maiores provocam deformidades nas fibras como a presença de gotas, já que as fibras não têm a chance de secar antes de atingir o coletor, ou ainda, a fonte de tensão não consegue gerar campo elétrico suficiente para gerar um jato uniforme e contínuo. (LUZIO et al., 2014; OKUTAN et al., 2014; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)

- **Voltagem e Força de campo**

Um dos parâmetros mais estudados entre as variáveis controladas é o efeito de força de campo ou tensão elétrica aplicada. A baixas tensões (intensidades de campo), uma gota é normalmente suspensa na ponta da agulha, e um jato dará origem à fiação a partir da produção de um cone livre chamado de cone de Taylor (assumindo que a força do campo elétrico é suficiente para vencer a tensão superficial). À medida que a tensão aumenta, o volume da gota na ponta diminui, fazendo com que o cone de Taylor recue. O jato é originado a partir da superfície do líquido no interior da ponta, e mais gotas são vistas nas fibras produzidas. À medida que a tensão é aumentada ainda mais, o jato, eventualmente, se move em torno da aresta da ponta, sem o cone de Taylor visível; nestas condições, a presença de diversos grânulos pode ser observada, devido à quebra da continuidade do jato. (OKUTAN et al., 2014; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006; SOMBATMANKHONG et al., 2006)

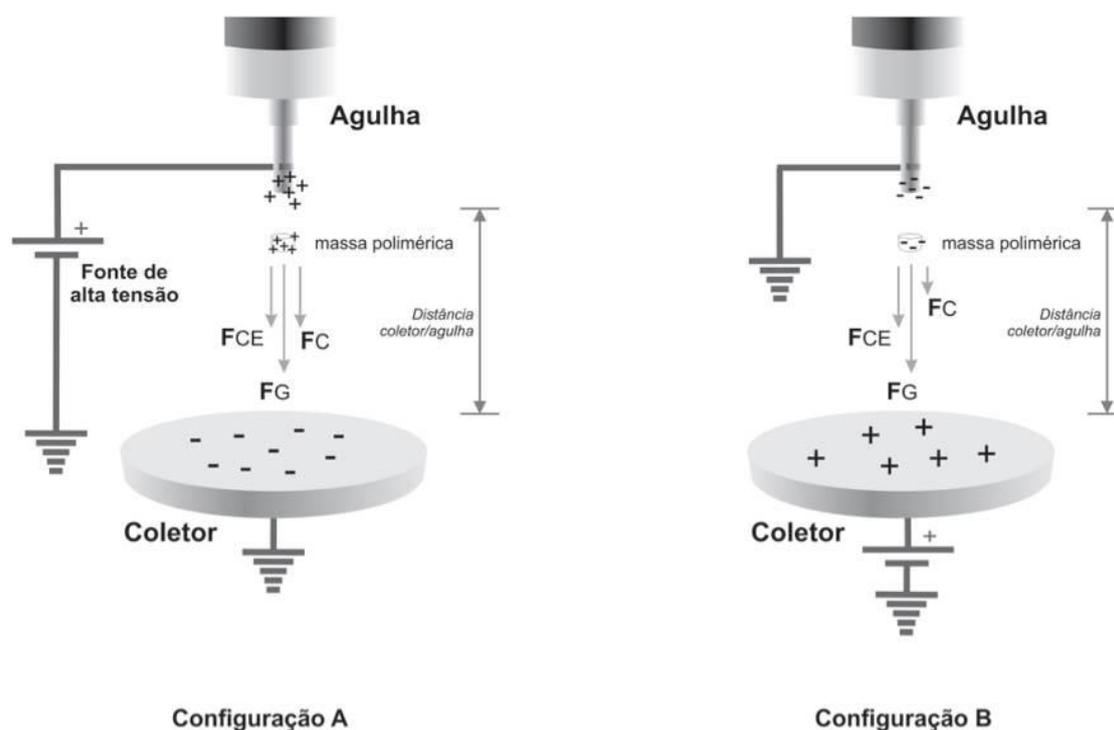
Sem que seja atingido o limite máximo de tensão aplicada suportada pela solução, é possível considerar que o aumento na densidade de cargas elétricas da solução reduz o número de contos presentes nas nanofibras. Esta redução pode ser atribuída ao aumento das forças elétricas atuando na solução, o que leva a maiores taxas de estiramento e maior estabilidade do jato. Como resultado, o número de contos se torna menor e a morfologia das fibras mais uniforme, como pode ser visto na Figura 10. (<sup>1</sup>COSTA et al., 2012)

Concentração (%w/v)	Tensão aplicada (kV)			
	8	10	12	14
10				
Diâmetro das fibras ( $\mu\text{m}$ )	$1.6 \pm 0.3$	$2.8 \pm 0.6$	$2.9 \pm 0.6$	$3.5 \pm 0.9$
Tamanho dos grânulos ( $\mu\text{m}$ )	$11.2 \pm 4.9$	$7.0 \pm 2.2$	$9.7 \pm 3.7$	$8.1 \pm 3.2$

**Figura 10:** Morfologia das fibras de PHB submetidas a diferentes tensões de processamento. Fonte: SOMBATMANKHONG et al. (2006).

Outro estudo interessante que aborda a aplicação de tensão está relacionado à polaridade aplicada na agulha. Kilic et al. (2007) realizou um estudo avaliando os efeitos da polaridade na morfologia das nanofibras. Segundo os autores, quando a agulha é carregada positivamente, o coletor acumula cargas negativas. Esta operação é chamada carregamento por influência oposta, na qual o coletor aterrado é considerado a zona de carga oposta.

Quando se altera a polaridade da agulha e coletor, pode-se obter a mesma influência produtiva, obtendo as mesmas forças de campo elétrico. No entanto, a mudança da polaridade cria diferentes diâmetros de fibras. As possíveis configurações de campo estão apresentadas na Figura 11. (KILIC et al., 2007)



**Figura 11:** Efeitos da polaridade no processamento por eletrofiação.

Fonte: Adaptado de KILLIC et al. (2007).

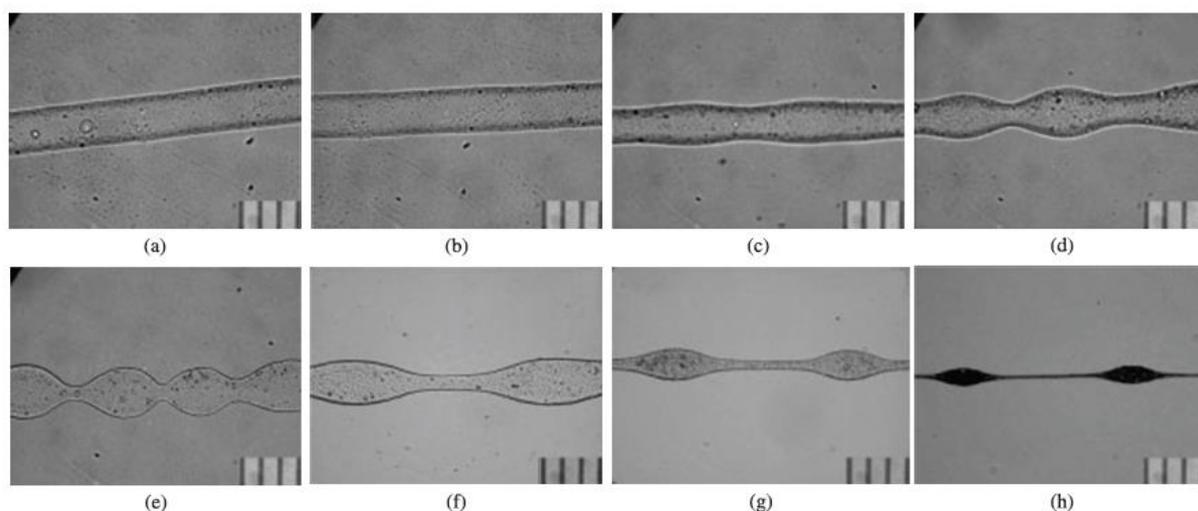
Mesmo existindo diversos métodos para produção de nanofibras, a configuração A permite produzir fibras constantemente em uma ampla gama de campos elétricos e taxas de injeção. Já a configuração B apresenta baixa eficiência e em alguns casos não permite que sejam obtidas fibras, produzindo apenas o gotejamento do polímero. Isso se deve principalmente às forças de Coulomb atuantes.

As forças responsáveis pelo estiramento do jato polimérico são formadas pela soma da força do campo eletromagnético (FCE), da força de Coulomb (FC) e da gravidade (FG). Independentemente da configuração e conseqüentemente da polaridade do coletor/agulha, as forças gravitacional e de campo eletromagnético são as mesmas. No entanto, a força de Coulomb impulsiona o jato por força de repulsão intermolecular causada pelo acúmulo de cargas. Na configuração A, a fonte de alimentação fornece uma quantidade de carga direta por unidade de massa polimérica favorecendo assim a formação do jato. No entanto, na configuração B a agulha é carregada pelo fio terra que fornece baixa quantidade de cargas por unidade de massa polimérica, que se dá principalmente pela característica isolante da solução polimérica. Tal comportamento, não ocorre em soluções com adição de sais, partículas metálicas e outros materiais que melhoram a condutividade da solução. No entanto, a

configuração A proporciona fibras mais finas, com porosidade das camadas (*layer*) menor, com distribuição homogênea das fibras e estabilidade dimensional melhor que a configuração B. (KILIC et al., 2007)

- **Distância entre agulha e coletor**

Variar a distância entre o bico e o coletor é outra abordagem para controlar o diâmetro e morfologia das fibras. A distância entre a ponta da agulha/fieira e o coletor, ou seja, a distância de trabalho deve ter um valor mínimo para garantir a total evaporação do solvente, e um valor máximo para que o campo elétrico seja efetivo na estabilização do cone te Taylor e, conseqüentemente, na formação das nanofibras. Em distâncias que são ou muito pequenas ou muito longas pode ocorrer a formação de contas (Figura 12). (BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)



**Figura 12:** Mecanismo de formação de contas. As imagens correspondem a diferentes distâncias da ponta da agulha até o coletor: (a) 1 cm; (b) 3 cm; (c) 5 cm; (d) 7 cm; (e) 9 cm; (f) 12 cm; (g) 15 cm; (h) 30 cm.

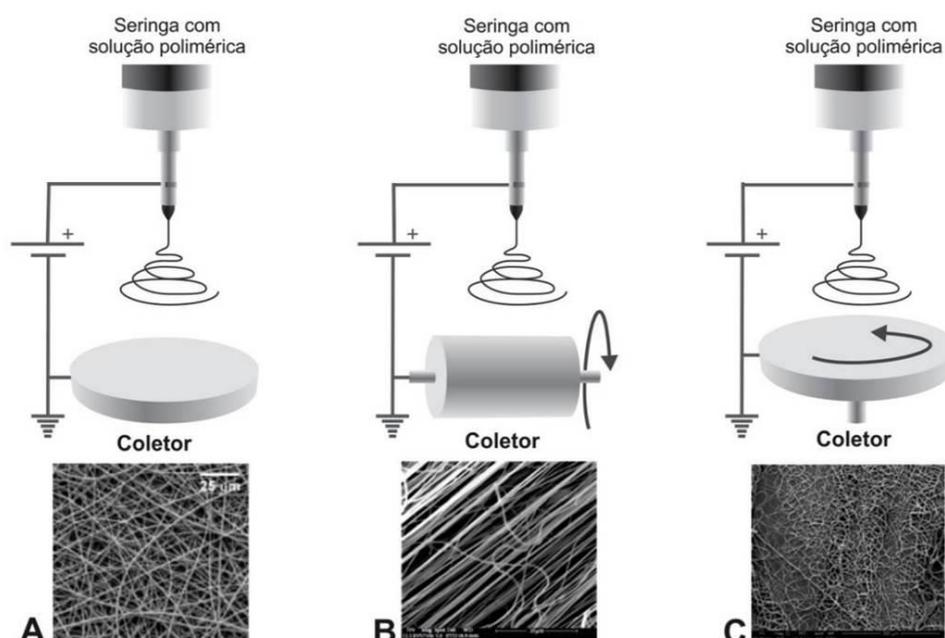
Fonte: <sup>1</sup>COSTA et al. (2012).

- **Composição e geometria dos coletores**

Um aspecto importante do processo de eletrofiação é o tipo de coletor utilizado. Neste processo, um coletor serve como um substrato condutor onde as nanofibras são recolhidas. Geralmente, uma folha de alumínio é utilizada como um coletor, tendo em vista à dificuldade em transferir

as fibras recolhidas em coletores sem a cobertura do alumínio. Diversos são os estudos sobre geometria e composição dos coletores para nanofibras. Coletores estáticos, rotativos, de cilindro rotativo, pontuais e aros, permitem diversas geometrias como mantas, fibras alinhadas e malhas. (LUZIO et al., 2014; <sup>1</sup>COSTA et al., 2012; BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)

No estudo de Li et al. (2010) (Figura 13) o processo de eletrofiação é apresentado com três tipos distintos de coletores. Na configuração (a) as fibras são depositadas aleatoriamente sobre o coletor estático aterrado, produzindo uma manta de nanofibras sem orientação. Na configuração (b) as fibras são depositadas em coletor rotativo de alta velocidade, produzindo fibras alinhadas. E na configuração (c) as fibras são depositadas em forma de espiral em coletor rotativo de baixa velocidade, produzindo fibras parcialmente organizadas. (LI et al., 2010)



**Figura 13:** Morfologia das fibras com o uso de diferentes coletores: (a) coletor estático; (b) coletor rotativo de alta velocidade; (c) coletor rotativo de baixa velocidade.  
Fonte: Adaptado de LI et al. (2010).

### 3.2.3 Parâmetros Ambientais

É difícil isolar o efeito de muitos dos parâmetros, uma vez que estão inter-relacionados. Por exemplo, alterando-se a temperatura ambiente existirá uma alteração na concentração da solução, e conseqüentemente na viscosidade, afetando assim, outras propriedades da solução,

tais como a tensão superficial e condutividade. O aumento da temperatura produz fibras com diâmetro menor devido à diminuição da viscosidade da solução do polímero. (BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006)

Quando a umidade relativa é muito baixa, um solvente volátil pode secar rapidamente devido a sua rápida evaporação. Por vezes, a taxa de evaporação é tão alta em comparação com a velocidade de eletrofição que acaba resultando em problemas no processo de obtenção das fibras. Como resultado, o processo de eletrofição só pode ser realizado por alguns minutos antes que a ponta da agulha fique obstruída. (BHARDWAJ & KUNDU, 2010; PHAM et al., 2006) Outro fenômeno interessante que pode surgir da composição entre baixa umidade e solventes de alta volatilidade é a presença de porosidade nas fibras. (COSTA et. al, 2012)

A fim de facilitar a avaliação dos parâmetros, a Tabela 1, apresenta um resumo dos principais efeitos nas morfologias das fibras e suas relações com os parâmetros de processamentos apresentados.

**Tabela 1:** Parâmetros do processo de eletrofição e seus efeitos sobre a morfologia das fibras.

Parâmetros	Parâmetros de processo	Efeitos na morfologia das fibras
<b>Parâmetros de solução</b>	<i>Viscosidade / Concentração</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Baixas concentrações/viscosidades produzem defeitos sob a formas de grânulos e junções. O aumento da concentração/viscosidade reduz os defeitos;</li> <li>Diâmetros das fibras aumentam com o aumento da concentração/viscosidade;</li> </ul>
	<i>Condutividade</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aumentando da condutividade auxilia na produção de fibras sem grânulos;</li> <li>Condutividades maiores em geral produzem fibras com diâmetros menores;</li> </ul>
	<i>Tensão superficial</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Não existe ainda uma correlação entre a tensão superficial da solução e a morfologia das fibras;</li> <li>Alta tensão superficial pode gerar instabilidade no jato polimérico;</li> </ul>
	<i>Massa molar</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>O aumento do peso molecular reduz o número de grânulos e gotas;</li> </ul>
<b>Parâmetros de processamento</b>	<i>Taxa de injeção/alimentação</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Taxas de alimentação menores produzem fibras com menor diâmetro;</li> <li>Taxas de alimentação muito altas produzem fibras com grânulos, e podem gerar fibras que não estavam secas a atingir o coletor;</li> </ul>

	<i>Distância agulha/coletor</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Distâncias muito pequenas ou muito grandes geram fibras com grânulos. Uma distância mínima é necessária para gerar fibras uniformes;</li> </ul>
	<i>Voltagem / Tensão aplicada</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tendência a diminuição do diâmetro da fibras com o aumento da tensão;</li> <li>• Tensões muito altas podem gerar fibras com grânulos;</li> </ul>
<b>Parâmetros ambientais</b>	<i>Temperatura</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O aumento da temperatura causa o decréscimo na viscosidade da solução, resultando em fibras mais finas;</li> </ul>
	<i>Humidade</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta umidade pode propiciar o aparecimento de poros circulares nas fibras;</li> </ul>

Fonte: Adaptado de BHARDWAJ & KUNDU (2010) e PHAM et al.(2006).

### 3.3 Nanofibras de poli(hidroxicanoatos) (PHAs)

Conforme já foi mencionado, mantas de fibras não tecidas, obtidas por eletrofição de soluções de polímeros são caracterizadas por uma elevada porosidade, tamanho dos poros pequenos com uma estrutura interligada, e uma grande área de superficial por unidade de volume, assemelhando-se, assim, à matriz extracelular natural. Estas características fizeram das fibras eletrofiadas um material atraente em uma variedade de aplicações, especialmente na área biomédica. (CACCIOTTI et al., 2013; PASCU et al., 2013; YANG et al., 2012; LEMECHKO et al., 2013)

Um exemplo de estudo de PHA aplicado à área biomédica pode ser visto no trabalho de Nagiah et al. (2013) cujo objetivo foi a obtenção de nanofibras coaxiais com morfologia núcleo (PHB) e casca (gelatina) a fim de produzir um novo biomaterial com boa biocompatibilidade e melhores propriedades mecânicas. De acordo com os autores a inclusão da gelatina melhorou a elasticidade das fibras.

Outro exemplo foi reportado por Veleirinho et al. (2011) e envolveu a mistura de soluções de PHBV e quitosana para produção de nanofibras híbridas. Segundo os autores, a presença de quitosana aumentou a hidrofiliabilidade e a biodegradabilidade, além de melhorar as propriedades mecânicas das mantas nanofibrosas, proporcionando melhores condições de manuseamento dos materiais. Além disso, os autores apontaram que algumas propriedades biológicas úteis podem ser esperadas devido à presença de quitosana, nomeadamente a atividade antimicrobiana.

Por outro lado, a pesquisa de Fabra et al. (2015) envolveu a utilização de nanofibras de PHB para área de embalagens para alimentos. Para essa aplicação os autores desenvolveram sistemas multicamadas produzidos a partir de filmes de polímero de glúten de trigo recobertos com camadas de nanofibras de PHB. Dentre os resultados reportados pelos autores estão o aumento das propriedades mecânicas do filme de glúten de trigo (resistência à tração e módulo elástico), além da capacidade de estiramento desses sistemas ser muito afetada pela espessura da camada externa e pelas condições de umidade relativa.

Entre os solventes do PHB estão: cloreto de metileno; clorofórmio; 1,2-dicloroetano; 1,1,1,2-tetracloreto etano; tricloroetileno; acetato de etila; 2,2,2-trifluoroetanol; dimetilformamida e dimetilsulfóxido. Entre os solventes parciais estão: anilina; piridina; ácido oleico; ácido acético; 1-octanol; dibutilftalato; trioleína; triacetina; carbonato de propileno; aceto acetato de etila; dioxano; benzeno; xileno; tolueno. (TERADA & MARCHESSAULT, 1999)

Apesar dos inúmeros solventes para o PHB, é possível notar uma predominância do uso do clorofórmio como um dos principais solventes, como pode ser visto na Tabela 2. Devido à alta cristalinidade do PHB outro fator importante notado nos estudos é o uso de aquecimento no processo de preparação da solução polimérica. Krevelen & Nijehnhuis (2009) destacam que polímeros com alta cristalinidade devem ter uma atenção especial, tendo em vista que as regiões cristalinas podem apresentar fortes ligações de hidrogênio que funcionam como ligações cruzadas físicas, o que dificulta a entrada de solvente na cadeia polimérica e assim sua solubilização à temperatura ambiente.

No processo de obtenção de nanofibras de PHB os parâmetros apresentados nos estudos são bastante variáveis. Grande parte dos autores estudados trabalha principalmente com parâmetros de solução e fixam parâmetros de processamento a fim de otimizar as variáveis e avaliar principalmente as variações de concentração da solução no diâmetro das fibras produzidas. Sendo assim, é difícil precisar as melhores condições de processamento das fibras de PHB por eletrospinning, sendo necessário o desenvolvimento de testes prévios para definir os parâmetros ideais.

**Tabela 2:** Parâmetros de processamento e solubilidade para nanofibras de PHB.

Polímero	% pol. na solução	Solvente	Técnica de solubilização	Parâmetros de processamento	Resultados	Autor
PHBV / Quitosana	10% (razão 4:1 e 3:2)	TFA/HFIP (30:70 e 50/50)	-	Tensão: 22kV TxInj.: 8µL/min D.: 14cm	50:50 – entre 100 e 500nm	VELEIRINHO et. al, 2011
PHBV (M <sub>w</sub> =280000 g/mol) / PEO (M <sub>w</sub> =100000 g/mol)	20% (razão 80:20 / 70:30 / 50:50)	Clorofórmio	Agitação a temperatura ambiente.	Agulha: 20G Tensão: 12kV TxInj: 0,4ml/h D.: 12cm	PHBV - 2,8µm 80:20 – 1,4µm 70:30 – 600nm 50:50 - 500nm	CACCIOTTI et. al., 2013
PHB (M <sub>w</sub> =300000 g/mol) / PHBV (M <sub>w</sub> =680000 g/mol)	14% (razão 50/50)	Clorofórmio	Agitação a 60°C	Agulha: 20G Tensão: 12kV TxInj: D.: 20cm Temp Sol.: 50°C	PHB – 3,7µm PHBV - 2,3µm 50:50 - 4µm	SOMBATMANKHONG et. al., 2006
PHBV (M <sub>w</sub> =400000 g/mol) / acetato de zinco	4% PHBV + 1% do polímero de ZnO	Clorofórmio / DMF (90:10)	24h agitação do PHB em clorofórmio e 24h com DMF	Tensão: 18kV TxInj: 0,5ml/h D.: 25cm Temp Sol.: 40°C	PHBV - 300nm PHBV + ZnO - 230nm	YU et. al. 2010
PHBV (M <sub>w</sub> =410000 g/mol) / hidroxiapatita nano	15% (razão 100:0 / 98:2 95:5)	Clorofórmio	15 min de ultrassom da hidroxiapatita no clorofórmio e 30min agitação com PHBV a 70°C	Agulha: 25G Tensão: 15kV (100:0) e 10kV (98:2 / 95:5) TxInj: 2ml/h (100:0) e 5ml/h (98:2 / 95:5) D.: 15cm	100:0 – 10 a 15 µm 98:2 e 95:5 – 13 a 20µm	PASCU et. al, 2013
PHB (M <sub>w</sub> =144000 g/mol) / hidroxiapatita nano	14% w/v	Clorofórmio / DMF (4:1)	Agitação a 60°C para solubilizar o PHB e agitação por ultrassom em etanol para dispersar a hidroxiapatita	Tensão: 25kV TxInj: 3ml/h D.: 25cm Temp Sol.: 30°C	PHB – 950nm PHB/ Hidroxiapatita - 640nm	RAMIER et. al., 2014
PHB (M <sub>w</sub> =300000 g/mol) / PHBV (M <sub>w</sub> =680000 g/mol)	14% w/v	Clorofórmio	Agitação a 60°C	Agulha: 20G Tensão: 12kV TxInj: 0,4ml/h D.: 20cm Temp Sol.: 50°C	PHB – 3,7µm PHBV - 2,3µm	SUWANTONG et. al, 2007
PHB (M <sub>w</sub> =530000 g/mol) / PEO (M <sub>w</sub> =100000 g/mol)	10% w/w PHB e PHB/PEO (9:1)	Clorofórmio / DMF (80:20)	Agitação a 70°C	Agulha: 25G Tensão: 20kV TxInj: 10ml/h Umidade.: ~50% Temp Sol.: 40°C	PHB - 900nm PHB/PEO – 1 a 2µm	FERNANDES et. al., 2014
PHB / PANI (M <sub>w</sub> =50000 g/mol)	4,3% PHB w/w 0,15% PANI w/w	Clorofórmio / TFE (3:1)	-	Tensão: 10kV TxInj: 0,3ml/h D.: 15cm	PHB/PANI - 150 a 600nm	FRYCZKOWSKI et al., 2009
PHBV (M <sub>w</sub> =690000 g/mol) / PEO (M <sub>w</sub> =100000 g/mol)	20% w/v (80:20 / 70:30 / 50:50)	Clorofórmio	Agitação a temperatura ambiente	Agulha: 20G Tensão: 12kV TxInj: 0,4ml/h D.: 12cm	PHB – 2,8µm PEO - 240nm 80:20 - 2,6µm 70:30 - 600nm 50:50 - 500nm	BIANCO et. al., 2013
PHBV	25% w/v	Clorofórmio / DMF (80:20)	-	Agulha: 10G Tensão: 25kV TxInj: 3ml/h D.: 25cm	1,2µm	LEMECHKO et. al., 2013
PHBV (M <sub>w</sub> =680000 g/mol)	2% w/w	TFE	-	Tensão: 15kV TxInj: 1ml/h D.: 21cm	185nm	ITO et. al., 2005
PHB (M <sub>w</sub> =398000 g/mol) / PHBV	-	TFE	Agitada a 60°C por 2 minutos	Agulha: 27G Tensão: 25kV TxInj: 0,5 - 1ml/h D.: 25cm	Txinj. 0,5ml/h fibras sem grânulos TxInj. 1ml/h presença de grânulos Diâmetro ~100nm	BRETCANU et. al., 2009
PHB	0,5 a 2,5 % w/w	HFIP	-	Agulha: 25G Tensão: 15kV TxInj: 1,4ml/h	2,5% - 560nm 1% - 350nm 0,5% - 280nm	ISHII et. al., 2009

### 3.4 Sistemas para liberação prolongada de fertilizantes

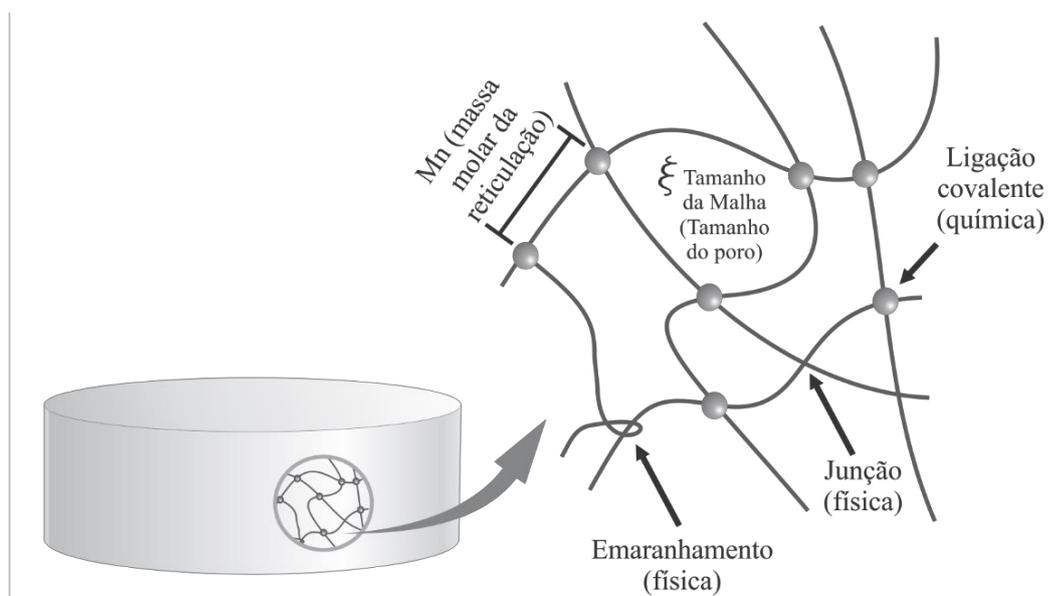
Para atender à crescente demanda de alimentos, o setor agrícola é obrigado a empregar enormes quantidades de fertilizantes produzindo um impacto ambiental indesejável. Conforme dito anteriormente, a expectativa é que a demanda per capita por alimento dobre por volta de 2050, portanto, é de suma importância desenvolver sistemas que aumentem a produção e reduzam os problemas ambientais. (AZEEM et al., 2014)

Vários tipos de fertilizantes naturais e sintéticos para usos agrícolas estão disponíveis no mercado em grandes quantidades. Normalmente, estes fertilizantes contêm três elementos, que são o nitrogênio, fósforo e potássio. Entre eles, a ureia é um fertilizante sintético importante e é a principal fonte de nutrição das plantas. A expectativa da demanda de ureia para utilização como fertilizante é de crescimento ano a ano (em milhões de toneladas métricas): 149,10 (2014); 153,74 (2015); 155,53 (2016); 157,61 (2017) e 159,51 (2018). (NAZ & SULAIMAN, 2016)

Na prática a utilização da ureia convencional não é tão eficiente, pois resulta em perda excessiva de nitrogênio do solo, levando a más colheitas e uma grande perda econômica para os produtores. Os potenciais riscos e outros fatores relacionados à poluição do meio ambiente têm imposto algumas limitações no uso da ureia como fonte de nutrientes para as plantas. Um dos potenciais efeitos nocivos derivados do uso da ureia convencional é o aumento do nível de nitratos acima do desejável no solo e sua posterior emissão para o meio ambiente. (NAZ & SULAIMAN, 2016)

Portanto, é imperativo melhorar o desempenho da ureia durante a sua utilização. Fertilizantes de liberação controlada são tidos como uma das soluções para aumentar o rendimento das culturas, reduzindo a poluição ambiental causada pelas emissões perigosas de nitratos dos fertilizantes. (CASTRO-ENRÍQUEZ et. al., 2012; CORRADINI et. al., 2010) No entanto o desenvolvimento de tais sistemas não tem se mostrado uma tarefa fácil.

Um hidrogel é uma rede de cadeias de polímero com ligações cruzadas cujos espaços são preenchidos com um fluido, normalmente água (Figura 14). (ULLAH et al., 2015)



**Figura 14:** Estrutura química de um hidrogel.

Fonte: ULLAH et al. (2015).

O surgimento dos hidrogéis a base de poliacrilamida, se deu na década de 50 por uma empresa americana. Na época, a capacidade de retenção de água não ultrapassava 20 vezes a sua massa. Com a expiração da patente nos anos 70, uma empresa britânica melhorou as propriedades de retenção de água do polímero, elevando a capacidade de retenção de 20 para 40 vezes e de 40 para 400 vezes no ano de 1982. (AZEVEDO et al., 2002)

A partir dos anos 80 inúmeros trabalhos foram desenvolvidos, principalmente para comprovar a eficiência dos hidrogéis como um produto que tem a capacidade de reter e disponibilizar água para os cultivos agrícolas, além de aumentar a capacidade de armazenamento de água do solo. (AZEVEDO et al., 2002)

Até que nos anos mais recentes as pesquisas avançaram na direção dos hidrogéis atuarem como sistemas de liberação controlada, favorecendo a absorção de alguns elementos nutrientes, aprisionando-os fortemente e atrasando a sua dissolução. Consequentemente, a planta ainda consegue ter acesso ao fertilizante, resultando em aumento da taxa de desempenho do crescimento. (ZOHURIAAN-MEHR & KABIRI, 2008; ULLAH et al, 2015)

Jammongkan & Kaewpirom (2010) prepararam hidrogéis para aplicação como fertilizante de liberação controlada (CRF) a partir de poli(álcool vinílico) (PVA), PVA/quitosana e quitosana, usando glutaraldeído como agente reticulante. Nesse caso os autores estudaram o

comportamento de liberação de potássio a partir dos hidrogéis CRF, tanto em água como no solo.

O tipo de mecanismo da difusão dos hidrogéis foi determinado pelo coeficiente difusional ( $n$ ) oriundo das leis de difusão de Fick. Segundo os autores, para a liberação em água todos os hidrogéis apresentaram valores pequenos de  $n$  ( $n < 0,5$ ), indicando um mecanismo de difusão chamado de “quase Fickano”. O mecanismo de difusão Fickano é aquele em que a velocidade de difusão é bem menor do que a taxa de relaxação do polímero.

Liang et al. (2009) investigaram a liberação da ureia através de hidrogéis compostos de vários teores de glúten de trigo (WS) enxertado com poli(ácido acrílico) (PAA) (WS-g-PAA). O carregamento da ureia foi realizado pela imersão dos géis na solução aquosa de ureia. De acordo com os autores, a liberação da ureia foi muito rápida, sendo que o valor do coeficiente de difusão da ureia ( $D$ ) de  $6,2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  ficou maior do que o reportado na literatura ( $10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ).

Para tais autores, a nível molecular a difusão do soluto (ureia) através do hidrogel depende da estrutura porosa do hidrogel, isto é, depende do tamanho da malha dos poros no hidrogel. Segundo eles os hidrogéis WS-g-PAA obtidos ficaram fracamente reticulados e os tamanhos dos poros ficaram grandes, logo o efeito de obstrução exercido pela rede polimérico foi pequeno.

Rattanamanee et al, (2015) reportaram um sistema para liberação controlada de ureia composto de fibroína de seda, gelatina e quitosana. Segundo os autores, em pesquisa anterior eles haviam testado um sistema somente com fibroína de seda e gelatina alcançando a liberação da ureia em uma semana. De acordo com eles a introdução da quitosana no sistema teve como objetivo prolongar o tempo de liberação da ureia.

O grau de inchamento e a solubilidade em água foram bastante afetados pela introdução da quitosana no sistema. Ambos diminuíram com o aumento do teor de quitosana, sendo que o grau de inchamento sofreu uma redução drástica. Para os autores, esse resultado pode ser atribuído tanto à redução da porosidade do hidrogel como ao aumento da cristalinidade do sistema que, ao diminuir, a relaxação das cadeias poliméricas tende a impedir a mobilidade da água. Além disso, a presença da quitosana no hidrogel prolongou o tempo de liberação da ureia para duas semanas.

Ibrahim et al. (2016) desenvolveram sistemas de liberação controlada de ureia para usar na raiz do vegetal. Para isso usaram gelatina (colágeno) obtida das sobras de gordura de frango assado vendido em estabelecimentos comerciais enxertada com acrilamida.

Foram obtidos géis a partir de diferentes razões gelatina:poliacrilamida, os quais foram imersos em soluções aquosas de ureia com diferentes concentrações por 24 h para fazer o carregamento do gel. Segundo os autores o comportamento cumulativo de liberação da ureia com o tempo ficou próximo a um padrão de liberação controlada, com diferenças percentuais na liberação cumulativa de 2%.

Volova et al. (2016) utilizaram diferentes matrizes de PHB para produzir sistemas de liberação prolongada de ureia, a saber: filmes, “pellets” e recobrimento para grãos de ureia. De acordo com eles a liberação de ureia ocorria junto com a degradação do polímero e dependia da forma da matriz, sendo alcançado o tempo de liberação de até 30 dias.

Nos últimos anos, tem havido um interesse crescente no uso potencial de aplicações da nanotecnologia na agricultura e no setor alimentar. Embora nenhuma definição unificada tenha sido aprovada internacionalmente, nanomateriais podem ser definidos como materiais com menos de 100 nm, em pelo menos uma dimensão. (GRUÈRE, 2012; KHOT et. al., 2012)

Nesta escala, em parte por causa da razão superfície/volume maior, as propriedades biológicas dos materiais podem ser fundamentalmente diferentes dos materiais correspondentes em escala macroscópica. Em particular, os nanomateriais frequentemente apresentam diferentes propriedades termodinâmicas, magnéticas e ópticas. Estas propriedades singulares têm aberto a porta para o desenvolvimento de novas aplicações em todos os setores. Na agricultura e alimentação, uma ampla gama de aplicações da nanotecnologia está sendo desenvolvida e comercializada com objetivos diferentes, que vão desde a melhoria da segurança alimentar para redução de insumos agrícolas, embalagens reforçadas e melhor processamento e nutrição, além do potencial para promover a agricultura sustentável e fornecer melhores alimentos a nível global. No entanto, no domínio da agricultura, o uso de nanomateriais é relativamente novo e precisa de uma maior exploração. (GRUÈRE, 2012; KHOT et al., 2012; GRUÈRE et al., 2011)

Aplicações de nanofibras para as indústrias agrícolas e alimentares são relativamente recentes em comparação com os seus usos em outros setores. (OKUTAN et al., 2014) Para o Brasil, o setor do agronegócio é talvez o mais importante, seguido dos setores de alimentos e bebidas e biomédico. As aplicações potenciais são inúmeras, seja para fibras poliméricas ou derivadas

destas, para nanocompósitos ou blendas, seja revestindo superfícies ou em dispositivos, enfim, toda uma gama de possibilidades ainda não completamente explorada. (COSTA et al., 2012)

Uma característica desejável nos sistemas de liberação prolongada é uma área superficial elevada. Utilizando a técnica de eletrofiação, é possível obter materiais com tal característica. A técnica de eletrofiação permite produzir novos materiais na escala micro para nanômetros para a entrega de pesticidas, nutrientes e vitaminas de maneira contínua durante diversas semanas. (KAH & HOFMANN, 2014; CASTRO-ENRÍQUEZ et. al., 2012)

Kampeerappun & Phanomkate (2013) estudaram a produção de um fertilizante de liberação lenta utilizando a técnica de eletrofiação do tipo núcleo/casca. Para o experimento foram utilizados o poli(hidroxibutirato) (PHB,  $M_w \sim 400,000\text{g/mol}$ ), como o revestimento, enquanto o ácido poliláctico (PLA,  $M_w \sim 390,000\text{g/mol}$ ), misturado com fertilizantes foi utilizado como o núcleo. Os polímeros foram solubilizados em clorofórmio e dimetilformamida (DMF) na proporção 90:10, o fertilizante do tipo NPK (21-21-21) foi aplicado em proporções de 20-160% da massa de PLA. Os parâmetros aplicados ao ensaio foram: velocidade de injeção da casca de PHB  $2,4\text{ mL h}^{-1}$  e do núcleo de PLA com fertilizante variando de  $0,2$  a  $2,2\text{ mL h}^{-1}$ . As agulhas utilizadas foram de 18G para a casca e 22G para o núcleo, a tensão aplicada foi de 15 kV e a distância do coletor até a ponta da agulha de 15 cm.

Como resultados os autores reportam que as variações da taxa de injeção e da quantidade de fertilizante na solução do núcleo, não afetam significativamente a morfologia das fibras, cujo diâmetro ficou em torno de  $4,2\text{ }\mu\text{m}$ . No entanto, ensaios realizados através de MET, mostram que apesar do diâmetro externo não ter sido alterado o diâmetro do núcleo da fibra variou acentuadamente conforme o aumento da taxa de injeção da solução núcleo. A alta taxa de injeção da solução interna resultou em uma rápida liberação do fertilizante presente nas nanofibras, devido à redução da espessura da casca das nanofibras. Além disso, a taxa de liberação de fertilizante não foi afetada pela sua concentração no núcleo da fibra. Mas a maior concentração de fertilizante na solução núcleo resultou na maior presença de fertilizante liberado.

Castro-Enriquez et al. (2012) estudaram a liberação lenta de ureia através de mantas eletrofiadas de glúten de trigo produzidas a partir de solução com concentração de 8% (m/m) em etanol e dimetilsufóxido. Os parâmetros utilizados para produção das fibras foram: distância coletor/agulha 10 cm, taxa de fluxo/injeção  $0,01\text{ mL h}^{-1}$ , e tensão aplicada 15 kV. Uma

membrana homogênea e fina foi produzida com aproximadamente 40  $\mu\text{m}$  de espessura. A incorporação da ureia neste experimento se deu pela técnica de inchamento, onde as mantas de fibras eram colocadas em contato com 1 mL de uma solução com alta concentração de ureia. Posteriormente as amostras foram colocadas em moldes de 12 cm de diâmetro por 5 mm de espessura e posteriormente foram liofilizadas, criando assim uma pastilha para aplicação agrícola. O estudo aponta que a utilização do glúten de trigo para produção de nanofibras e para a liberação controlada de fertilizantes é satisfatório, tendo liberado 98% da ureia após 300 h de ensaio de liberação *in vitro*.

Os estudos utilizando eletrofiação para liberação de fertilizantes ainda são limitados, e poucas pesquisas estão disponíveis. Entretanto, este se mostra um campo em evolução e passível de novas abordagens e estudos, fato que impulsiona ainda mais o estudo desta tese. Apesar disto, muitos autores vêm discutindo o uso de nanomateriais na agricultura, principalmente relacionado aos impactos que isto pode trazer para a saúde humana. Na união europeia, a direção geral de saúde e defesa do consumidor criou o comitê científico de riscos para saúde emergentes e recentemente identificados, que busca identificar, analisar e emitir pareceres sobre riscos ambientais e sanitários. A nanotecnologia aplicada à agricultura se encaixa neste perfil, já que inúmeros estudos apontam os benefícios do uso desta tecnologia, sendo necessário o desenvolvimento de análises de risco para melhor compreensão dos seus efeitos no agricultor, e para os consumidores destes produtos (KHOT et al., 2012; CUSHEN et. al., 2012; GRUÈRE, 2012).

## 4 RECURSOS UTILIZADOS E METODOLOGIA

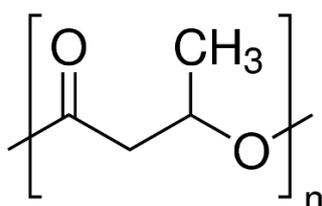
### 4.1 Materiais

Os materiais utilizados no experimento foram:

#### Polímeros

##### a) Poli(hidroxitirato) (PHB)

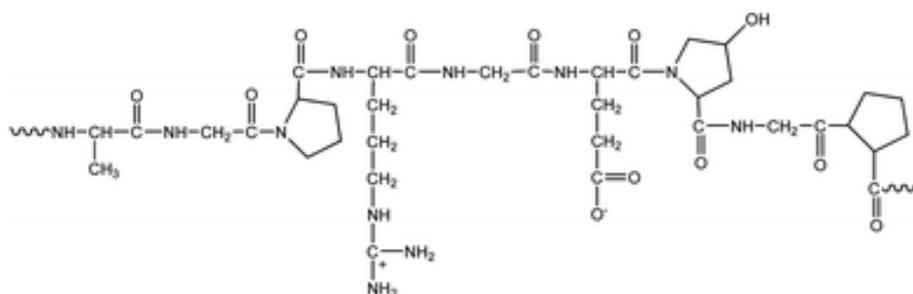
Foi utilizado o PHB da safra 2009, do tipo 1000-0, de massa molar  $M_w$  600.000  $g\ mol^{-1}$ , fornecido pela *Biocycle* (2014). Segundo o fabricante o material tem índice de fluidez de 6,5 g/10 min, densidade 1,20  $g\ cm^{-3}$ , resistência a tração de aproximadamente 32 MPa, alongamento na ruptura de 4%, temperatura de fusão cristalina de 170 – 175 °C, e temperatura de amolecimento Vicat de aproximadamente 135 °C. A fórmula do PHB pode ser vista na Figura 15.



**Figura 15:** Representação esquemática da fórmula do Poli(hidroxitirato) (PHB). (BIOCYCLE, 2014)

##### b) Gelatina (GEL)

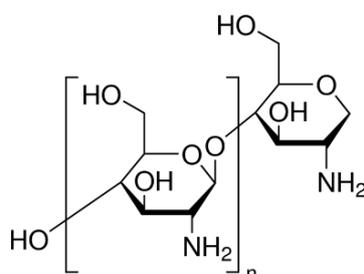
Foi utilizada gelatina em pó P.A. fornecida pela empresa Dinâmica, lote:78955. A fórmula da gelatina pode ser vista na figura 16.



**Figura 16:** Representação esquemática da fórmula da Gelatina (GEL).

### c) Quitosana (QUI)

A quitosana utilizada foi fornecida pela empresa Sigma-Aldrich, código 448877, massa molar média, com grau de desacetilação entre 75 e 85%. A fórmula estrutural da quitosana pode ser vista na figura 17.

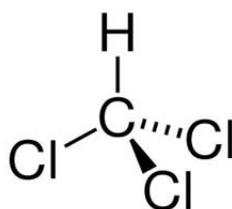


**Figura 17:** Representação esquemática da fórmula da Quitosana (QUI).

### Solventes

#### a) Clorofórmio

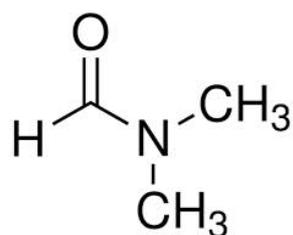
O clorofórmio utilizado foi fornecido pela empresa Synth, código C1062, com massa molar de 119,38 g mol<sup>-1</sup>. A fórmula estrutural do clorofórmio pode ser vista na Figura 18.



**Figura 18:** Representação esquemática da fórmula do Clorofórmio.

#### b) N,N - Dimetilformamida

Produto fornecido pela Synth, código D1009, com temperatura de ebulição de 154 °C, com ponto de fusão de 0,82 °C, densidade de 0,940 a 20°C, massa molar 73,10 g mol<sup>-1</sup>, temperatura de degradação térmica 350 °C, é biodegradado >90%/28 dias. A representação esquemática da fórmula estrutural do N, N - dimetilformamida pode ser vista na Figura 19.

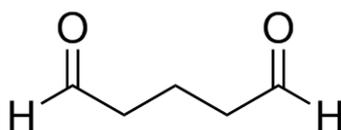


**Figura 19:** Representação esquemática da fórmula do N,N - Dimetilformamida.

### *Agente reticulante*

#### a) Glutaraldeído

Foi utilizado como agente reticulante da gelatina e da quitosana o glutaraldeído solução 25% em água, fornecido pela empresa Cromoline, lote 48135/16, com massa molar de  $100,05 \text{ g mol}^{-1}$ , densidade  $1,06 \text{ g cm}^{-3}$ . A fórmula estrutural do glutaraldeído pode ser vista na Figura 20.

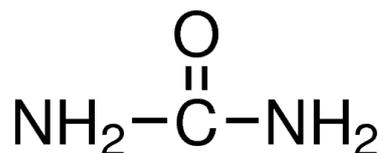


**Figura 20:** Representação esquemática da fórmula do Glutaraldeído.

### *Fertilizante modelo*

#### a) Ureia

A ureia utilizada como agente fertilizante modelo para o estudo foi fornecida pela empresa Neon, lote 30919, com teor de pureza de 99,5% e massa molar  $60,06 \text{ g mol}^{-1}$ . A fórmula estrutural da ureia pode ser vista na Figura 21.



**Figura 21:** Representação esquemática da fórmula da Ureia.

### **Reagentes utilizados em análises**

a) Ácido Clorídrico

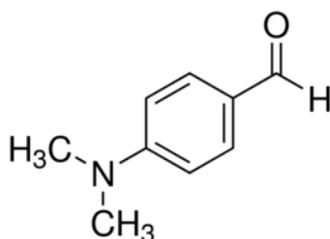
O ácido clorídrico 37% P.A/ACS utilizado foi fornecido pela empresa Neon, lote 33412, com teor estimado de 36,88% e massa molar de  $36,49 \text{ g mol}^{-1}$ .

b) Ácido Tricloroacético

O ácido tricloroacético P.A. utilizado foi fornecido pela empresa Neon, lote 30436, com teor estimado de 99,6% e massa molar de  $163,39 \text{ g mol}^{-1}$ .

c) 4-dimetilaminobenzaldeído

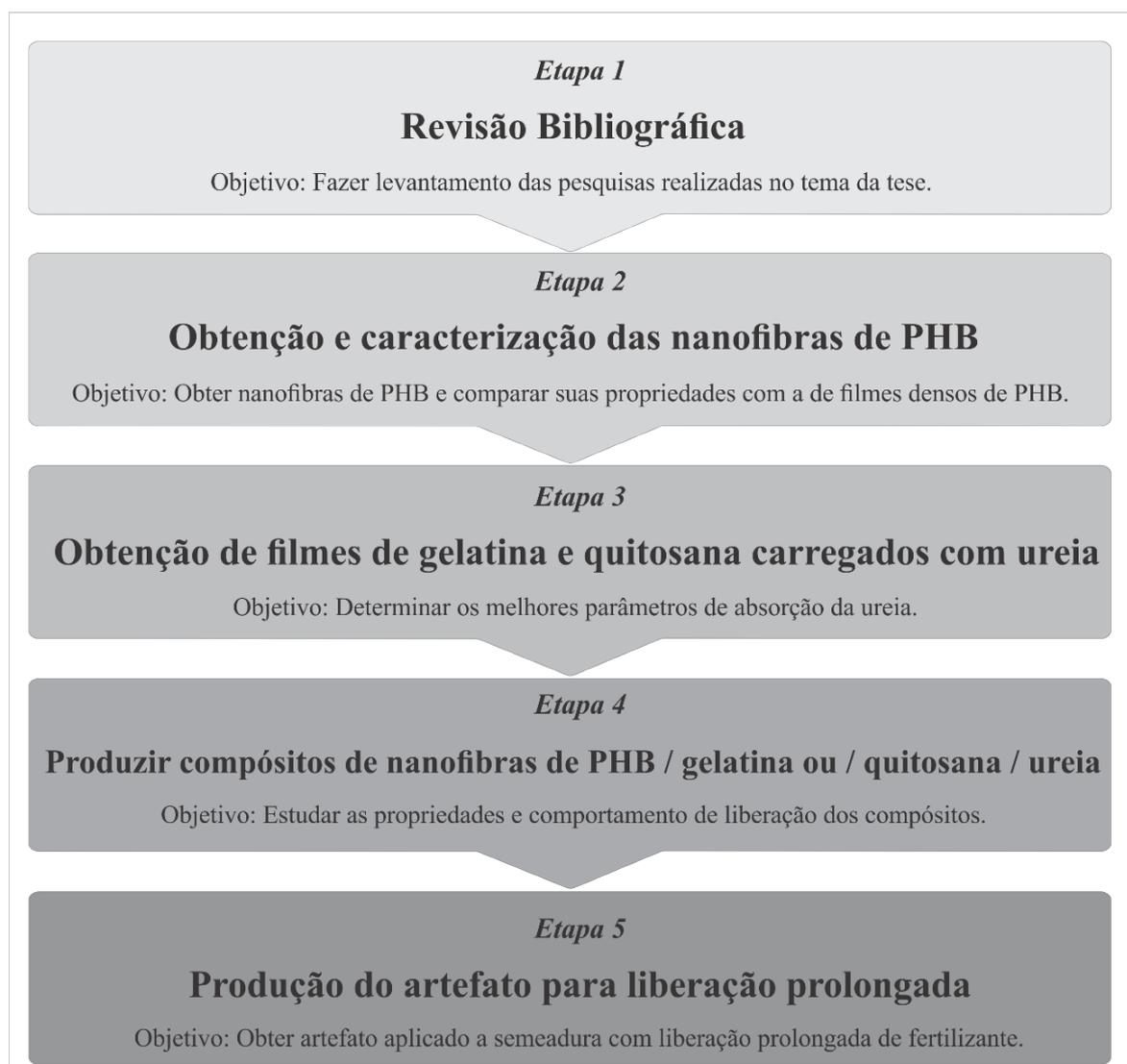
O 4-dimetilaminobenzaldeído P.A/ACS foi fornecido pela empresa Dinâmica, lote 75359, com massa molar de  $149,19 \text{ g mol}^{-1}$ . A fórmula estrutural do 4-dimetilaminobenzaldeído pode ser vista na Figura 22.



**Figura 22:** Representação esquemática da fórmula do 4-Dimetilaminobenzaldeído.

## **4.2 Metodologia**

A metodologia para execução do projeto foi dividida em cinco etapas conforme o esquema ilustrado na Figura 23.



**Figura 23:** Esquema da metodologia utilizada no desenvolvimento do trabalho.

O cumprimento dos objetivos de cada etapa do esquema apresentado na Figura 23 pode ser detalhado conforme a descrição abaixo.

## **2º Etapa:**

*Descrição da etapa:* Obtenção e caracterização das nanofibras de PHB. Os objetivos dessa etapa foram cumpridos com auxílio das seguintes análises:

- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura – observar a morfologia das mantas obtidas.

- FTIR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier – detectar os grupos químicos presentes na estrutura do PHB; determinar o grau de cristalinidade das nanofibras em relação ao filme denso de PHB.

- TGA – Análise Termogravimétrica – avaliar o comportamento de degradação térmica das nanofibras.

- DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial – estudar as transições térmicas das nanofibras; determinar o grau de cristalinidade das nanofibras em relação ao filme denso de PHB.

- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura – verificar a morfologia e distribuição de diâmetro das nanofibras.

- DRX – Difração de Raios X – verificar comportamento de cristalinidade das nanofibras de PHB.

- SAXS – Espalhamento de Raio X a Baixo Ângulo - verificar comportamento de cristalinidade das nanofibras de PHB.

*Resultado obtido:* Foram determinados os parâmetros ótimos para obtenção de nanofibras de PHB. As propriedades físico químicas das nanofibras de PHB foram comparadas com as do filme denso de PHB.

### **3º Etapa:**

*Descrição da etapa:* Obtenção de filmes de gelatina (GEL) e quitosana (QUI) carregados com ureia (fertilizante modelo). Os objetivos dessa etapa foram cumpridos com auxílio das seguintes análises:

- UV-Vis – Espectroscopia no Ultravioleta Visível – construção da curva padrão para ureia absorvância versus concentração ( $A \times c$ ); determinação da concentração de ureia liberada em água deionizada em tempos variados ( $t$ ).

*Resultado obtido:* Foram construídas curvas de concentração de ureia versus tempo de imersão em água deionizada ( $c \times t$ ).

#### **4º Etapa:**

*Descrição da etapa:* Produção de compósitos de nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia. Os objetivos dessa etapa foram cumpridos com auxílio das seguintes análises:

- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura – verificar morfologia e distribuição dos constituintes no compósito;
- EM – Ensaio Mecânico de Tração – verificar propriedades mecânicas dos compósitos
- UV-Vis – Espectroscopia no Ultravioleta Visível – construção de curvas de concentração de ureia (c) versus tempo de imersão em água deionizada (t).

*Resultado obtido:* O comportamento de liberação da ureia com a presença das nanofibras de PHB foi comparado com aquele apresentado pelo filme de gelatina e quitosana puras.

#### **5º Etapa:**

*Descrição da etapa:* Produção do artefato para liberação prolongada.

*Resultado obtido:* Protótipo do artefato testado com semeadura de painço.

### **4.3 Métodos**

#### *4.3.1 Preparação das soluções para eletrofiliação*

As soluções de PHB foram preparadas em diversos solventes, buscando definir sua compatibilidade e adequação da solução para o processo de eletrofiliação. Foram testadas soluções com concentração de 2% em massa de PHB em clorofórmio, dimetilformamida, diclorometano, etilacetato, dimetilsulfóxido e hexafluoroisopropanol. A mistura do PHB com os solventes foram realizadas em agitador magnético a 60 °C durante 30 minutos.

No entanto, o resultado deste ensaio determinou o clorofórmio como melhor solvente, seguido pela dimetilformamida. Os outros solventes não tiveram a capacidade de solubilizar o PHB.

A partir destes resultados foram estudadas apenas composições com clorofórmio e dimetilformamida como solvente e co-solvente respectivamente. Tal procedimento ficou de

acordo com artigos de eletrofiação de PHB, que em sua maioria utilizam soluções em clorofórmio e dimetilformamida.

#### 4.3.2 Produção das nanofibras

Diferentes experimentos foram realizados para determinar os melhores parâmetros de processamento das nanofibras. Foram estudados o tipo de solvente, concentração da solução, distância do coletor, e tensão aplicada.

Para a produção das fibras foi utilizando um equipamento de eletrofiação para duas seringas (Figura 24), com tensões máximas que vão de -30 kV a +30 kV, taxa de injeção da solução de 0,2 a 63 mm h<sup>-1</sup>, distância do coletor até a agulha de 0 a 20 cm, e sem controle de umidade ou aquecimento da seringa. As agulhas utilizadas foram de 20 G ou aproximadamente 0,70 mm a 22 G com aproximadamente 0,9 mm.

Todos os ensaios realizados foram feitos à temperatura ambiente, sem controle de umidade e temperatura da seringa.



**Figura 24:** Equipamento de eletrofiação com dois acionadores de seringa.  
Fonte: Próprio autor.

### 4.3.3 Preparação dos filmes de gelatina e quitosana

Os filmes de gelatina foram preparados com 25% (m/m) de gelatina em solução de água a 60 °C e mantida por 1 hora sob agitação magnética até a homogeneização da solução. Os filmes de quitosana foram preparados com 1% (m/m) de quitosana em solução aquosa 1% (v/v) de ácido acético. A solução foi aquecida a 50 °C e mantida por 1 hora sob agitação mecânica. Os filmes foram produzidos vazando a solução em placas de Petri, e submetendo-os a 2h no dessecador sob vapor de glutaraldeído sol. 25% a temperatura ambiente, posteriormente foram retirados e deixados para secar em temperatura ambiente por 48 horas.

## 4.4 Caracterizações

### 4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram feitas microscopias eletrônica de varredura (MEV), para avaliação da morfologia das nanofibras de PHB e a distribuição de diâmetro das fibras. O MEV também foi usado para caracterizar a morfologia do compósito PHB / gelatina ou quitosana / ureia. As análises foram realizadas com um microscópio eletrônico de varredura, equipado com filamento de tungstênio, resolução máxima de 3 nm a 30 keV, voltagem de aceleração de 200 a 30 kV, corrente da sonda de 1 pA a 20 uA, e velocidade de escaneamento de 20 ns a 10 ms.

### 4.4.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

A técnica de espectroscopia no infravermelho (FTIR) é amplamente utilizada para a verificação e determinação das características estruturais presentes dos polímeros. Através da análise do espectro é possível identificar os principais grupos funcionais presentes no material. As análises foram realizadas em equipamento com alinhamento dinâmico e resolução máxima de 0,5 cm<sup>-1</sup>, no intervalo de número de onda entre 4000 a 350 cm<sup>-1</sup>.

### 4.4.3. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica é de suma importância na determinação de parâmetros importantes como estabilidade térmica e degradação térmica oxidativa. (WENDHAUSEN, 2011)

As análises foram feitas sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL min<sup>-1</sup>, taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, e com variação térmica de 32 °C a 700 °C, realizado em equipamento com definição de 0,001 mg.

#### 4.4.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise calorimétrica exploratória diferencial é amplamente utilizada na investigação das transições térmicas dos materiais poliméricos, como temperatura e transição vítrea (T<sub>g</sub>) e temperatura de fusão (T<sub>m</sub>), e pode ser aplicada na determinação do grau de cristalinidade e, acompanhamento da cinética de cristalização, entre outras análises. As análises foram realizadas com primeiro aquecimento de -15 °C até 195 °C, resfriamento até -30 °C e segundo aquecimento até 70 °C. Com taxa de 10 °C min<sup>-1</sup> e fluxo do gás nitrogênio de 40 mL min<sup>-1</sup>.

#### 4.4.5 Espalhamento de Raios X a Baixo Ângulo (SAXS)

O método analítico baseado no espalhamento de raios X a baixo ângulo utiliza o espalhamento coerente da radiação X através de estruturas cristalinas nanométricas presentes no material polimérico. Os ensaios foram realizados no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, Campinas/SP) aplicando um feixe monocromático de alta intensidade com comprimento de onda de 1,55 Å por 300 segundos. A intensidade do espalhamento foi registrada usando um detector Pilatus 300 K (área ativa 84 x 107 mm<sup>2</sup>) para SAXS com uma distância entre o detector e a amostra de 1976,5 mm.

#### 4.4.6 Difração de Raio X (XRD)

O método foi utilizado para estudar a estrutura cristalográfica das diferentes morfologias de PHB (filme e nanofibras). Os ensaios foram realizados utilizando um equipamento equipado com um tubo de cobre (CuK $\alpha$  radiation,  $\lambda=1.54$  Å) operando a 40kV e 30mA. As amostras foram escaneadas a 20 min<sup>-1</sup> entre  $2\theta = 5^\circ$  e  $80^\circ$ .

#### 4.4.7 Ensaio de Tração

Os ensaios de tração foram realizados em uma máquina de ensaios universais para testes mecânicos, em temperatura ambiente, com velocidade de 0,5 mm min<sup>-1</sup>, utilizando uma célula de carga de 45 N e distância entre garras de 10 mm. Os testes foram utilizados para avaliar as propriedades das nanofibras em diferentes etapas, e sua influência nas propriedades mecânicas do compósito.

#### 4.4.8 Espectrofotometria na Região Ultravioleta e Visível (UV-Vis)

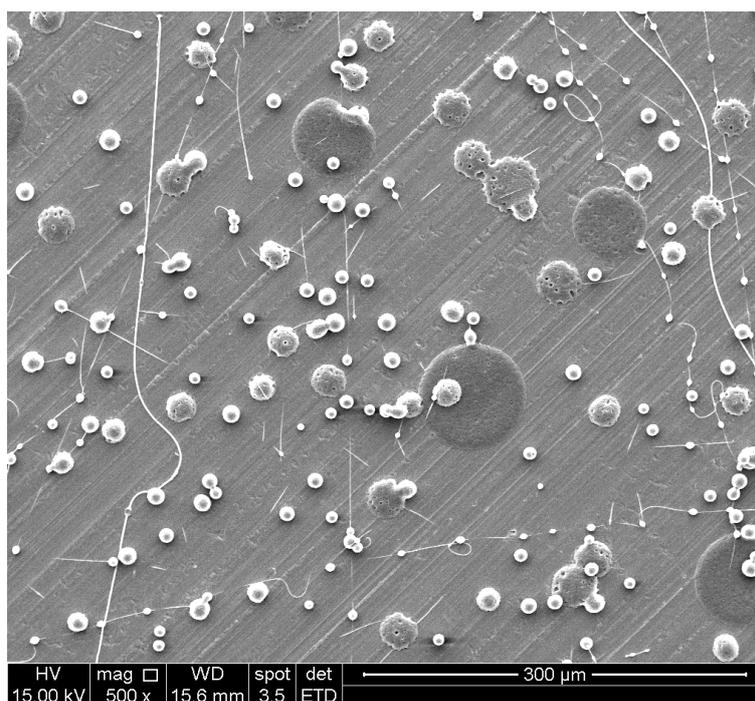
A técnica de caracterização por espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) é amplamente utilizada em estudos de identificação de compostos orgânicos, inorgânicos, íons, análises quantitativas de alguns grupos funcionais orgânicos, determinação de espécies orgânicas, inorgânicas e biológicas. As análises se baseiam na Lei de Beer-Lambert, onde a intensidade de um feixe de radiação eletromagnética é atenuada ao atravessar um meio que contenha uma espécie absorvente, devido a sucessivos processos de absorção, reflexão e dispersão. (MARTINHO, 1994)

O equipamento utilizado nos estudos de espectrofotometria (UV-Vis) permite a leitura na faixa de 185 nm até 1400 nm, com dispositivo anti-reflexo e duplo monocromador. Os ensaios foram realizados na faixa de 350nm até 450nm.

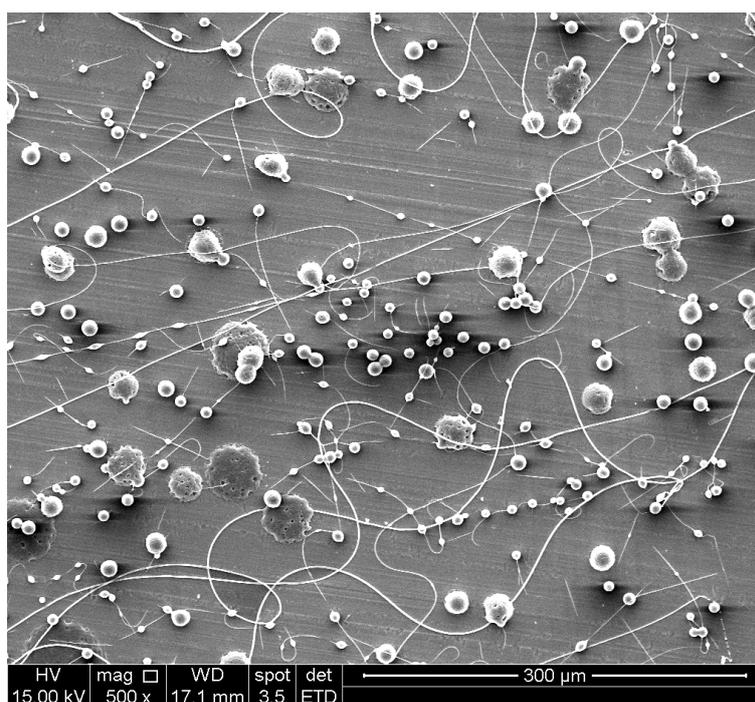
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Produção das nanofibras de PHB

Para os testes de produção de nanofibras de PHB através da eletrofição, foram usadas soluções de PHB com clorofórmio e PHB com clorofórmio e dimetilformamida em proporção de 90:10. Os primeiros testes utilizando apenas o clorofórmio como solvente foram realizados com soluções 2% (m/m) de PHB, solubilizados em agitador magnético por 3 horas a temperatura ambiente. Posteriormente as amostras foram eletrofiadas variando-se a distância da ponta da agulha ao coletor (d) de 10,0 12,5 e 15,0 cm. A tensão aplicada (V) foi de 10 kV, com taxa de injeção ( $\phi$ ) de 9,31 mm h<sup>-1</sup>, ou seja, em torno de 4,66 mL h<sup>-1</sup>. O resultado do ensaio pode ser observado na Figura 25.



(a)



(b)

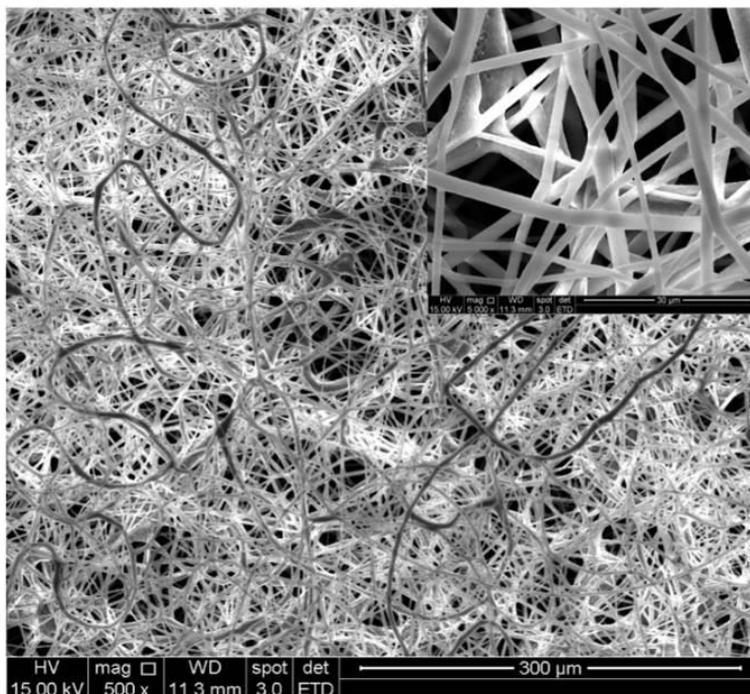
**Figura 25:** Esferas a partir de solução de PHB 2% em clorofórmio. (a)  $d= 12,5$  cm; (b)  $d= 15$  cm.

Fonte: Próprio autor.

Com a baixa concentração da solução polimérica não foi possível obter nanofibras, ao contrário foram obtidas contas (“beads”) como na técnica de *electrospraying*, que consiste na produção de esferas/gotas ao invés de fibras. A imagem da Figura 25 (a) apresenta a tentativa de eletrofiação com  $d= 12,5$  cm e deu origem a esferas com diâmetro médio (D) de aproximadamente  $14,6 \mu\text{m}$ . A Figura 31 (b) mostra o resultado do ensaio realizado com  $d= 15$  cm o coletor e produziu esferas com diâmetro médio (D) de  $9,31 \mu\text{m}$ . Bhardwaj & Kundu (2010) e Wang et al. (2011) destacam que o pré-requisito para a obtenção de produtos eletrofiados com uma estrutura semelhante à fibra é a existência de emaranhamento suficiente das cadeias nas soluções poliméricas. Na ausência de emaranhamento das cadeias, a eletrofiação não ocorre e sim a eletroatomização (*electrospraying*), em que apenas pequenas partículas sem quaisquer estruturas semelhantes a fibras são produzidas.

Baseando-se nos resultados do primeiro experimento, observou-se a necessidade do aumento da viscosidade da solução através do aumento da concentração, passando de 2% para 5% de PHB em clorofórmio. A solução foi produzida em agitação magnética por 6 horas com aquecimento de  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . A tensão (V) aplicada foi de 13 kV e 17 kV, distância do coletor até a

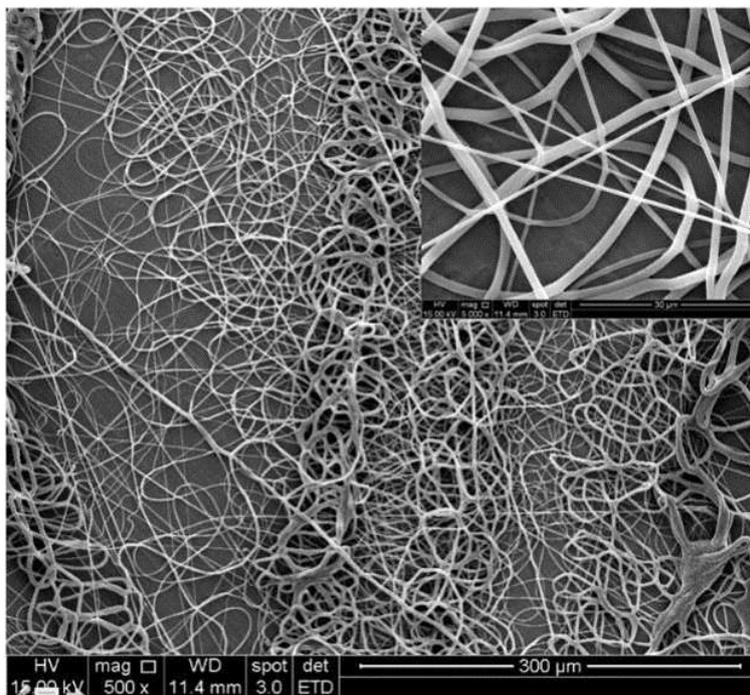
agulha (d) de 10 cm, taxa de fluxo/injeção ( $\phi$ ) de 3,6 mL h<sup>-1</sup> e utilização de agulha 19G, ou aproximadamente 1 mm. O resultado alcançado com V= 13 kV pode ser visto na Figura 26, já com V= 17 kV está apresentado na Figura 27.



**Figura 26:** Microfibras obtidas a partir de solução 5% de PHB em clorofórmio e eletrofiadas usando V= 13 kV.

Fonte: Próprio autor.

O diâmetro médio (D) das fibras para V= 13 kV foi de aproximadamente 1,95 μm, já para V= 17 kV D= 1,34 μm, confirmando a afirmação de Pham et al. (2006) de que existe uma tendência de se obter fibras com menores diâmetros com o aumento da tensão aplicada.

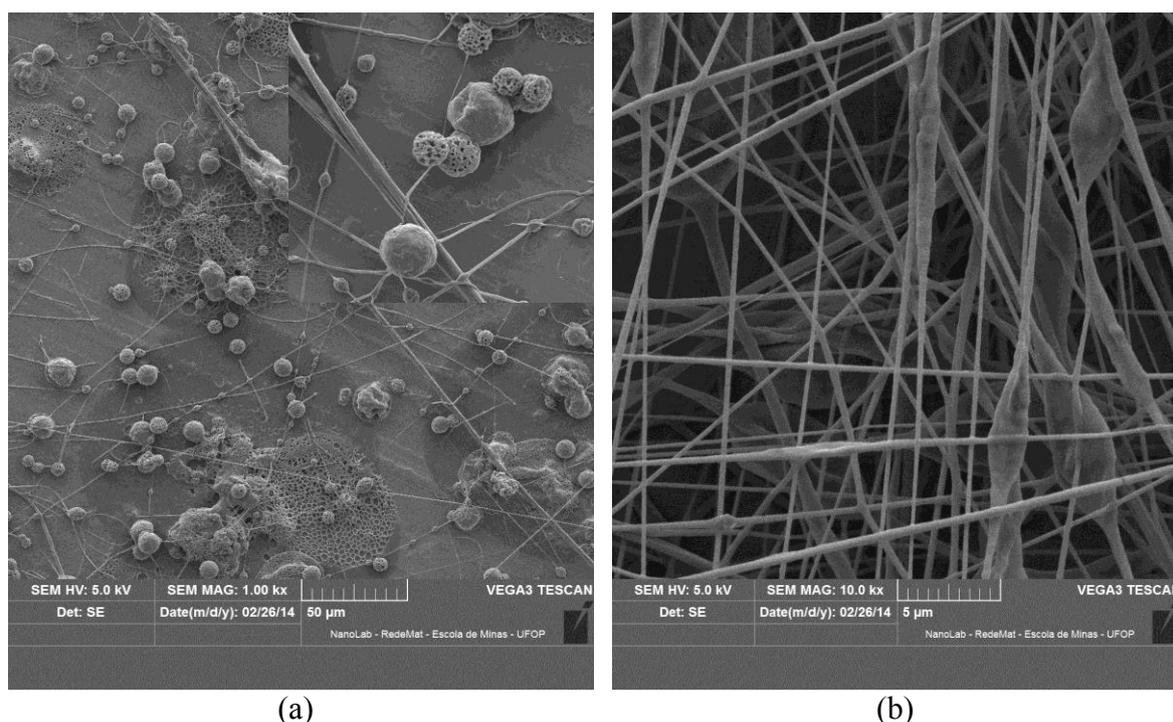


**Figura 27:** Microfibras obtidas a partir de solução 5% de PHB em clorofórmio e eletrofiadas usando  $V=17$  kV.

Fonte: Próprio autor.

O terceiro teste consistiu em avaliar o uso do clorofórmio em combinação com a dimetilformamida como co-solvente. A solução com 4% em massa de PHB foi preparada em agitador magnético por 17 horas a temperatura ambiente. Os parâmetros de processamento foram:  $V=11$  kV,  $\phi=10,3$  mm  $h^{-1}$  ou aproximadamente 1 mL  $h^{-1}$ , agulha 19G, e  $d=10$  cm.

As imagens de MEV estão apresentadas na Figura 28 (a) para a solução 4% em massa de PHB em clorofórmio e na Figura 28 (b) para a solução 4% em massa de PHB em clorofórmio e dimetilformamida (DMF) na proporção de 90:10.



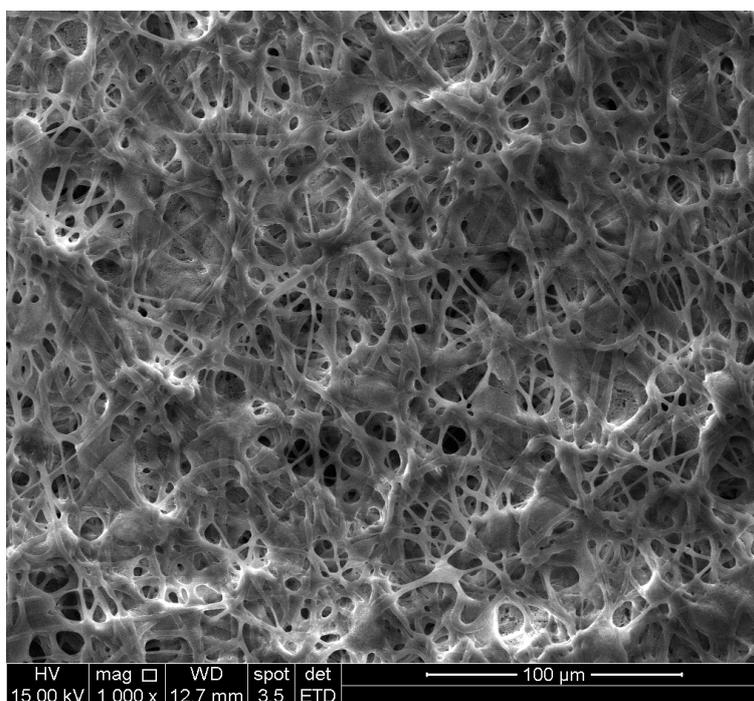
**Figura 28:** Resultados obtidos com a eletrofição de soluções 4% de PHB em diferentes solventes. (a) esferas com PHB solubilizado em clorofórmio; (b) nanofibras com PHB solubilizado em clorofórmio e DMF na proporção 90:10.

Fonte: Próprio autor.

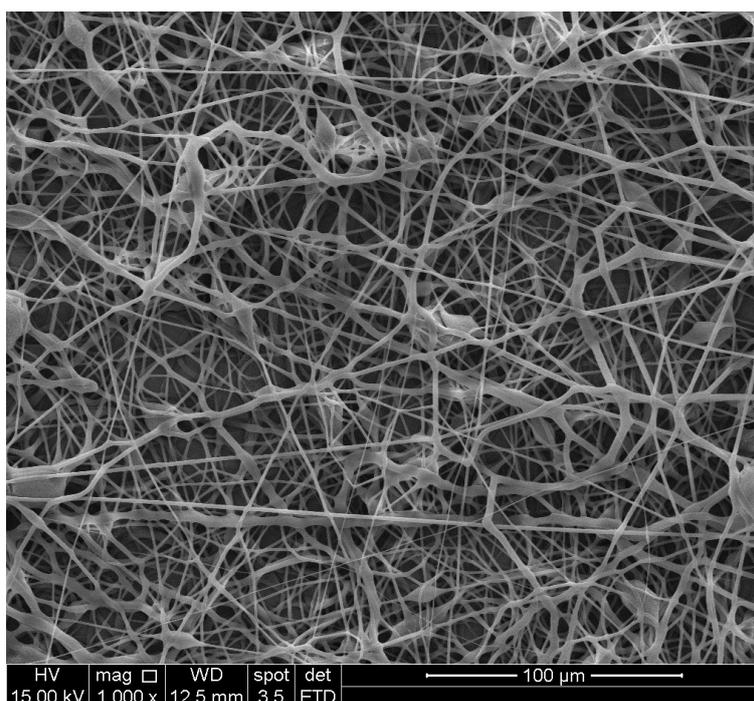
É nítida a influência da dimetilformamida na solução e consequentemente na qualidade da fibra eletrofiada. A amostra a partir da solução 4% em massa de PHB em clorofórmio não formou fibras como visto na Figura 28 (a), as partículas resultantes do processo de *electrospraying* tem diâmetro médio de aproximadamente 1,94 µm. As fibras (Figura 28 (b)) derivadas da solução 4% de PHB em clorofórmio com DMF em proporção 90:10 tiveram diâmetro médio de 283 nm, se comparado com o segundo estudo da Figura 28 os diâmetro das fibras reduziu drasticamente, cerca de 21%, com a presença do DMF na solução. Wang et al. (2011) destacam em seus estudos que quando o clorofórmio (CF) foi utilizado para preparar a solução de PHB, foram encontradas dificuldades, pois a condutividade da solução era demasiadamente baixa para um processo suave de eletrofição. Uma pequena quantidade de DMF foi adicionada para aumentar a eficiência da condutividade da solução.

No quarto estudo realizado o método de solubilização foi alterado, 6% em massa de PHB foi solubilizado em clorofórmio por 1 h a 60 °C, posteriormente foi adicionado o DMF e agitado por mais 3 h a 60 °C. Quanto aos parâmetros de processamento utilizados, foram testadas

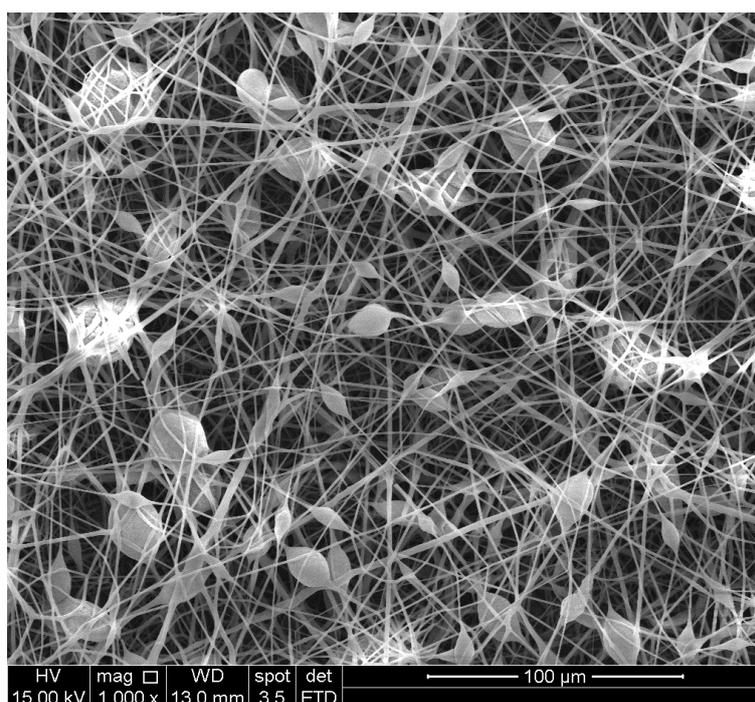
distâncias da ponta da agulha ao coletor (d) de 5 cm, 10 cm e 15 cm, aplicando uma tensão (V) de 14 kV, com taxa de fluxo/injeção ( $\phi$ ) de 1,1 mL h<sup>-1</sup> ou 10,3 mm h<sup>-1</sup>, com agulha 22G, sendo cada amostra eletrofiada por 20 minutos a temperatura ambiente. A Figura 29 (a) corresponde a d= 5 cm, a Figura 29 (b) a d= 10 cm e a Figura 29 (c) a d= 15 cm.



(a)



(b)



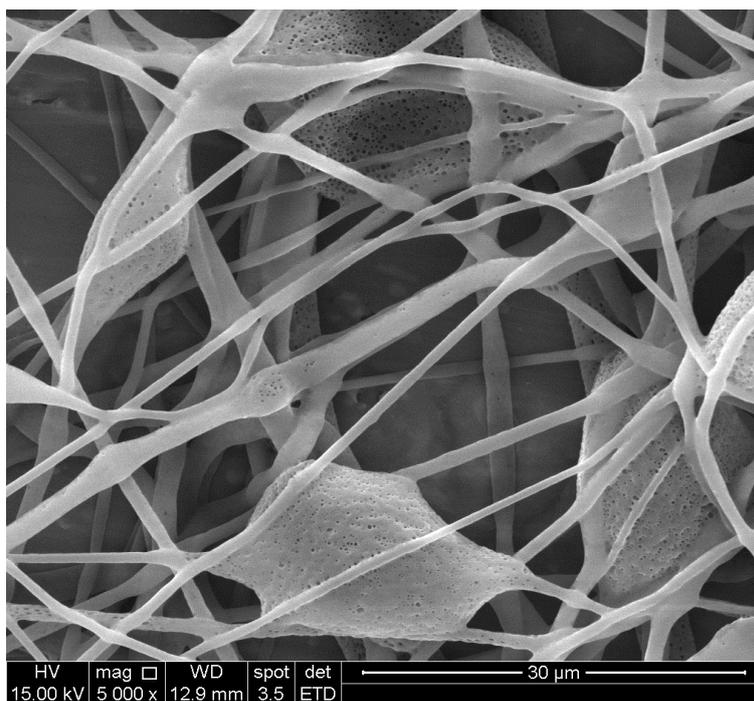
(c)

**Figura 29:** Estudo da influência da distância entre o coletor e a ponta da agulha ( $d$ ) na morfologia obtida com a eletrofiiação da solução de PHB 6% solubilizado em clorofórmio e DMF na proporção 90:10: (a)  $d= 5$  cm; (b)  $d= 10$  cm; (c)  $d= 15$  cm.

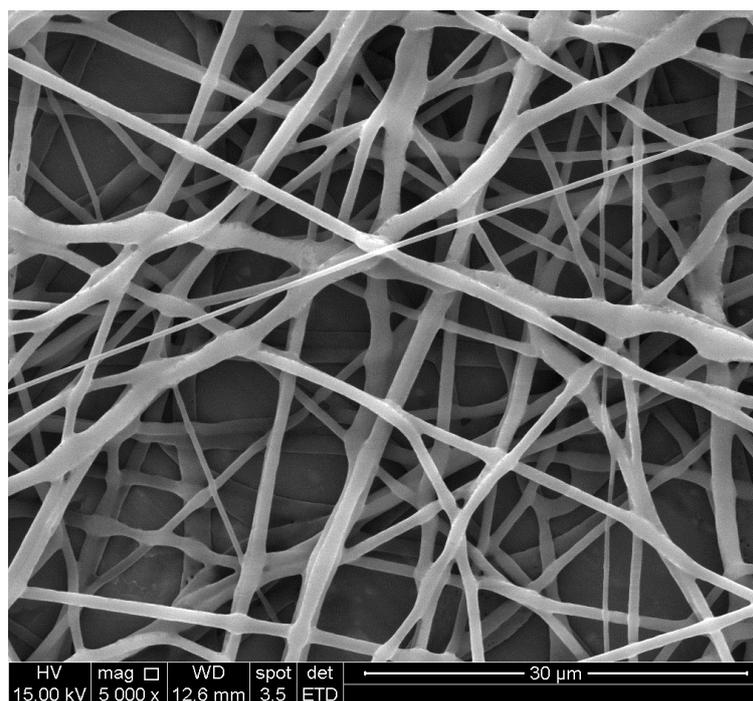
Fonte: Próprio autor.

Nota-se que a distância influencia diretamente a formação das fibras. A uma distância muito curta ( $d= 5$  cm) o solvente não tem tempo de evaporar e as fibras chegam ao coletor ainda molhadas, o que faz com que toda a estrutura se coalesça, formando uma massa quase unificada. Para  $d= 10$  cm as fibras são uniformes e com poucos grânulos. Já para  $d= 15$  cm a formação das fibras não é estável e desta forma a presença de grânulos é acentuada (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; PHAM et. al., 2006).

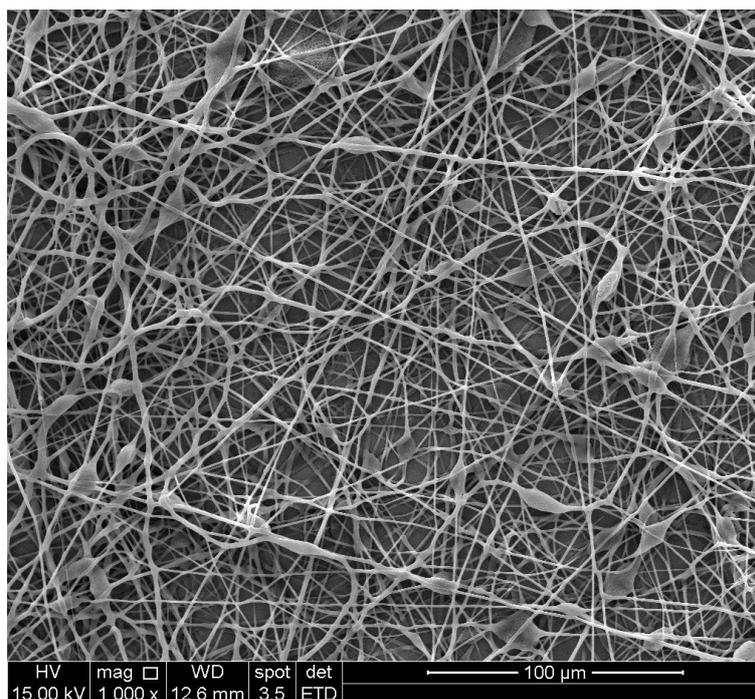
Os resultados do estudo da variação de tensão ( $V$ ) aplicada a esta mesma solução estão apresentados na Figura 30. Na Figura 30 (a) temos as fibras produzidas aplicando  $V= 12,5$  kV e o resultado são fibras com diâmetro médio ( $D$ ) de  $1,2 \mu\text{m}$ . Na Figura 30 (b) as fibras produzidas com  $V= 13,5$  kV têm diâmetro médio de  $925$  nm, e por fim na Figura 30 (c) as fibras produzidas com  $V= 10,5$  kV apresentam diâmetro médio de  $695$  nm, entretanto com uma grande presença de grânulos nas fibras.



(a)



(b)



(c)

**Figura 30:** Estudo da influência da tensão (V) aplicada na morfologia das nanofibras obtidas para PHB 6% solubilizado em clorofórmio e DMF na proporção 90:10: (a) V= 12,5 kV; (b) V= 13,5 kV; (c) V= 10,5 kV.

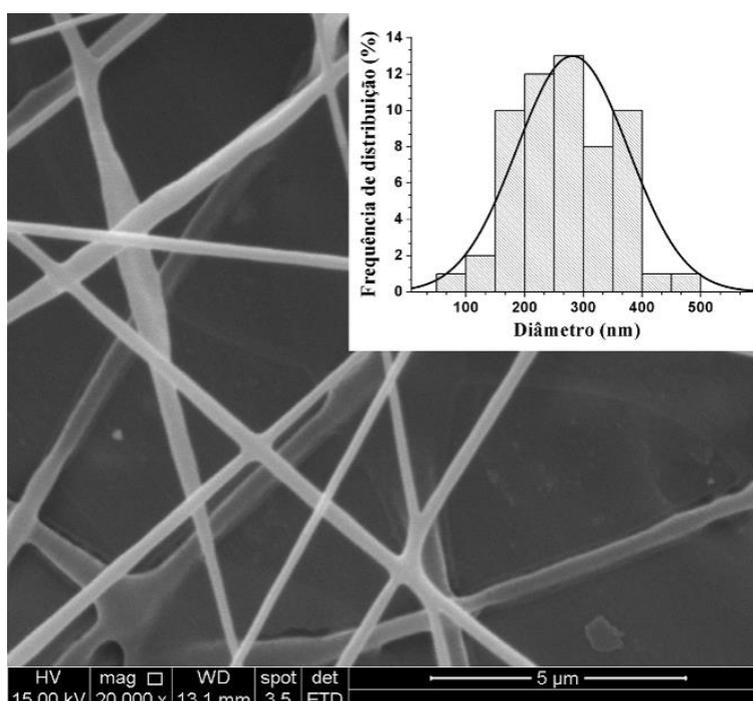
Fonte: Próprio autor.

Através desse estudo foi possível selecionar os melhores parâmetros, tanto de solução como de processo, para obtenção das nanofibras de PHB. Com os parâmetros ótimos estabelecidos as propriedades das nanofibras de PHB eletrofiadas foram investigadas e comparadas com as de filme denso de PHB. Os parâmetros usados para obtenção das nanofibras foram:

- Concentração da solução: 6% (m/m)
- Sistema de solventes: clorofórmio/DMF (9:1)
- Condições de preparo da solução: 3 h à 50 °C em agitação magnética
- Tipo de coletor: rotativo de baixa rotação (40 rpm)
- Tensão (V) usada: 11 kV
- Distância da ponta da agulha ao coletor (d): 10 cm
- Calibre da agulha: 0,7 mm
- Taxa de fluxo da solução ( $\phi$ ): 10,3 mm h<sup>-1</sup>

## 5.2 Estudo das propriedades das nanofibras de PHB

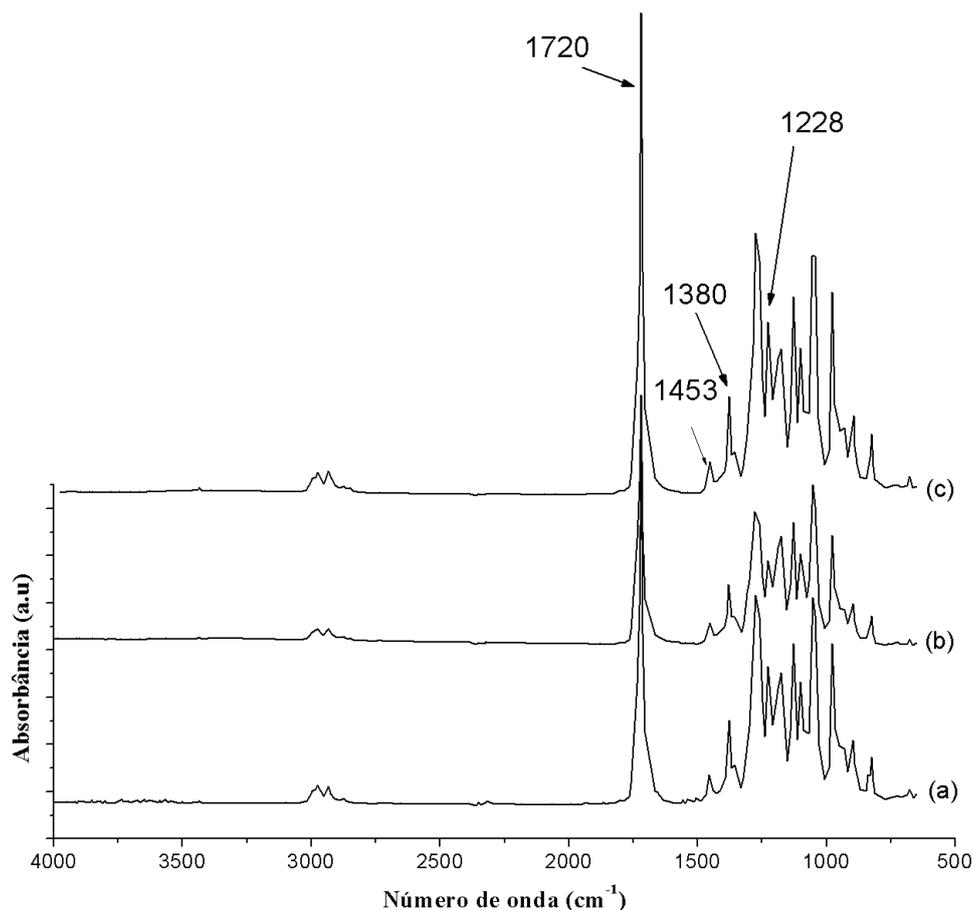
Nesse estudo foram produzidos a partir do PHB em pó, filmes finos termoprensados e mantas eletrofiadas de PHB sem grânulos foram fabricadas. No que diz respeito ao tamanho das fibras, o diâmetro médio pode ser visto na Figura 31. As medidas dos diâmetros das fibras para construção do histograma foram tomadas manualmente, em quantidades sempre superiores a 100 medições, e foram realizadas utilizando o software de análise de imagens ImageJ.



**Figura 31:** Micrografia da manta eletrofiada de nanofibras de PHB.

Fonte: Próprio autor.

Investigações iniciais com FTIR foram realizadas para detectar qualquer alteração da morfologia cristalina do PHB após o processamento das nanofibras e também após a moldagem por termoprensagem. Os espectros de FTIR do pó puro de PHB, do filme moldado por termoprensagem e da manta de nanofibras são apresentados na Figura 32, na qual foram observadas diferenças acentuadas entre os três espectros.



**Figura 32:** Espectro FTIR: (a) Pó do PHB (como recebido); (b) Nanofibras de PHB; (c) Filme termo-prensado de PHB.

Fonte: Próprio autor.

Bandas de absorção no infravermelho adequadas podem ser usadas para o estudo de cristalinidade dos polímeros. Os espectros de absorção de infravermelho do mesmo polímero nos estados cristalino e amorfo podem diferir por duas razões. Em primeiro lugar, interações intermoleculares específicas podem existir no polímero cristalino, que pode levar determinadas bandas a se acentuarem ou se dividirem; e em segundo lugar, algumas conformações específicas podem existir somente em uma das fases, o que conduz a bandas que são características da parte cristalina ou amorfa do material. (BILLMEYER, 1971)

O FTIR vem sendo usado por muitos autores para estimar a cristalinidade do PHB. Porter et al. (2011), por exemplo, monitoraram a cristalinidade do PHB puro através do índice de absorção (IA), calculado pela razão entre as intensidades das bandas 1184 cm<sup>-1</sup> e 1382 cm<sup>-1</sup>. De acordo com os autores, quando o PHB é resfriado a partir de uma massa fundida amorfa a 180°C até um sólido semicristalino à temperatura ambiente, a intensidade de absorção da banda 1184 cm<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> diminui em função do tempo, enquanto a intensidade da banda 1382 cm<sup>-1</sup> não se altera, podendo ser tomada como referência. Por outro lado, Xu et al. (2002), descobriram que a banda 1380 cm<sup>-1</sup> se altera devido a cristalização dos polihidroxialcanoatos. Tais autores então optaram por outro índice, definido como a razão entre a absorvância da banda cristalina 1230 cm<sup>-1</sup> em relação à absorvância da banda inalterada em 1453 cm<sup>-1</sup> (referência). A banda 1230 cm<sup>-1</sup> foi proposta como sendo relacionada com as conformações helicoidais da cadeia, uma vez que não há bandas do mesmo grupo para a fase amorfa. (XU et al., 2002)

O grau de cristalização do PHB é comumente investigado através da região vibracional de estiramento da carbonila C=O. (ZHANG et al., 2005; WANG et al., 2008; PACHEKOSKI et al., 2013) Para esse propósito, foi realizada a deconvolução da região da carbonila (C=O) utilizando as curvas de Gaussian-Lorentzian (R<sup>2</sup>=0,995) (Anexo 8.3). As bandas encontradas e as suas áreas percentuais correspondentes são apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3:** Bandas FTIR e suas áreas correspondentes após a deconvolução da região da carbonila.

<b>Bandas (área)</b>	<b>Pó</b>	<b>Filme</b>	<b>Nanofibras</b>
1	1686 (1,48%)	1686 (6,39%)	1687 (4,34%)
2	1704 (11,85%)	1714 (23,68%)	1704 (18,53%)
3	1720 (33,03)	1719 (41,97%)	1720 (22,90%)
4	1725 (44,26%)	1730 (20,04%)	1726 (35,62%)
5	1744 (9,39%)	1745 (7,92%)	1742 (18,61%)

Fonte: Próprio autor.

Zhang et al. (2005), durante suas experiências com o processo cristalização a partir do PHB fundido, observaram que a intensidade da banda 1722 cm<sup>-1</sup> aumentava gradualmente com o tempo, enquanto a banda em 1743 cm<sup>-1</sup> diminuía durante o processo de cristalização. Em razão deste fato, os autores atribuíram a banda em 1722 cm<sup>-1</sup> ao estiramento da carbonila (C=O) da fase cristalina e a banda em 1743 cm<sup>-1</sup> ao estiramento da C=O da fase amorfa. Wang et al. (2008), em espectros FTIR de nanofibras de PHB, também atribuíram as bandas em 1721 cm<sup>-1</sup> e 1735/1745 cm<sup>-1</sup> ao estiramento de C=O nas fases cristalina e amorfa, respectivamente.

A banda em torno de 1730 cm<sup>-1</sup> também já foi relacionada com a parte cristalina com estrutura menos ordenada, mas a atribuição dessa banda não foi esclarecida. (ZHANG et al., 2005) A

banda que aparece em  $1686\text{ cm}^{-1}$  foi descrita como uma banda sensível a parte cristalina e foi sugerida como relacionada à cristais com defeitos causados pela interação entre um grupo terminal OH e um grupo C=O do PHB. ZHANG et al., 2005 As atribuições das bandas  $1704\text{ cm}^{-1}$  ou  $1714\text{ cm}^{-1}$  não foram encontradas na literatura, mas é razoável especular que esta faixa de absorção está relacionada com as regiões de cadeias bem empacotadas com fortes ligações de hidrogênio.

De acordo com a Tabela 3, nanofibras de PHB apresentam maior área da banda relacionada à fase amorfa (em torno de  $1745\text{ cm}^{-1}$ ). Uma teoria possível é que apesar de terem sido recolhidas para um coletor rotativo, a velocidade não foi suficiente para estender as fibras. Por este motivo, elas foram depositadas aleatoriamente dando origem a fibras de baixa cristalinidade.

Isto não está de acordo com o resultado relatado por Pachekosky et al. (2013). Com base na investigação via FTIR da região da carbonila, os autores descobriram que as condições de processamento não produziram alteração no grau de cristalinidade do filme de PHB extrudado. No entanto, é importante notar que esses autores não separaram as bandas da carbonila. Wang et al. (2008), por outro lado, concluíram que a razão  $A_{1228}/A_{1453}$  parece ser mais apropriada para representar cristalinidade relativa das fibras de PHB devido à ausência de bandas que demandam o procedimento de deconvolução. Neste contexto, os índices calculados através da razão  $A_{1228}/A_{1453}$  são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Índice de absorção calculado através da razão  $A_{1228} / A_{1453}$   
PHB IA ( $A_{1228}/A_{1453}$ )

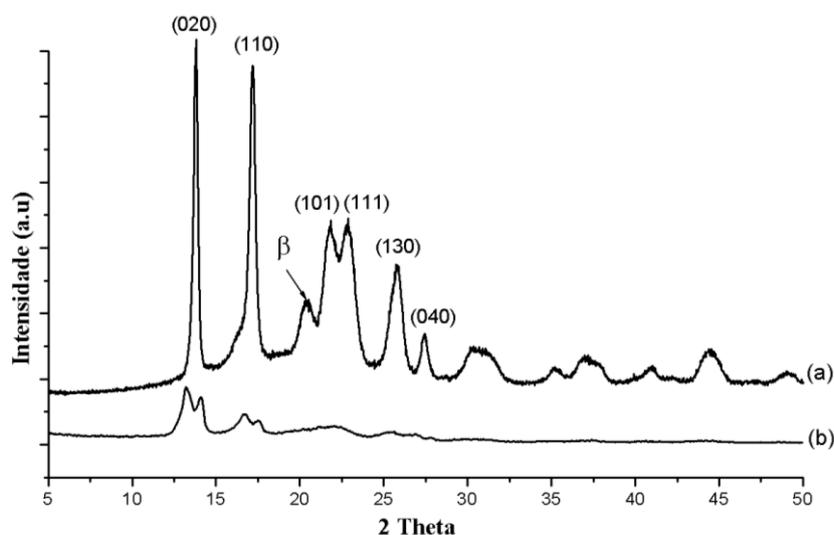
PHB	IA ( $A_{1228}/A_{1453}$ )
PHB em pó	2,08
Filme de PHB	2,44
Nanofibras de PHB	2,10

Fonte: Próprio autor.

Os índices são encontrados estão dentro do intervalo de 2,17 e 2,08 / 2,40 relatados na literatura para os filmes e nanofibras de PHB, respectivamente. (XU et al., 2002; WANG et al., 2008) O filme de PHB apresentou o maior índice de cristalinidade (Tabela 4) e o menor percentual de área do pico amorfo (Tabela 3). No entanto, no caso do PHB em pó ou nanofibras, os índices

encontrados não correspondem com as áreas da Tabela 3. Possivelmente isto se deve a dificuldade de deconvolução dos picos fortemente sobrepostos na região da carbonila.

Para confirmar a influência do tipo de processamento sobre a cristalinidade do PHB, o filme termoprocessado foi comparado com as nanofibras utilizando difração de raios X (DRX), ambos difratogramas são mostrados na Figura 33.



**Figura 33:** Difratogramas (DRX) do PHB: (a) filme termoprocessado por compressão; (b) manta de nanofibras. Os planos de difração associados à forma cristalina  $\alpha$  foram indicados. O pico em cerca de  $2\Theta = 20^\circ$  indica a presença da forma cristalina  $\beta$ .

Fonte: Próprio autor.

Os perfis relacionados ao filme e as nanofibras apresentaram diferenças acentuadas. Tal como mostrado anteriormente por meio do FTIR, os difratogramas apresentados na Figura 33 sugerem que o filme é mais cristalino que as nanofibras. No perfil do filme (Figura 33 (a)), dois picos de difração com intensidade acentuada foram detectados em cerca de  $2\Theta = 13^\circ$  e  $17^\circ$ , correspondentes aos planos (020) e (110) respectivamente da célula unitária ortorrômbica. (ZHIJIANG et al., 2011; SUN et al., 2013) Reflexões mais fracas localizadas em torno de  $21,5^\circ$  e  $22,5^\circ$  correspondentes aos planos (101) e (111) dos cristais  $\alpha$  do PHB também foram detectadas. (SUN et al., 2013) Outras reflexões que foram detectadas em cerca de  $26^\circ$  e  $27^\circ$  são relatadas na literatura como difrações dos planos (130) e (040) respectivamente. (WANG et al., 2008) Em torno de  $2\Theta = 20^\circ$  pode-se perceber um pico de difração atribuído a forma  $\beta$  dos cristais. (WANG et al., 2008)

Em termos da estrutura dos cristais do PHB, a forma mais comum da molécula do PHB é a forma  $\alpha$ , que é produzida sob condições típicas de cristalização por fusão e resfriamento ou solução. (LAYCOCK et al., 2014) De acordo com Laycock et al. (2014) a forma  $\beta$  do cristal de PHB, a qual pode ser obtida em filmes estirados uniaxialmente, é metaestável e pode ser reversível para a forma  $\alpha$  quando o PHB é recozido a 130 °C, com consequente aumento da cristalinidade. Tendo isso em conta, podemos assumir que algum grau de estiramento ocorreu durante o processamento do filme, causando um aumento na cristalinidade. No entanto, este resultado não é usualmente encontrado na literatura. Pinto et al. (2009), por exemplo, observaram uma diminuição da cristalinidade devido a aplicação de pressão durante a termomoldagem do PHB.

No caso das nanofibras (Figura 33 (b)), ao contrário do que foi relatado por Wang et al. (2008), a reflexão correspondente à forma  $\beta$  dos cristais não pôde ser percebida. Os perfis de DRX apresentados por estes autores revelaram que as fibras de PHB eletrofiadas possuíam uma pequena quantidade de cristais da forma  $\beta$  com conformação zigzag. De acordo com os autores, no processo de eletrofiação, as cadeias entrelaçadas entre as lamelas cristalinas são alongadas durante o chicoteamento do jato eletrofiado, o que conduz ao desenvolvimento da forma  $\beta$ . Do mesmo modo que nas experiências de FTIR, podemos supor que a velocidade de rotação do coletor não foi suficiente para estirar as fibras, impedindo assim o desenvolvimento da forma  $\beta$ .

A partir dos difratogramas de DRX, o tamanho do cristalito do PHB ( $D_{(020)}$ ) na direção perpendicular ao plano cristalográfico (020) foi estimado usando a equação de Scherrer (Eq. 1). (CANETTI et al., 1999)

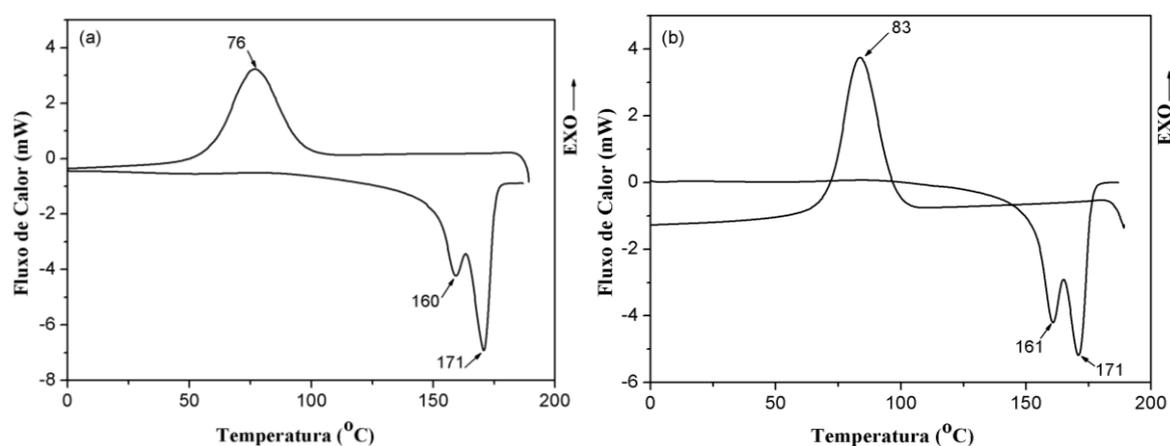
$$D = \frac{k \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

Onde  $k$  é a constante de proporcionalidade,  $\lambda$  é o comprimento de onda dos raios X (nm) e  $\beta$  é a largura do pico de difração medido à meia altura de sua intensidade máxima (na unidade de radiano), e  $\theta$  é a posição do pico de DRX. A constante de proporcionalidade  $k$  é uma função da

forma geométrica do cristal. No caso de não se conhecer a geometria dos cristalitos, presume-se uma geometria esférica com um valor para  $k$  de 0,9.

Com esta abordagem, os tamanhos médios estimados dos cristalitos encontrados foram 266 Å e 190 Å para o filme e para as nanofibras de PHB respectivamente, e são consistentes com os padrões de DRX apresentados. Canetti et al. (1999) encontraram tamanhos maiores de cristais (020) maiores, entre 345Å e 790Å (definindo o valor de  $k$  igual a unidade) para os filmes de PHB preparados pela técnica de solução (*casting*). Quanto menor o tamanho dos cristalitos mais amplos seriam os picos de difração. Às vezes é difícil reconhecê-los como picos de difração. Tendo isto em conta, os tamanhos dos cristais na forma  $\alpha$  encontrados pela equação de Scherrer são compatíveis com os difratogramas apresentados na Figura 33.

As transições térmicas do filme termoprocessado de PHB e das nanofibras foram determinadas por calorimetria exploratória diferencial (DSC). O resfriamento e o segundo aquecimento são mostrados na Figura 34.



**Figura 34:** Curvas de resfriamento e segundo aquecimento obtidas por DSC: (a) Filme de PHB termoprocessado; (b) Manta de nanofibras eletrofiadas de PHB.

Fonte: Próprio autor.

Como pode ser visto na Figura 34, as curvas parecem semelhantes e o evento mais notável é o pico de fusão duplo apresentado na curva de aquecimento para as duas formas de processamento do PHB. Fabri et al. (1998) relatam que a maioria dos perfis de fusão bimodais são devido aos fenômenos concomitantes de fusão e recristalização seguidas pela fusão final a temperaturas elevadas. De acordo com eles, este processo é consequência da distribuição do tamanho dos

cristais, e a temperatura de fusão é diretamente proporcional ao tamanho destes cristais. Erceg et al. (2005) relatam o aparecimento de um pequeno ombro antes do pico máximo para os filmes de PHB sem plastificantes moldados por compressão, quando recozidos a 190 °C ou em temperaturas mais elevadas. Eles atribuem este comportamento à distribuição bimodal de tamanho de cristalito resultante de alterações na massa molar devido a cisão aleatória de cadeias longas de PHB, isto é, à diminuição da massa molar.

Para polímeros que fundem e recristalizam durante o aquecimento, como o PHB, a temperatura de fusão dos cristais originais pode ser obtida operando a temperaturas elevadas de cristalização e a altas taxas de aquecimento. (RIGHETTI & DI LORENZO, 2011)

Outra interpretação do pico de fusão múltiplo foi dada por Bezerra et al. (2014). De acordo com os autores os dois picos de fusão do PA6 podem ser atribuídos às duas formas distintas de cristais conhecidos na literatura como  $\alpha$  e  $\gamma$ . Em vista disto, pode-se extrapolar para o PHB atribuindo os dois picos da temperatura de fusão para as formas cristalinas  $\alpha$  e  $\beta$ .

A cristalinidade ( $\chi$ ) foi avaliada pela razão entre as áreas do pico de fusão ( $\Delta H_m$ ) e a entalpia de fusão do PHB 100% cristalino ( $\Delta H_{100\%}$ ) como mostrado na Eq. 2. (LAYCOCK et al., 2014)

$$\chi(\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_{100\%}} \times 100 \quad (2)$$

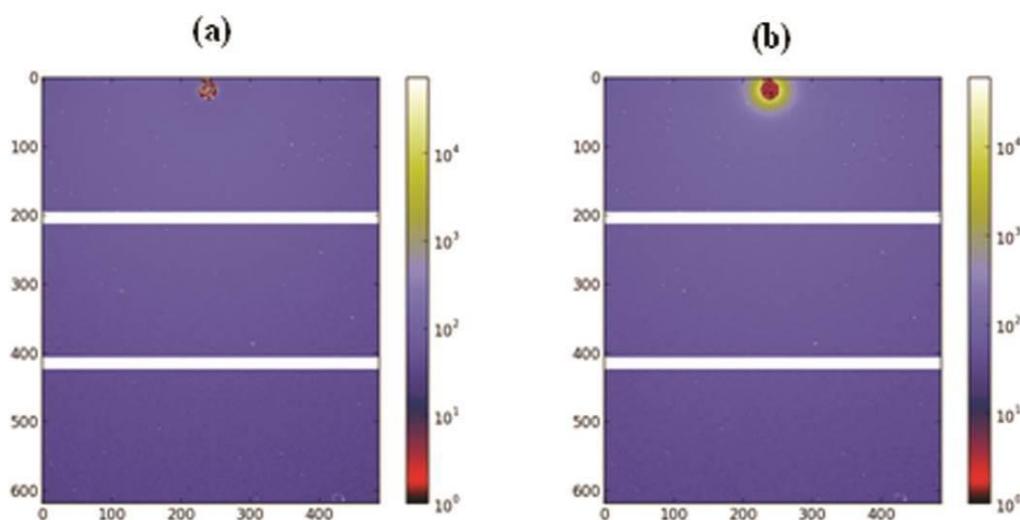
Uma estimativa do calor de fusão para o PHB 100% cristalino é de 146 J g<sup>-1</sup>, que é o valor usualmente utilizado neste cálculo. (LAYCOCK et al., 2014)

A partir desta abordagem (usando-se o segundo aquecimento do DSC), os valores encontrados para cristalinidade do filme termoprocessado e das nanofibras de PHB foram de 53% e 55%, respectivamente. Estes resultados sugerem que o tipo de tratamento não afetou a cristalinidade do PHB, ao contrário do indicado pelo uso das análises FTIR (Tabelas 3 e 4). No entanto, este resultado não ficou de acordo com dados encontrados na literatura. Quando o pó do PHB (como recebido) foi comparado com as mantas de fibras de PHB, os valores de temperatura de fusão e entalpia para as nanofibras são ligeiramente maiores do que os correspondentes ao pó.

(RAMIER et al., 2014) Este resultado foi atribuído a orientação das cadeias macromoleculares na direção longitudinal da fibra durante o processamento de eletrofição, o que pode ter promovido cristalização.

Em relação aos resultados encontrado no estudo de DSC, uma possível explicação para a aparente discrepância com os resultados anteriores foi dada por Xu et al. (2002). De acordo com os autores, a cristalinidade calculada a partir da curva endotérmica pode não ser o original devido à cristalização adicional, a qual ocorre frequentemente em polihidroxiácidoalcanoatos causados pela taxa de cristalização relativamente lenta.

O espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) é uma técnica bem estabelecida para investigar a morfologia dos polímeros e fornece informações descrevendo características estruturais da ordem de 10-1000 Å. A Figura 35 ilustra as imagens 2D de espalhamento de SAXS do filme de PHB (a) e da manta de nanofibras (b).



**Figura 35:** SAXS 2D: (a) Filme de PHB termoprocessado; (b) Manta de nanofibras de PHB eletrofiado.

Fonte: Próprio autor.

Os padrões de anel isotrópico são observados na Figura 35 (b), devido à presença da manta não tecida de nanofibras. (JAO et al., 2014) O mesmo padrão de anel já foi observado em ensaios

de espalhamento de luz em mantas, e foi atribuído à regularidade morfológica da amostra. (UMAÑA et al., 1999)

Em amostras que possuem uma morfologia regular e ordenada, um pico de correlação é observado na intensidade do SAXS em um valor característico de  $q$  (denominado  $q_{max}$ ), que está relacionado com a separação dos domínios ou heterogeneidade no material. (CHANG et al., 1998) Na análise mais simples, o espalhamento podem ser tratados de acordo com a lei de Bragg, e portanto:

$$q_{max} = \frac{2\pi}{d} \quad (3)$$

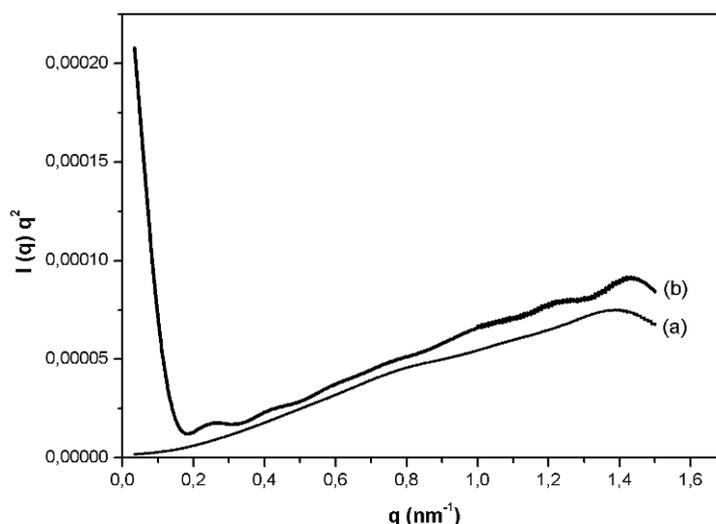
Onde  $d$  é o espaçamento médio inter-domínios e  $q$  é o vetor de espalhamento definido por:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta \quad (4)$$

Onde  $\lambda$  é o comprimento de onda dos raios X e  $\theta$  é o ângulo do espalhamento.

No caso de um polímero semicristalino possuindo uma morfologia lamelar (tal como o PHB e o PHBV), a qual está isotropicamente distribuída por todo material, a correção de Lorentz é aplicada à intensidade de SAXS antes da determinação da posição do pico. (WANG et al., 2008)

A correção de Lorentz envolve a função intensidade multiplicada pelo fator  $q^2$  e tem o efeito de deslocar a posição de um pico de correlação amplo para valores mais elevados de  $q$ . Os perfis de SAXS corrigidos por Lorentz, construídos plotando  $I(q) q^2$  versus  $q$ , para filmes de PHB e nanofibras de PHB são apresentados na Figura 36.

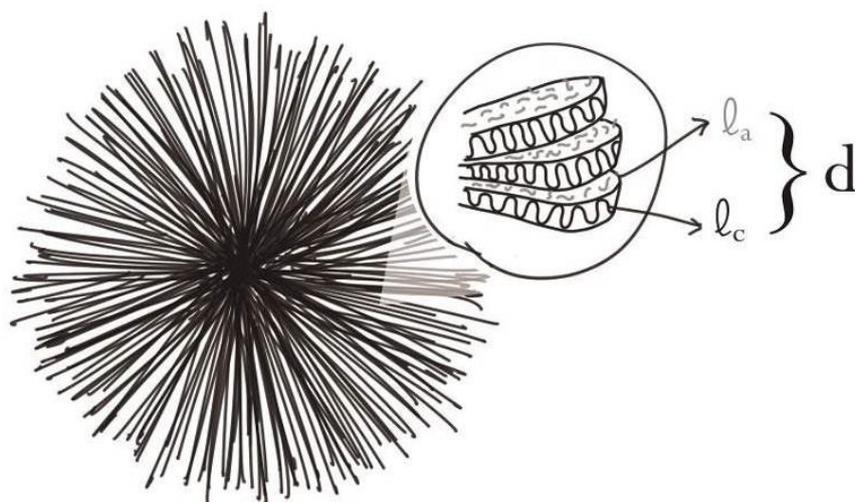


**Figura 36:** Perfis de SAXS com correção de Lorentz: (a) filmes de PHB termoprocessados; (b) mantas de nanofibras de PHB eletrofiado.

Fonte: Próprio autor.

À primeira vista, a maior intensidade do vetor espalhamento apresentado na Figura 36 - curva (b) sugere que as nanofibras de PHB têm maior espessura das lamelas cristalinas e o filme de PHB termoprocessado possui maior fração amorfa.

De acordo com Rule & Rigat (1995), um modelo ideal lamelar simples é usado para descrever certos polímeros semicristalinos. O espaçamento  $d$  representa a distância entre as lamelas cristalinas adjacentes que são separadas por domínios (Figura 37).



**Figura 37:** Modelo lamelar ideal mostrando o espaço  $d$  entre as lamelas cristalinas adjacentes.

Fonte: Próprio autor.

O espaçamento  $d$  é, portanto, equivalente a soma das espessuras das camadas cristalina e amorfa ( $l_c$  e  $l_a$ , respectivamente):

$$d = l_c + l_a \quad (5)$$

O conhecimento prévio do grau de cristalinidade da amostra ( $\chi$ ) permite que ambos os parâmetros da Eq.5 possam ser estimados, assumindo que as lamelas podem ser preenchidas. (RULE & RIGGAT, 1995)

$$l_c = \chi d \quad (6)$$

$$l_a = (1 - \chi) d \quad (7)$$

O espaçamento  $d$  pode ser estimado a partir da Eq 3, onde  $q_{\max}$  corresponde ao máximo das curvas  $I(q) q^2$  versus  $q$ .

Os picos de espalhamento foram detectados com dificuldade tanto para o filme de PHB (Figura 36 – curva (a)) como para as mantas de nanofibras de PHB (Figura 36 – curva (b)) denotando um baixo contraste de densidade eletrônica entre a fase cristalina e a fase amorfa. Esta dificuldade já havia sido observada anteriormente para fibras de polipropileno obtidas por eletrofiação. Um pico de espalhamento foi evidenciado para fibras alinhadas, enquanto que para fibras depositadas aleatoriamente foram observados um pequeno ombro ou nenhum pico. (JAO et al., 2014)

No presente estudo, foram identificados valores aproximados de  $q_{\max}$  de 0,26 e 1,43 nm para nanofibras de PHB, e 1,39 nm para filmes de PHB. Os valores estimados de  $l_c$  e  $l_a$  através da aplicação das equações acima, e usando valores de grau de cristalinidade ( $\chi$ ) encontrados pela análise DSC são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5:** Parâmetros morfológicos da estrutura lamelar do filme de PHB termoprocessado e das mantas de nanofibras de PHB eletrofiadas.

Amostra	$l_c$ (Å)	$l_a$ (Å)	$d$ (Å)
Filme	24	21	45
Nanofibras	133	108	241
	24	20	44

Valores de  $\chi$  obtidos a partir de DSC são 0,53 e 0,55 para filme e nanofibras respectivamente. Fonte: Próprio autor.

Devido à dificuldade de identificar  $q_{max}$  na Figura 36, os valores apresentados na Tabela 5 servem como valores relativos, a fim de comparar as duas morfologias de PHB, filme e nanofibras.

Valores estabelecidos de  $l_c$  e  $l_a$  encontrados na literatura para filmes de PHB foram de 12-47 Å e 8-14 Å, respectivamente; (CANETTI et al., 1999) 5,79-8,87 nm e 2,76-3,75 nm, respectivamente; (HEO et al., 2007) 28,5 Å e 26,9 Å, respectivamente. (KURUSU et al., 2015) Como pode ser notado, a espessura das lamelas cristalinas foi sempre maior do que a das camadas amorfas, como encontrado no presente estudo.

A caracterização estrutural com base nas análises WAXS e SAXS realizadas por Wang et al. (2014), revelaram que fibras eletrofiadas de tereftalato de polietileno (PET) apresentavam duas fases, chamadas, amorfa e fase não cristalina orientada (ON), com traços de fase cristalina. Segundo os autores, essa fase não cristalina orientada (ON) é como se estivesse fora das pilhas de lamelas, dando uma contribuição insignificante para o perfil de espalhamento. Como relatado por eles, o aquecimento extra a temperaturas superiores conduziu à transformação gradual da fase (ON) para fase cristalina. Vale a pena mencionar que o envelhecimento produz o mesmo efeito no PHB, ou seja, a perfeição cristalina ao longo do tempo. (KURUSU et al., 2015)

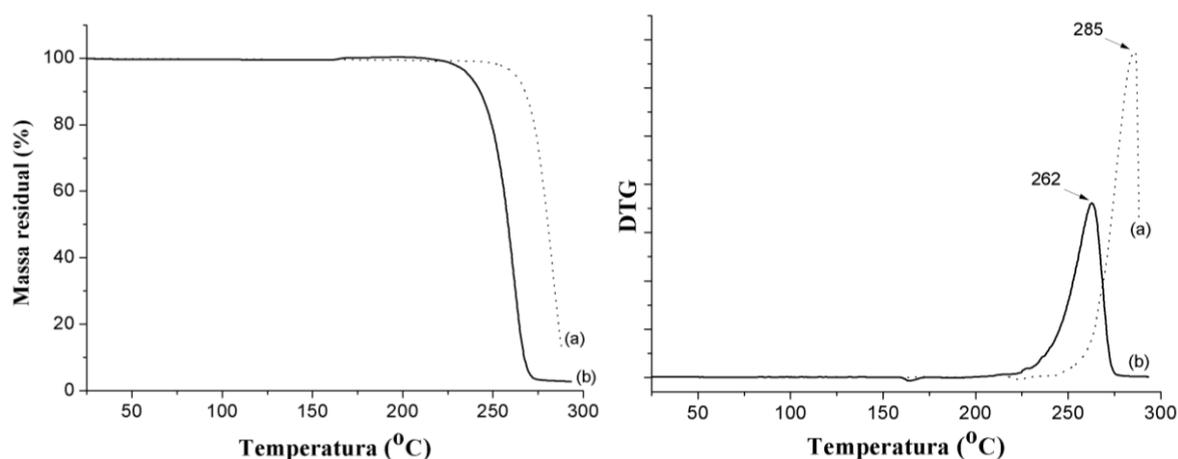
Neste estudo, as fibras não sofreram tratamento térmico, nem se deixou passar muito tempo até a caracterização das amostras, então provavelmente ainda existe uma fração considerável de fase ON nas mantas de nanofibras de PHB, que produz o padrão de anel observado na Figura 35. Em relação aos filmes de PHB, a formação de cristais secundários, como apontado pela análise de DRX, tem uma pequena contribuição para  $l_c$ . (HEO et al., 2007)

Em blendas poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) / PHB produzidas por vazamento (*casting*) o PVDF puro mostrou um pico de espalhamento mais forte do que o PHB puro. Isto foi atribuído ao contraste mais alto da densidade eletrônica entre as camadas alternadas cristalina amorfa do PVDF ( $\Delta\eta=0,103 \text{ mol cm}^{-3}$ ) se comparado ao PHB ( $\Delta\eta=0,050 \text{ mol cm}^{-3}$ ). (CHIU et al., 2001) Os autores mencionam que durante o período o PHB atuou como diluente amorfo temporário em relação ao PVDF, com segregação lamelar adicional deste diluente amorfo temporário. (CHIU et al., 2001)

Corroborando com a fase amorfa temporária mencionada acima, os dois picos de fusão observados nos experimentos de DSC (Figura 34) foram explicadas pela presença de uma interface lamelar amorfo-cristalina no PHB processado. (KURUSU et al., 2015) De acordo com a teoria proposta, esta interface, ainda que não está impedida pelo processo de perfeição cristalina que caracteriza o envelhecimento, é suscetível a sofrer rearranjo. Este rearranjo é refletido por um deslocamento do pico de fusão para temperaturas mais elevadas que indicam o espessamento das lamelas cristalinas. (KURUSU et al., 2015)

Neste contexto, poderíamos sugerir que não há contraste suficiente para que ocorra o espalhamento no experimento SAXS em nenhuma das amostras, e os valores apresentados da Tabela 4 não são confiáveis como valores absolutos.

A estabilidade térmica do PHB nas diferentes formas de processamento foi investigada por TGA (Figura 38).

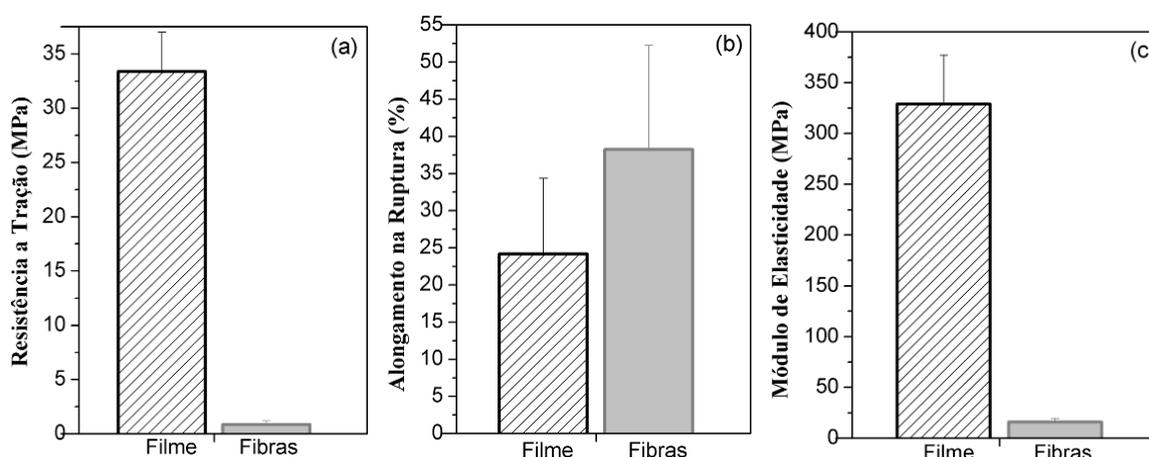


**Figura 38:** Curvas TG e DTG: (a) Filme de PHB termoprocessado; (b) Manta de nanofibras de PHB eletrofiado.

Fonte: Próprio autor.

A degradação térmica do PHB puro ocorre basicamente em uma etapa caracterizada por um pico único na curva DTG. (ERCEG et al., 2005) Exatamente como encontrado no presente estudo. Como pode ser observado na Figura 38, perda de massa máxima para o filme de PHB ocorre a 285 °C, enquanto o material eletrofiado exibe menor estabilidade térmica com perda máxima em 262 °C. Os valores encontrados são compatíveis com aqueles encontrados por Ramier et al. (2014), e podem ser atribuídos a maior área superficial específica da estrutura nanofibrosa a qual foi mais afetada pelo aquecimento. De acordo com esses autores, como o calor se espalha por condução no interior do material, as nanofibras por terem maior área superficial se degradam mais rapidamente. Assim, a área superficial parece ser o fator predominante na estabilidade térmica. Além disso, os resultados apresentados pela TGA indicam que de fato o filme de PHB apresenta maior cristalinidade que as nanofibras, pois um dos efeitos do aumento do grau de cristalinidade é o aumento da estabilidade. Em outras palavras, em termos da análise da cristalinidade das duas formas de PHB, os resultados da TGA ficaram de acordo com os resultados de FTIR e DRX.

A comparação das propriedades mecânicas de tração (filme de PHB termoprocessado *versus* mantas de nanofibras eletrofiadas de PHB) é mostrada na Figura 39.



**Figura 39:** Propriedades de tração do filme de PHB termoprocessado e das mantas de nanofibras eletrofiadas: (a) resistência à tração; (b) alongamento na ruptura; (c) módulo de elasticidade.

Fonte: Próprio autor.

Os valores relativos ao filme de PHB termoprocessado não estão de acordo com os encontrados na literatura, em especial o valor do módulo de elasticidade (Figura 39 (c)). Filmes de PHB termoprocessados são conhecidos por terem um comportamento frágil, com um alongamento na ruptura abaixo dos 5% e um módulo de elasticidade de cerca de 1,5 GPa. (FERNANDES et al., 2014) Estes valores são atribuídos à cristalinidade relativamente alta do PHB homopolímero, e em particular à cristalização secundária significativa que ocorre pós processamento pelo envelhecimento, (LAYCOCK et al., 2014) ou pela ação da temperatura. (ZHIJIANG et al., 2011) De acordo com Kurusu et al. (2015), antes das análises é importante saber quanto tempo se passou do processamento até a análise das amostras. Os autores controlaram o tempo pós-processamento e concluíram que, após 14 dias o módulo de elasticidade deslocava de 0,6 para 1,5 GPa. Além disso, as propriedades mecânicas do PHB são conhecidas por serem dependentes da composição e das condições de processamento do polímero, e, em particular, sobre se os polímeros foram produzidos por vazamento de solução (presença de solvente) ou fusão e vazamento. (LAYCOCK et al., 2014) Dominguez-Diaz et al. (2015) relataram um módulo de elasticidade na faixa de 850 MPa para filmes de PHB preparados dissolvendo o PHB em clorofórmio e com a mesma massa molar utilizada na presente pesquisa.

Outro exemplo de como as condições de processamento influenciam nas propriedades mecânicas foi dada por Kurusu et al. (2015). De acordo com estes autores, em contraponto ao que já foi referido, o recozimento teve um efeito negligenciável ou negativo sobre as propriedades mecânicas das composições testadas, incluindo o PHB puro processado por extrusão e moldagem por injeção.

Na presente pesquisa, os valores de resistência à tração e do módulo de elasticidade das mantas de nanofibras de PHB são consideravelmente baixos em comparação aos filmes de PHB termoprensado, estando de acordo com a literatura. Fernandes et al. (2014) observaram que as mantas de nanofibras de PHB eram frágeis e facilmente se partiam durante o procedimento para prender a amostra nas garras para o ensaio. Como explicado pelos autores, como as mantas são compostas por muitos vazios, é compreensível que sejam menos resistentes, obviamente considerando a espessura das mantas eletrofiadas. Além disso, as mantas de nanofibras de PHB do presente estudo foram preparadas a partir do PHB dissolvido em clorofórmio e DMF, produzindo um material com propriedades mecânicas mais baixas.

O grau de cristalinidade por si só é eficaz na determinação a rigidez e o ponto de escoamento para a maioria dos polímeros cristalinos, e estas propriedades são independentes da massa molar. (BILLMEYER, 1971) Como resultado, eles podem ser expressos como funções dependentes do grau de cristalinidade. À medida que a cristalinidade diminui, a rigidez e a tensão de escoamento diminuem. (BILLMEYER, 1971) Assim, de acordo com os gráficos de barra mostrados na Figura 39, uma sugestão possível é que, nas condições dos experimentos, o filme de PHB se comporta como mais cristalino do que as mantas de nanofibras de PHB. Esta sugestão é consistente com os resultados de FTIR e DRX, mas vai de encontro as conclusões do DSC. A este respeito, pode-se propor que as mantas de nanofibras de PHB de fato têm baixo grau de cristalinidade, com um estado amorfo metaestável. (BILLMEYER, 1971) O aumento de temperatura durante o ensaio de DSC pode ter provocado a transformação gradual da fase amorfa metaestável em fase cristalina, e um alto valor de cristalinidade foi alcançado ( $\chi = 55\%$ ).

Vale lembrar que os valores de  $l_c$  e  $l_a$  (Tabela 5) encontrados por SAXS foram baseados nos graus de cristalinidade ( $\chi$ ) obtidos por DSC, e que estavam próximos para o filme e para manta de nanofibras de PHB. Assim, se poderia supor que os maiores valores de 133 Å e 108 Å para  $l_c$  e  $l_a$ , respectivamente, encontrados para as nanofibras (Tabela 5) estão relacionados com a mudança de fase ocorrida durante o experimento DSC.

As propriedades hidrofílicas / hidrofóbicas são de suma importância em aplicações específicas. Portanto, as amostras foram também examinadas quanto a seu ângulo de contato (Figura 40).



**Figura 40:** Formato da gota de água no lado do ar: (a) Filme de PHB ( $\theta=77^\circ$ ); (b) Nanofibras de PHB ( $\theta=130^\circ$ ).

Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado na Figura 40, as mantas de nanofibras apresentam propriedades hidrofóbicas. Fryczkowski et al. (2009) encontraram ângulo de contato um pouco abaixo de 90

graus para nanofibras de PHB preparadas a partir de soluções em 2,2,2-trifluoroetano (TFE) ou clorofórmio. Por outro lado, Yang et al. (2012) relatam o ângulo de contato do poli(3-hidroxiobutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV) de 88° e 130° para filmes produzidos por vazamento (*casting*) e mantas eletrofiadas respectivamente, ambos obtidos a partir de solução 4% (m/m) em clorofórmio. De acordo com os autores, a manta eletrofiada de PHBV apresentou ângulo de contato superior devido à sua superfície apresentar maior rugosidade do que o filme. Ramier et al. (2014) relatam um ângulo de contato para mantas eletrofiadas de PHB na superfície em contato com o ar e na superfície em contato com o coletor de  $120\pm 4^\circ$  e  $103\pm 3^\circ$ , respectivamente. De acordo com estes autores, o decréscimo no ângulo de contato da superfície das fibras que toca o coletor pode estar relacionado com uma diminuição na área superficial específica da primeira camada de nanofibras que pode ter sido achatada em contato com o coletor de alumínio. Um ângulo de contato médio igual a  $80\pm 2^\circ$  para os filmes de PHB foi relatado pelos autores. Em geral, os valores de ângulo de contato que foram encontrados no presente estudo estão em conformidade com a literatura, e podem ser atribuídos a maior (nanofibras) e menor (filme) área superficial específica.

De um modo geral podemos concluir que o grau de cristalinidade e, portanto, as propriedades do PHB, são suscetíveis às condições de processamento e de análise.

### **5.3 Estudos do comportamento de liberação da ureia nos compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia.**

#### *5.3.1 Preparação dos filmes de gelatina e quitosana*

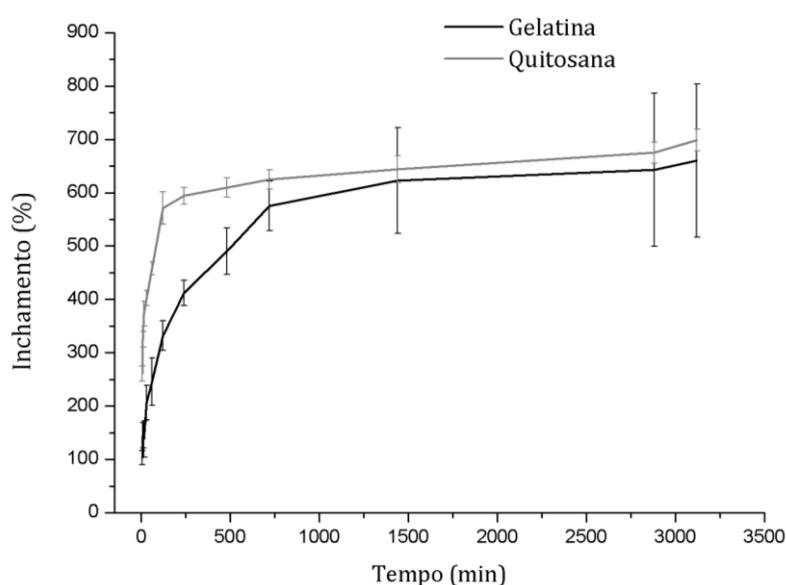
Os filmes de quitosana foram preparados com 1% (m/m) de quitosana em solução de 1% (v/v) de ácido acético e água deionizada. A solução foi aquecida a 50 °C e mantida por 1 hora sob agitação mecânica. Os filmes de gelatina foram preparados com 25% (m/m) de gelatina em solução aquosa a 60 °C e mantida por 1 hora sob agitação magnética até a homogeneização da solução. Os filmes foram formados, vazando a solução em placas de Petri, e submetendo-os a 2h no dessecador sob vapor de glutaraldeído (25%) a temperatura ambiente. Posteriormente foram retirados e deixados para secar em temperatura ambiente por 48 horas.

O glutaraldeído é um agente reticulante usado na formação de redes de polipeptídios (proteínas) devido à reatividade dos grupos aldeídos, que prontamente formam bases de Schiff com os

grupos amino das proteínas. (COSTA Jr. & MANSUR, 2008) É utilizado ainda como agente reticulante do PVA e alguns polissacarídeos, tais como a heparina, o ácido hialurônico e a quitosana. (LIN et al., 2006; ROKHADE et al., 2007) A reticulação da quitosana e da gelatina com glutaraldeído torna esses polímeros mais resistentes do ponto de vista físico, químico e microbiológico (COSTA Jr. & MANSUR, 2008). Segundo Nguyen & Lee (2010), Sisson et al. (2009), e Bigi & Cojazzi (2001), a presença em baixas quantidades de glutaraldeído se mostraram atóxicas e aumentam a resistência mecânica quando comparado com filmes não reticulados.

O procedimento de reticulação foi adotado durante todo o estudo para os filmes produzidos. Com os filmes secos, foram preparadas três amostras de cada filme para os tempos de 05, 10, 15, 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 52 horas. As amostras foram submetidas ao ensaio de inchamento em 50 mL de água deionizada para cada tempo. O objetivo foi criar uma curva de inchamento dos materiais (Figura 41), e compreender o comportamento no processo de absorção, já que um método similar foi aplicado posteriormente para o carregamento do fertilizante modelo (ureia). Para a criação da curva (Figura 41) foi utilizada a Eq.8, onde  $W_0$  e  $W$  são as massas das amostras antes e após a imersão respectivamente, por um dado período de tempo.

$$\text{Inchamento (\%)} = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100 \quad (8)$$



**Figura 41:** Gráfico de inchamento em água (%) versus tempo (min) para gelatina e quitosana. Fonte: Próprio autor.

Com base nos perfis apresentados nas curvas da Figura 41, pode-se observar que na primeira hora temos uma alta taxa de absorção de água e posteriormente uma saturação dos filmes. Para a gelatina na primeira hora temos 250% de inchamento e para quitosana 460%, representando algo em torno de 40% e 65% do total do inchamento, respectivamente. Podemos considerar que estes são valores expressivos, tendo em vista a duração do teste. A presença do glutaraldeído garante a estes materiais que em soluções aquosas (pH neutro) se comportem como hidrogéis, com altos índices de absorção do meio, mantendo sua estrutura intacta.

### 5.3.2 Carregamento de ureia nos filmes de gelatina e quitosana

Após o estudo do comportamento do inchamento para os filmes de gelatina e quitosana, foi realizado um teste rápido para analisar o comportamento dos filmes de gelatina e quitosana ao inchamento em soluções aquosas com 0,05%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, e 20% (m/v) de ureia. Os filmes foram inseridos em 50 mL das soluções e observados durante 24 horas. As concentrações até 1% não causaram alteração na morfologia dos filmes de gelatina e quitosana. Nas concentrações de 5% o filme de gelatina já apresentava desintegração e solubilização, no entanto o filme de quitosana se mantinha inalterado. Nas soluções com concentração de 10, 15 e 20% de ureia (m/v), a quitosana e a gelatina apresentaram solubilização, não resistindo ao processo de inchamento, mas as alterações eram mais visíveis na gelatina.

A ureia é um agente desnaturante de proteínas bem conhecida e causa o desdobramento da molécula de proteína. Isto provoca o aumento da solubilidade de certos aminoácidos e o amolecimento (*in vivo*) ou dissolução (*in vitro*) do colágeno em tecidos. Geralmente o efeito da ureia em proteínas, álcool polivinílico, e outras estruturas semelhantes, é atribuído à quebra de ligações de hidrogênio. (SZCZESNIAK; MacALLISTER, 1964)

Szczesniak & MacAllister (1964) realizaram um estudo sobre o efeito da ureia na formação do gel de gelatina. Segundo os autores, a porcentagem de ligações cruzadas inibidas aumenta com o aumento na concentração de ureia. Cálculos aproximados indicam que 1M de ureia inibe a formação de 30-45% das ligações cruzadas da gelatina, 2M inibe de 55-60%, 3M inibe de 70-100% e 4M inibe de 90-100% das ligações cruzadas.

Na quitosana os efeitos são similares aos encontrados na gelatina. Segundo Cho et al. (2006), a adição de ureia à quitosana causa a diminuição da elasticidade, redução no tempo de relaxação, isto é, simplifica o processo de relaxação por causar o rompimento das ligações de hidrogênio.

Para efeito de comparação apresentamos na Tabela 6 as concentrações em molaridade correspondentes às concentrações em porcentagem que foram utilizadas no teste inicial.

**Tabela 6:** Tabela de correspondência entre as concentrações em porcentagem (%) e molaridade (M) da solução de ureia.

Concentração (%)	Molar
0,05%	0,00825
0,1%	0,0165
1%	0,1650
5%	0,825
10%	1,65
20%	3,30

Fonte: Próprio autor.

Conforme foi mencionado, as concentrações que causaram maiores modificações na estrutura da gelatina e da quitosana foram as concentrações de 5%, 10% e 20%, correspondendo, portanto, a 0,825 M, 1,65 M e 3,3 M, respectivamente. Buscando minimizar os efeitos nocivos da ureia nas amostras, e com base nos testes de inchamento, foram selecionadas as concentrações de 1% e 10% de solução aquosa ureia para o carregamento dos filmes de gelatina e quitosana respectivamente. O tempo de imersão foi de 1 hora para ambos os filmes. Segundo Xue & Wilson (2016) o carregamento da ureia na quitosana reticulada, ocorre em grande parte nos primeiros 20 minutos e ao final de 60 minutos tem-se a completa saturação.

### 5.3.3 Preparação dos compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana

Os compósitos são frequentemente utilizados no desenvolvimento de dispositivos de liberação de fármacos buscando inibir o efeito “burst” (de tiro), no qual há uma grande quantidade de fármaco liberada na fase inicial do processo. Particularmente no caso do PHB, este fenômeno ocorre principalmente devido ao elevado grau de cristalinidade do polímero, o que resulta em fibras altamente porosas. (RINAUDO, 2006; TANUMA et al., 2010) Assim, a combinação de PHB com a quitosana ou gelatina foi classificada como um sistema eficaz para a liberação prolongada. (LINS et. al., 2016)

Com essa estratégia é que se pretendeu desenvolver um compósito com uma estrutura suficientemente rígida para suportar o plantio e o crescimento inicial da muda, e liberar o fertilizante aprisionado nos hidrogéis de quitosana ou gelatina através de difusão. Posteriormente deverá ocorrer a biodegradação do compósito que também deve servir como fertilizante (estudos futuros).

Diversos são os estudos que incorporaram as nanofibras em hidrogéis para a melhoria das propriedades mecânicas. (KAI et al., 2012; VISSER et al., 2015; LIU et al., 2014) Como a incorporação destes hidrogéis é feita via solução, é possível que ocorra o desmembramento das fibras, e as mesmas se espalhem de maneira homogênea pela solução. (SAKAI et al., 2008). Outro método utilizado é a incorporação de nanofibras camada a camada, intercalando com filmes de hidrogel. (SAKAI et al., 2008) Em estudo realizado por Rani et al. (2016), os autores utilizaram nanofibras de celulose como agente de reforço para o filme de amido termoplástico.

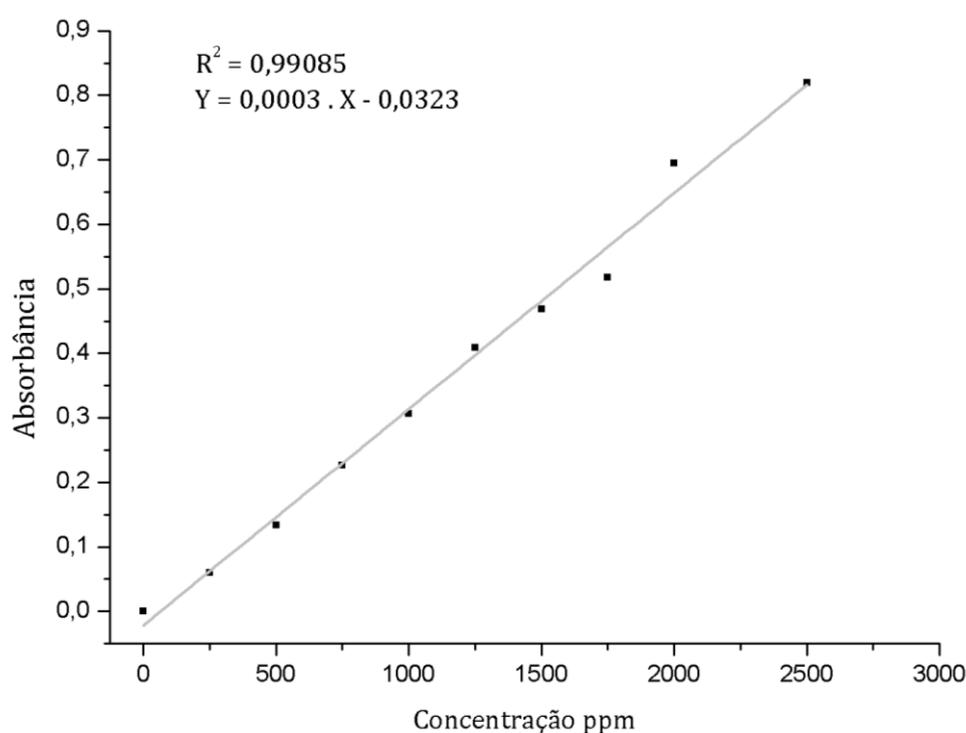
As amostras foram preparadas separando 10 mL de solução polimérica, sendo adicionados 5 mL a placa de Petri. Posteriormente a manta de nanofibras de PHB foi colocada sobre a solução e foram adicionados outros 5 mL de solução polimérica sobre a manta. O objetivo foi de garantir que toda a manta ficasse em contato com a solução, que a mesma ficasse posicionada no centro da estrutura, e que a solução preenchesse os espaços vazios entre as nanofibras de PHB. Os materiais foram mantidos por 2 horas em dessecador sob vapor de glutaraldeído (25%), e posteriormente secos a temperatura ambiente por 48 horas.

#### *5.3.4 Carregamento da ureia para obtenção de compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia e liberação da ureia*

Finalizada a preparação dos compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana, as amostras foram levadas para o processo de carregamento da ureia. O processo consistiu em fazer a imersão dos compósitos na solução aquosa de ureia nas concentrações de 1% (m/v) para a gelatina e 10% (m/v) para quitosana, durante 1 hora, e em seguida à secagem a temperatura ambiente por 24 h. Com as amostras secas, as mesmas foram lavadas com 25 mL de água deionizada por 30 segundos, e a água da lavagem analisada a fim de determinar o percentual de ureia presente na superfície das amostras que não foi fixado, assim determinando os valores reais de aprisionamento da ureia.

A determinação da concentração das soluções de ureia, do processo de carregamento e liberação, foi feita por ensaio de espectrofotometria no espectro ultravioleta-visível (UV-Vis).

A metodologia consistiu na preparação do reagente de Ehrlich (5g de dimetilaminobenzaldeído + 20 mL de ácido clorídrico concentrado, até completar 100 mL) e uma solução 10% de ácido tricloroacético. Para realizar as análises no espectrofotômetro de UV-Vis misturou-se 1 mL da amostra a ser analisada com 4 mL da solução ácida e 1 mL do reagente de Ehrlich (na sequência descrita). A partir disso, foi possível obter a curva de concentração de nitrogênio presente na ureia em solução *versus* absorvância na região  $\lambda = 420$  nm (Figura 42). Através da curva de calibração (curva padrão para ureia) pode-se chegar aos valores de carregamento e liberação da ureia em função do tempo. A curva de calibração apresentou valor de coeficiente linear ( $R^2$ ) igual a 0,99085 e equação da reta  $Y=0,0003X-0,0323$ .



**Figura 42:** Curva de calibração da ureia para absorvância versus concentração (parte por milhão).

Fonte: Próprio autor.

Aplicando a análise espectrofotométrica UV-Vis para obtenção das concentrações através da curva de calibração e da reta da equação foram determinados a eficiência de carregamento da ureia (%), o carregamento real da ureia nas amostras (%) e a eficiência de aprisionamento da ureia (%). Onde  $C_i$  é a concentração inicial de ureia nas soluções,  $C_f$  é a concentração da solução

após o carregamento de ureia nas amostras, e  $C_2$  a concentração de ureia presente na lavagem das amostras.

$$\text{Eficiência de carregamento da ureia (\%)} = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} \times 100 \quad (9)$$

$$\text{Carregamento real da ureia (\%)} = \frac{(C_i - C_f) - C_2}{C_i} \times 100 \quad (10)$$

$$\text{Eficiência de aprisionamento (\%)} = \frac{(C_i - C_f) - C_2}{(C_i - C_f)} \times 100 \quad (11)$$

O efeito do carregamento de ureia sobre compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana pode ser visto na Tabela 6. A baixa eficiência de aprisionamento da ureia nas amostras pode ter se dado pela quantidade de ureia presente na superfície da amostra, e que foi removida durante o processo de lavagem das amostras. A maior eficiência (em valor absoluto) de carregamento apresentada pela quitosana deve-se a maior concentração de ureia na solução (10 vezes maior), permitindo através da difusão em água um carregamento real superior. Resultados semelhantes para a quitosana são reportados por Bajpai et al. (2006) e Hussain et al. (2012). Segundo Xue & Wilson (2016), Kwon et al. (2014), e Tran et al. (2013). Segundo eles, os grupos amino e hidroxil da quitosana ou as iminas das ligações cruzadas são locais de absorção primária da ureia em materiais a base de quitosana, talvez devido às ligações de hidrogênio.

Apesar das interações quitosana-ureia reportadas acima, os valores apresentados na Tabela 7 indicam que a gelatina conseguiu aprisionar mais ureia (em valor relativo) do que a quitosana. Com a gelatina, cerca de 44% da ureia foi perdida na etapa de lavagem, ao passo que na lavagem do compósito com quitosana foram perdidos cerca de 63% da ureia.

**Tabela 7:** Análises dos dados do carregamento da ureia nos compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana.

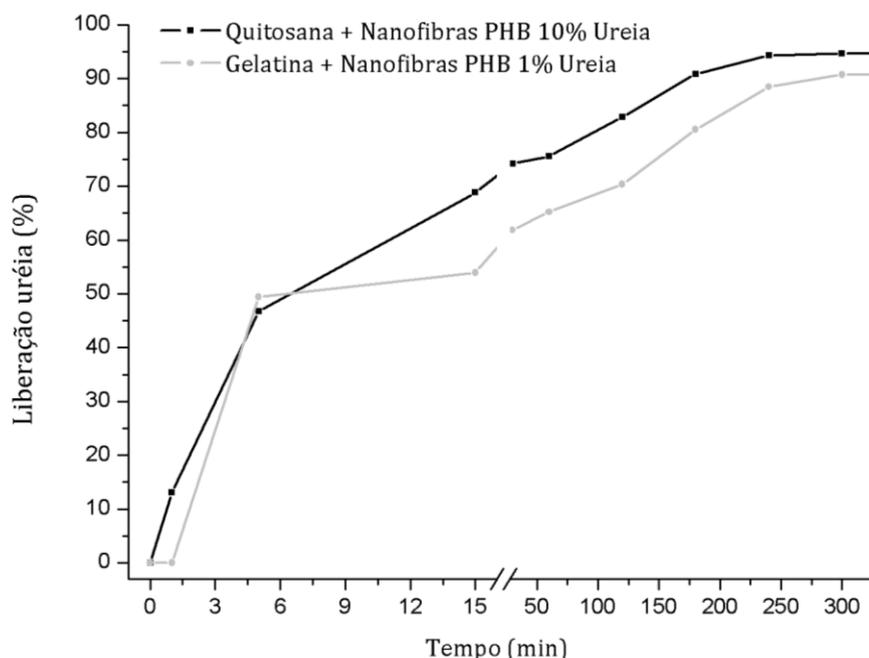
<b>Amostra</b>	<b>Eficiência de carregamento (%)</b>	<b>Carregamento real (%)</b>	<b>Eficiência de aprisionamento (%)</b>
Gelatina + nanofibras de PHB em 1% ureia	8,07	4,52	56,09
Quitosana + nanofibras de PHB em 10% ureia	49,64	18,09	36,45

Fonte: Próprio autor.

Outro ponto relevante tratado por Hussain et al. (2012), aponta para os polímeros com baixa concentração, como o caso da quitosana preparada neste estudo, podem não ser suficientes para encapsular toda a ureia disponível na solução. Com o aumento destas concentrações, mais polímero estaria disponível para encapsular a ureia, até o ponto onde o teor de polímero seria suficiente para encapsular 100% da ureia disponível.

Outra questão importante está relacionada à densidade de ligações cruzadas presentes no material. Em seus estudos Kumber et al. (2002) e Hussain (2012) verificaram que, as baixas taxas de aprisionamento da ureia no interior da quitosana, por exemplo, poderia se dar pelo aumento do teor de agente reticulante, o qual promove a redução da massa molar das ligações cruzadas (diminuição da cadeia) e, portanto, um adensamento das paredes e uma redução no inchamento do material, fato que afeta tanto o processo de carregamento como o de liberação da ureia.

O estudo de liberação da ureia foi realizado adicionando-se 1,5 g dos compósitos, isto é, nanofibras de PHB incorporadas com gelatina carregada com 1% de ureia ou quitosana carregada com 10% de ureia, em 200 mL de água deionizada. As amostras foram retiradas da solução nos tempos de 1, 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 1440 e 5760 minutos. O resultado do estudo pode ser visto na Figura 43, curvas de liberação de ureia (%) versus tempo (min).

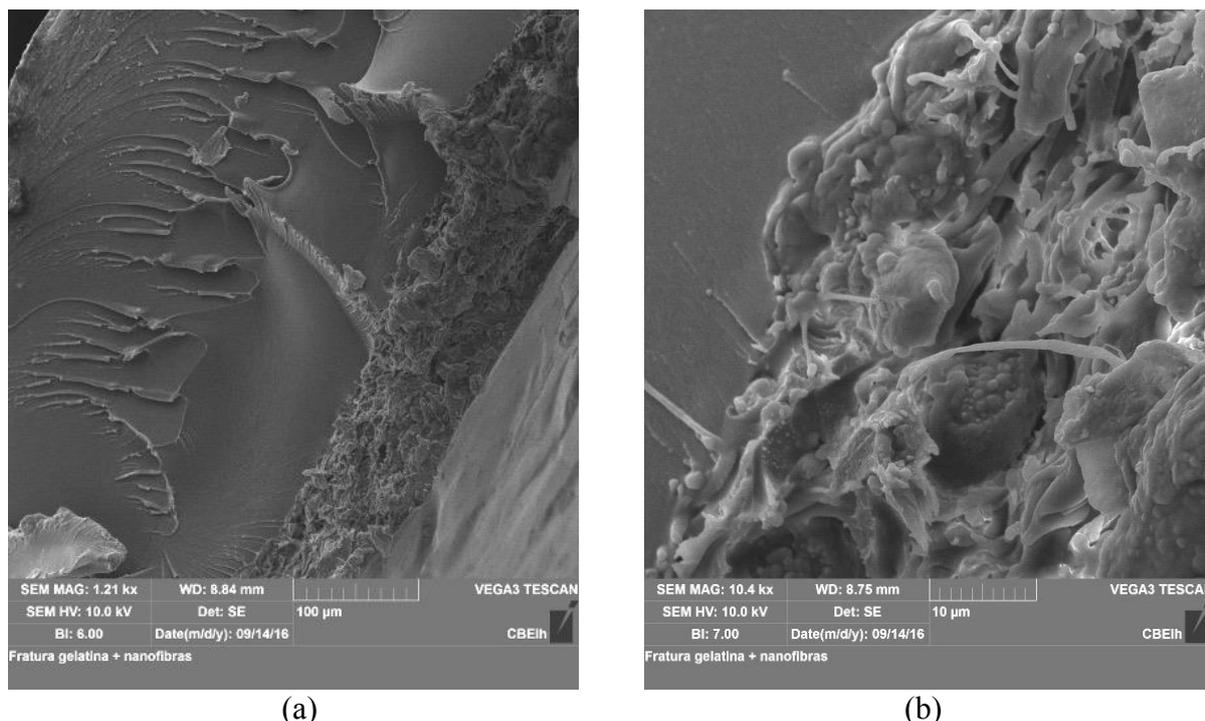


**Figura 43:** Curvas de liberação da ureia (%) *versus* tempo (minutos) para os compósitos nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia.

Fonte: Próprio autor.

Conforme pode ser observado na Figura 43, os compósitos não conseguiram evitar a ocorrência do efeito “*burst*”, ou seja, grande parte da ureia foi liberada no início do experimento.

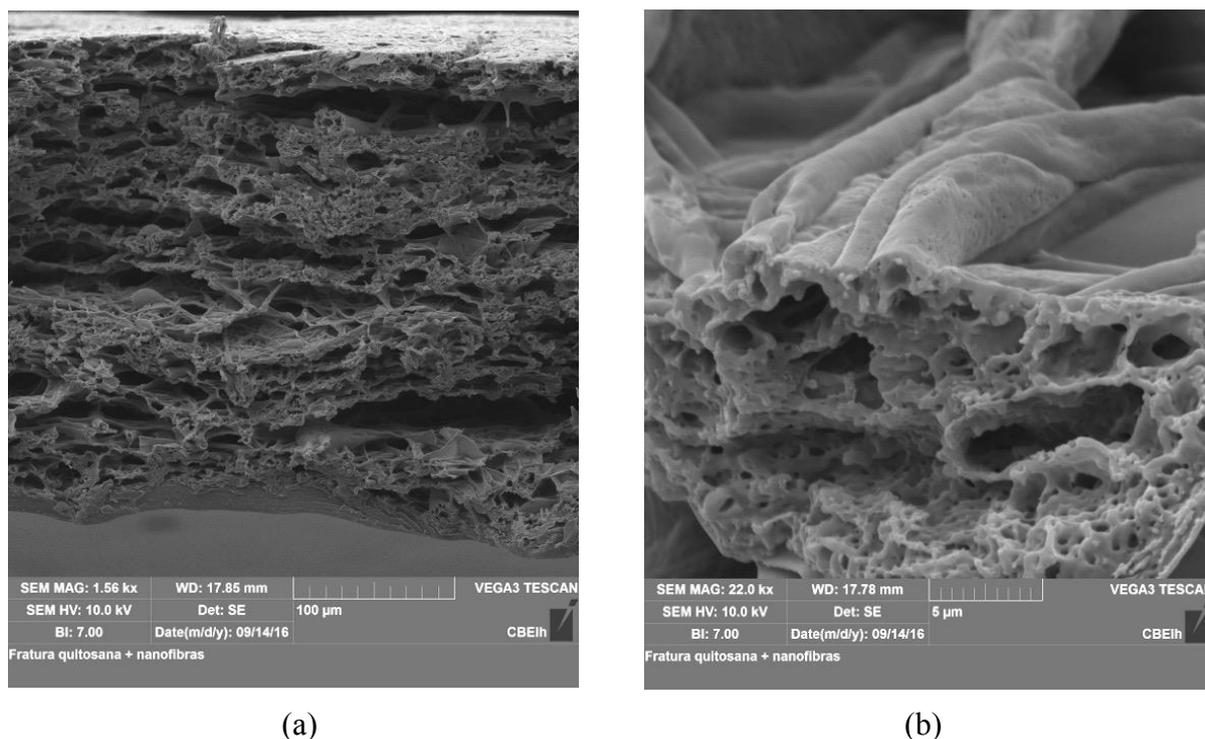
Em altas concentrações de polímeros, onde o carregamento da ureia seria próximo ou igual a 100%, o excesso de material funcionaria como uma barreira para difusão da ureia, aumentando assim o tempo e diminuindo a taxa de liberação. (MAJI et al., 2007) Como podemos ver na Figura 44, a estrutura do compósito com gelatina é mais densa e com a estrutura das nanofibras mais íntegra (baixa delaminação), as quais estão concentradas próximo à superfície do compósito (Figura 44 (a)). A gelatina ocupou bem os espaços entre as fibras (Figura 44 (b)), o que pode explicar o menor carregamento, e a maior eficiência de encapsulação da gelatina comparada a da quitosana (Tabela 7), já que a densidade do material, somado ao maior volume *versus* a quantidade de ureia disponível durante a absorção pode explicar o desempenho.



**Figura 44:** Micrografias do compósito nanofibras de PHB / gelatina: (a) região da fratura; (b) detalhe da interface nanofibras e matriz.

Fonte: Próprio autor.

Por outro lado, o compósito nanofibras de PHB / quitosana (Figura 45) apresentou morfologia distinta do compósito com gelatina. A baixa concentração da solução de quitosana propiciou uma maior delaminação das nanofibras na matriz (Figura 45 (a)), mas a alta porosidade do material, que pode ter sido causado pela falta de quitosana para ocupar todos os interstícios da manta de nanofibras (Figura 45 (b)), pode explicar seu desempenho no carregamento e liberação da ureia. A alta porosidade permite uma maior difusão da solução de ureia para dentro do compósito, o que explica o resultado de alta eficiência de carregamento apresentado na Tabela 6. No entanto, Hussain (2012) relata uma baixa eficiência de aprisionamento, igualmente ocorrido em nosso estudo, sendo explicado pela alta concentração de ureia na superfície do material, que posteriormente foi retirada durante a lavagem da amostra.



**Figura 45:** Micrografias do compósito nanofibras de PHB com quitosana: (a) região da fratura; (b) detalhe da interface nanofibras e matriz.

Fonte: Próprio autor.

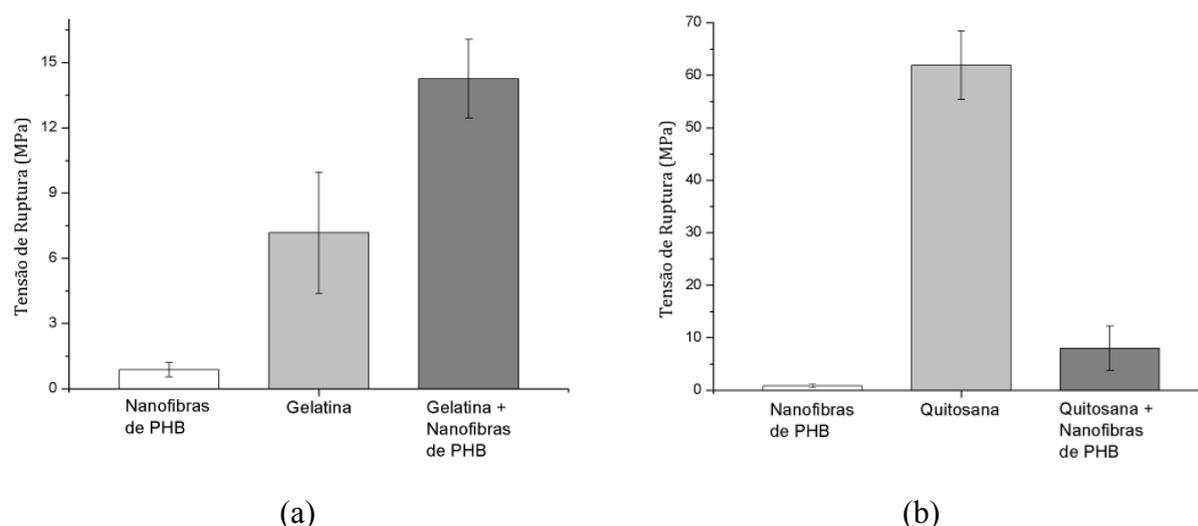
### 5.3.5 Estudo das propriedades mecânicas dos compósitos de Nanofibras de PHB com gelatina e com quitosana

As propriedades mecânicas dos compósitos foram estudadas utilizando o ensaio de tração. O objetivo era avaliar a influência das nanofibras de PHB sobre as propriedades mecânicas das matrizes de gelatina e quitosana. Nepalli et. al. (2010) destacam que são poucos os trabalhos que utilizam as fibras eletrofiadas como reforço ou agente de preenchimento em compósitos de matriz polimérica.

Em seu trabalho Nepalli et. al. (2010), demonstraram um aumento de até 172% no módulo de elasticidade e de até 126% na tensão de escoamento em comparação com a matriz pura. É notável como a adição das nanofibras proporciona uma maior tensão de ruptura, com um aumento de 28%. Os autores destacam ainda que a grande vantagem da eletrofiação para fabricação de fibras de reforço é a possibilidade de se produzir na estrutura das mantas de nanofibras um subconjunto de fibras com diâmetro muito fino que são capazes de interagir de forma muito eficiente com a matriz na qual elas são dispersas. Para se tirar proveito desta

vantagem o diâmetro médio deve ser mantido o mais baixo possível. Ao contrário de reforços tradicionais como as argilas e os nanotubos de carbono, as nanofibras possibilitam mais facilmente aumentar simultaneamente o módulo e o alongamento a ruptura.

No presente estudo, as propriedades de tensão de ruptura (Figura 46), deformação (Figura 47) e módulo de Young (Figura 48) foram avaliadas nas mantas de nanofibras de PHB, filmes de gelatina e quitosana, e nos compósitos de nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana.

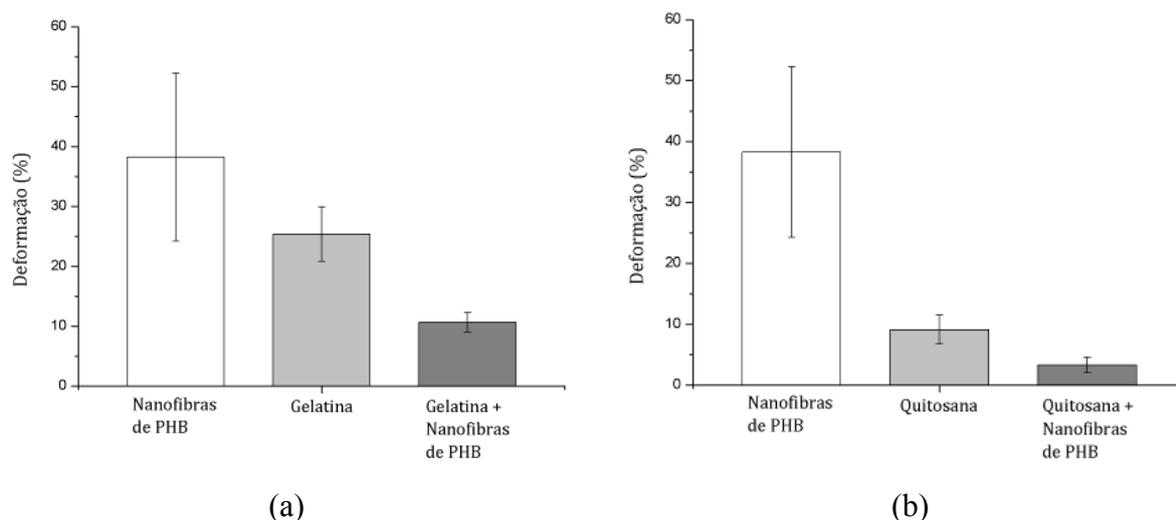


**Figura 46:** Valores de tensão de ruptura (MPa) das nanofibras de PHB, das matrizes e dos compósitos: (a) Gelatina; (b) Quitosana.

Fonte: Próprio autor.

A tensão de ruptura do estudo realizado com a gelatina demonstra a capacidade de reforço das nanofibras de PHB quando adicionadas à matriz. Um incremento de aproximadamente +100% na tensão foi identificado (Figura 46 (a)). Para a quitosana, a combinação das nanofibras com a matriz ocasionou uma piora nas propriedades mecânicas relacionadas à tensão de ruptura, na ordem de 87% aproximadamente (Figura 46 (b)).

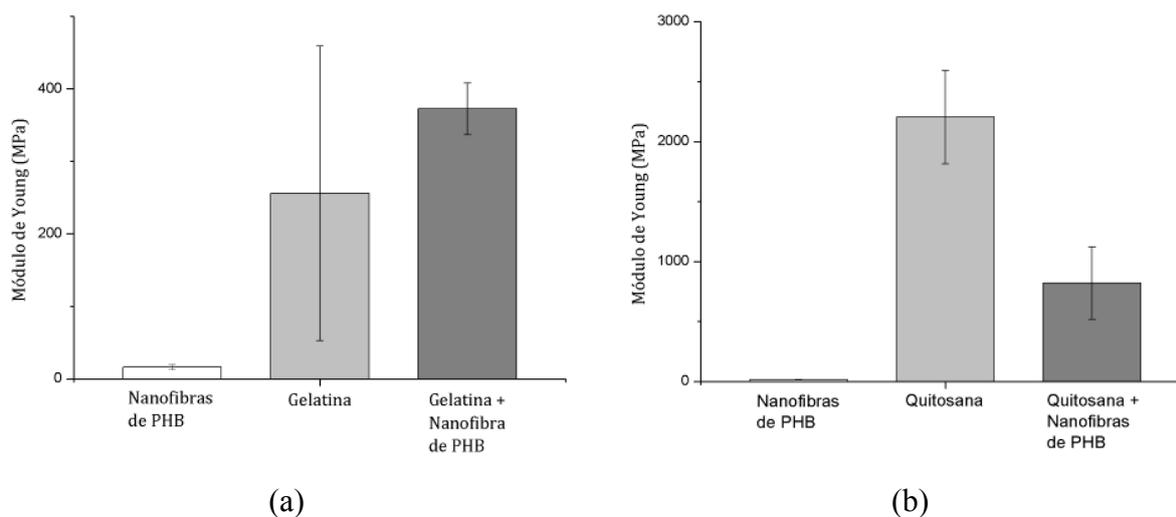
Para a propriedade de deformação dos compósitos (alongamento), uma perda no alongamento já era esperada, pois o objetivo era que as nanofibras de PHB funcionassem como reforço. Para o compósito com matriz de gelatina (Figura 47 (a)), tivemos uma redução de aproximadamente 58%, enquanto para o compósito de matriz de quitosana (Figura 47 (b)) aproximadamente 64%.



**Figura 47:** Gráficos de deformação (%) das nanofibras de PHB, das matrizes e dos compósitos: (a) Gelatina; (b) Quitosana.

Fonte: Próprio autor.

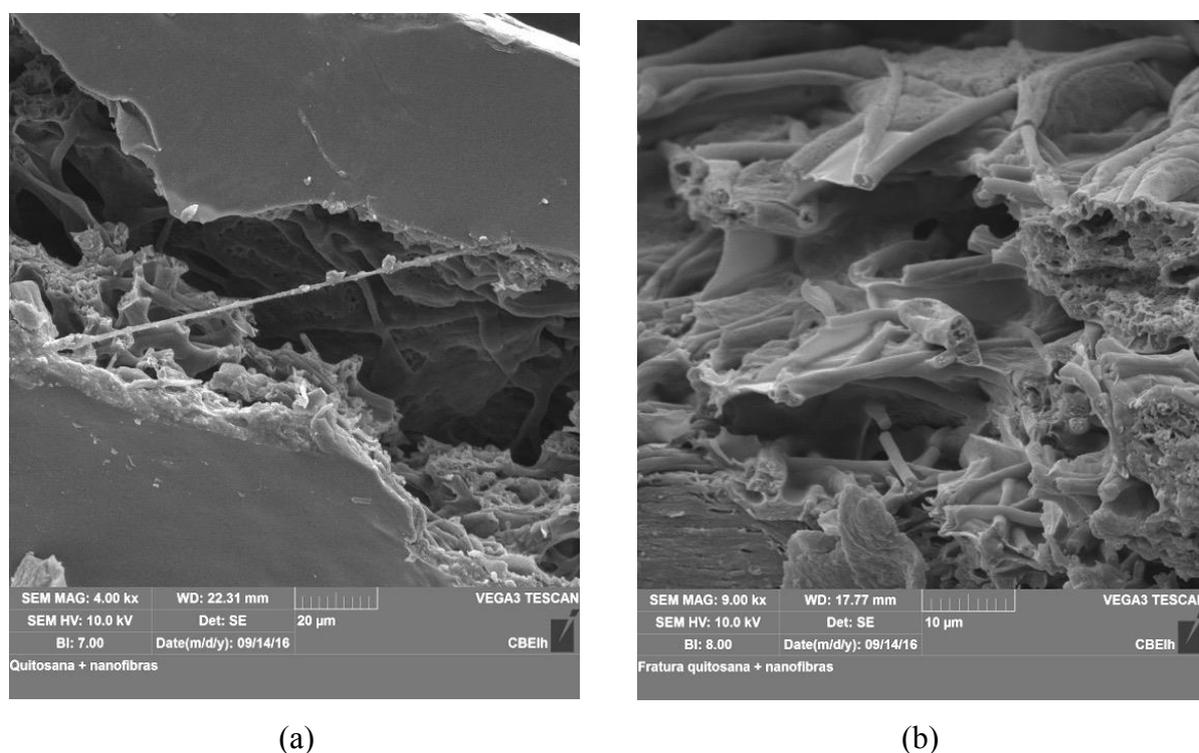
Assim como as propriedades da tensão de ruptura, o módulo de Young apresentou um aumento para o compósito com matriz de gelatina (Figura 48 (a)) e um decréscimo para a matriz de quitosana (Figura 48 (b)), de +46% e -63% respectivamente.



**Figura 48:** Gráficos do Módulo de Young (MPa) das nanofibras de PHB, das matrizes e dos compósitos: (a) Gelatina; (b) Quitosana.

Fonte: Próprio autor.

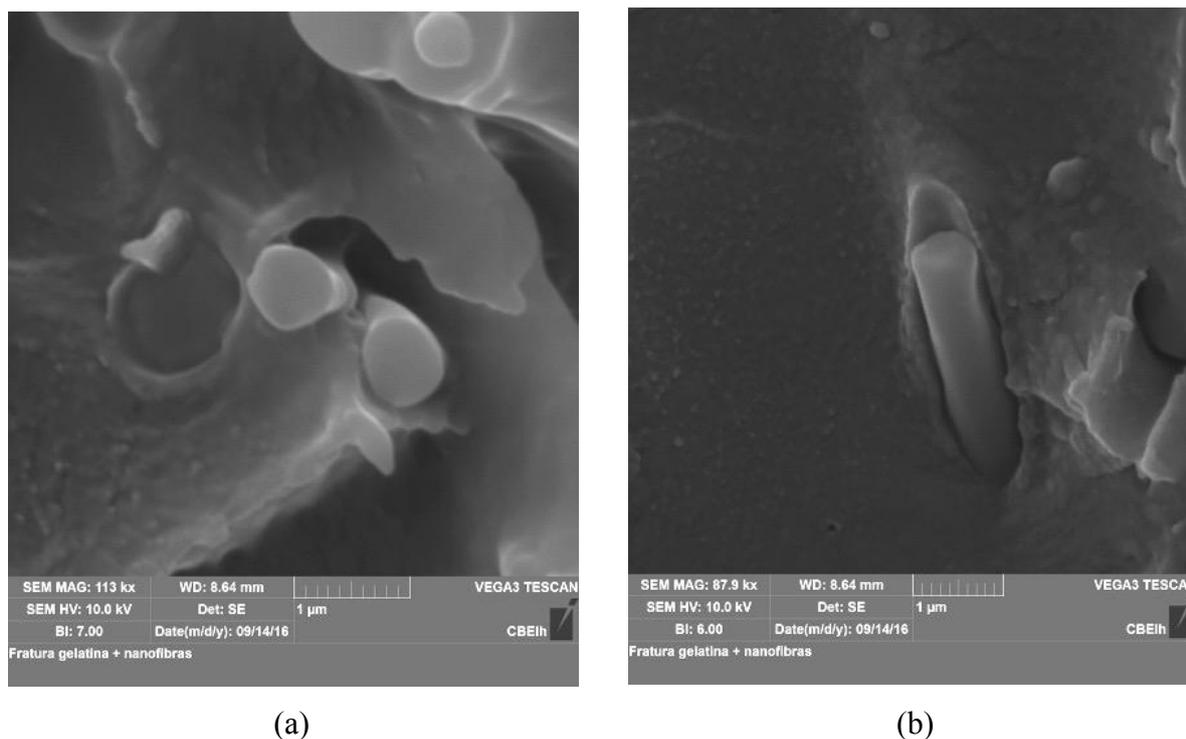
Podemos atribuir o desempenho nas propriedades mecânicas à interação entre a fase matriz e a fase fibra do compósito. Na Figura 49, relativa ao MEV do compósito com quitosana, podemos observar a região superficial da amostra (Figura 49 (a)) e a região da fratura (Figura 49 (b)), nota-se uma boa interação entre a matriz e a fase fibra do compósito. No entanto, a baixa concentração de polímero na solução utilizada para produção da matriz no compósito impossibilitou o total preenchimento dos interstícios entre as nanofibras de PHB, criando um material altamente poroso e conseqüentemente com baixa densidade, o que pode explicar a perda das propriedades mecânicas do compósito em relação ao filme de quitosana.



**Figura 49:** MEV do compósito de quitosana com nanofibras de PHB: superfície (a) e fratura (b).

Fonte: Próprio autor.

Quando comparada as imagens do compósito de matriz de gelatina (Figura 50), podemos notar uma menor interação entre a fase fibra e a fase matriz, já que a imagem apresenta um contorno bem delimitado entre as partes, conforme pode ser mais bem percebido na imagem da fratura (Figura 50 (b)). No entanto, a maior concentração de fase matriz possibilitou um maior preenchimento dos interstícios da manta de nanofibras, criando um compósito mais denso, combinando de maneira eficiente as propriedades dos dois materiais e fases do compósito.



**Figura 50:** MEV do compósito de gelatina com nanofibras de PHB: superfície (a) e fratura (b).  
Fonte: Próprio autor.

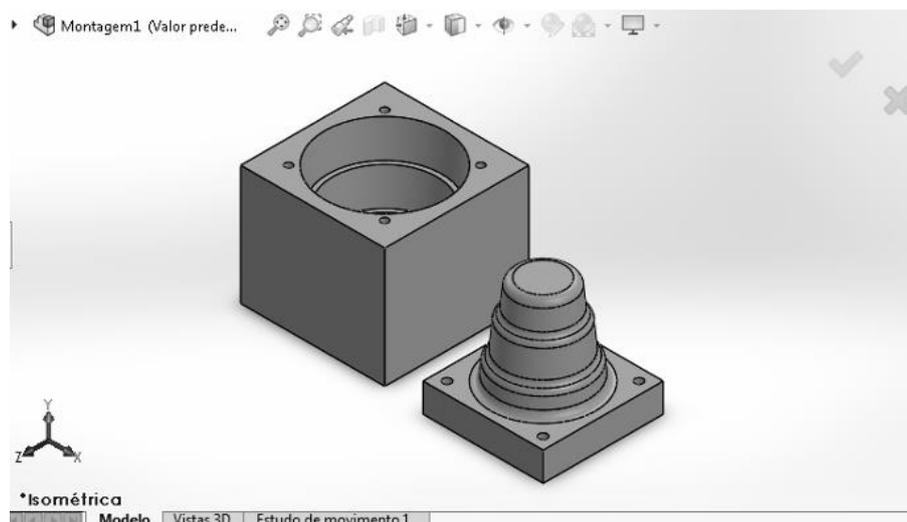
#### 5.4 Produção do artefato de liberação controlada

A técnica de vazamento é um método simples de moldagem descontínuo, que pode ser usada para polímeros termorrígidos ou termoplásticos. O processo consiste em verter, isto é, vaziar uma solução polimérica viscosa em um molde, o material polimérico é curado e posteriormente é retirado do molde. (MANO & MENDES, 2004; SIEMANN, 2005)

O processamento por vazamento foi selecionado, pois grande parte do estudo foi desenvolvida com soluções poliméricas em solvente. A técnica permite o desenvolvimento da mistura da solução polimérica com as nanofibras sem causar danos à sua estrutura, como poderia ocorrer por processos de fusão por temperatura, já que a morfologia em nanofibras tende a perder a integridade nas temperaturas de transição vítrea e fusão do polímero.

O artefato de liberação do fertilizante modelo (ureia) foi projetado pensando na utilização da gelatina como material de recobrimento das nanofibras. O projeto foi desenvolvido inicialmente em software paramétrico de modelamento 3D, pensado em um molde bipartido (Figura 51), que possibilitou conformar a parte externa e interna do arcabouço, onde foi realizado o teste de crescimento de plantas. A geometria desenvolvida com anéis longitudinais ao longo da peça

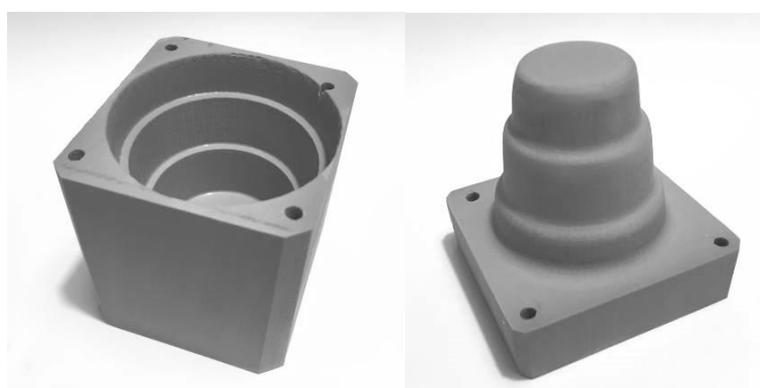
buscou acrescentar maior resistência mecânica ao produto final, garantindo assim uma estruturação mecânica mínima para sua aplicação. Detalhes do projeto do artefato de liberação que deram origem ao molde para moldagem por vazamento podem ser vistos no anexo 8.2 deste documento.



**Figura 51:** Projeto do molde realizado em software paramétrico de modelamento 3D.

Fonte: Próprio autor.

Os moldes (Figura 52) foram usinados em uma modeladora 3D de 3 eixos, a partir dos arquivos digitais do projeto 3D desenvolvido. O material utilizado na confecção do molde foi o Necuron® 540, um poliuretano com densidade de  $0,55 \text{ g cm}^{-3}$ , dureza Shore D de aproximadamente 63, resistente a temperaturas de  $60^\circ\text{C}$ .



**Figura 52:** Componentes do molde após o processo de usinagem.

Fonte: Próprio autor.

Com os moldes finalizados, foram realizados testes e a confecção por vazamento do artefato do compósito nanofibras de PHB / gelatina / ureia, que posteriormente foi utilizado no ensaio de crescimento do *Panicum miliaceum L.* (painço) (Figura 53). O painço é uma gramínea de origem asiática, e foi selecionado por ser uma cultura de rápido crescimento, grande resistência e adaptabilidade a diferentes condições de cultura. (Embrapa, 2016)

Para o estudo, foram selecionadas sementes de painço, que foram colocadas em água por 12 horas, para iniciar o processo de germinação, e posteriormente foram plantadas. Para o processo de plantio, foram utilizados dois vasos de 12 cm de diâmetro por 10 cm de altura, preparados com pedriscos no fundo do vaso e terra vegetal (terra + esterco) da empresa Terral Mix Ind. E Com. Ltda. Em um dos vasos foram colocados 5 grupos com 5 sementes de painço, no segundo vaso, foi adicionado as sementes e o artefato de gelatina com 1% de ureia e nanofibras de PHB (Figura 54).

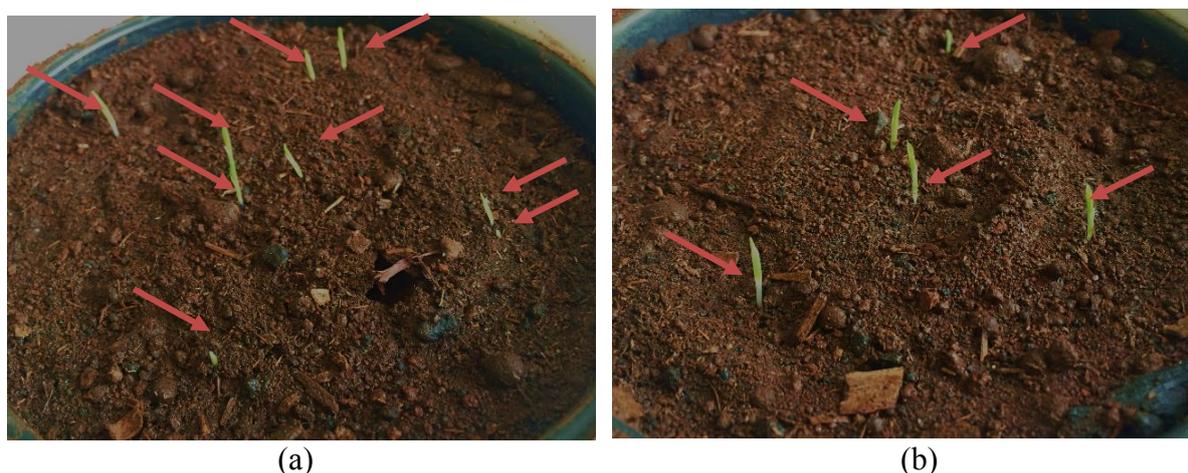


**Figura 53:** Artefato desenvolvido por moldagem por vazamento.  
Fonte: Próprio autor.



**Figura 54:** Vasos com semente de painço. À esquerda o arcabouço com compósito nanofibras de PHB / gelatina / ureia no centro do vaso e a direita o vaso controle (sem o compósito).  
Fonte: Próprio autor.

Após o plantio, o vaso que continha o arcabouço com compósito nanofibras de PHB / Gelatina / ureia apresentou o desenvolvimento de 9 mudas, já o vaso controle apresentou o desenvolvimento de 5 mudas, 45% e 25% de rendimento do total de sementes plantadas (Figura 55).



**Figura 55:** Mudanças de painço estudadas no teste de germinação: (a) vaso com arcabouço do compósito de nanofibras de PHB / gelatina / ureia; (b) vaso controle (sem o compósito).

Fonte: Próprio autor.

As mudas foram regadas diariamente com 50 mL de água e registros fotográficos foram realizados para acompanhar o crescimento (Figura 55 e 56). A presença do compósito a base de hidrogel favorece o controle de umidade do solo, mesmo em situações de stress hídrico, o que pode explicar o maior sucesso das sementes do vaso onde o compósito estava sendo utilizado (Figura 56). (HADAM et. al., 2011; REHMAN et. al., 2011; MONTESANO et. al., 2015; NAVROSKI et. al., 2015)



**Figura 56:** Mudanças após 7 dias do plantio: (a) vaso com arcabouço do composto de nanofibras de PHB / gelatina / ureia; (b) vaso controle (sem o composto).

Fonte: Próprio autor.

Segundo Navroski et. al. (2015), destacam que a presença de hidrogéis auxiliam na retenção de água e na disponibilização desta água para as plantas, o que permite uma redução na quantidade de água na irrigação. Os autores destacam ainda, que em quantidades elevadas de hidrogel no solo, há a necessidade de maior controle da irrigação, já que a maior capacidade de retenção da água por encharcar o solo e prejudicar o crescimento das mudas.

A irregularidade no desenvolvimento das mudas (Figura 56) pode ser explicada pela alta relação hidrogel / substrato (Figura 56(a)). O excesso hídrico resultante da alta quantidade de hidrogel presente no solo, pode ocasionar a diminuição na pressão de oxigênio do solo (hipoxia), ou a falta total ou parcial do mesmo (anoxia), dificultando assim a respiração da planta, consequentemente diminuindo a produção de energia necessária para os processos de síntese / fotossíntese, e transporte de nutrientes. (NAVROSKI et. al., 2015; REHMAN et. al., 2011)

Estas relações não foram abordadas neste estudo, mas devem ser observadas em futuras aplicações e estudos. Em estudo Navroski et. al. (2015) concluem que o uso de hidrogel possibilita uma redução de aproximadamente 35% no volume de irrigação necessária para o crescimento das mudas de *Eucalyptus dunnii*.

## 6 CONCLUSÃO E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Foram preparados sistemas para liberação prolongada de fertilizante a partir de nanofibras de PHB / gelatina ou quitosana / ureia. Os compósitos foram produzidos através da incorporação dos hidrogéis carregados com ureia nas mantas eletrofiadas de PHB, visando principalmente o preenchimento dos interstícios.

A técnica de eletrofiação mostrou-se adequada à produção de nanofibras de PHB. Através do controle dos parâmetros do processo de eletrofiação, foi possível determinar a condição ótima para obtenção das nanofibras de PHB, com destaque para a combinação dos solventes clorofórmio e dimetilformamida (90:10) que promoveu a produção de mantas com diâmetros de fibras uniformes e mais lisas do que as obtidas por soluções puras de clorofórmio. Os parâmetros físicos do processo de eletrofiação, como distância, tensão, taxa de injeção, tipo de coletor apresentaram importância igualmente relevante as da solução, pois determinaram diretamente a qualidade e as propriedades da manta de nanofibras obtida.

Os compósitos de nanofibras de PHB incorporados com hidrogéis de gelatina ou quitosana carregados com ureia não conseguiram evitar a ocorrência do efeito “*burst*”, ou seja, grande parte da uréia foi liberada no início do experimento. Apesar disso, o sistema foi capaz de prolongar a liberação da ureia em relação à aplicação da ureia pura. O efeito “*burst*” ocorrido no sistema com a gelatina foi atribuído à propriedade da ureia inibir uma porcentagem de ligações cruzadas nas proteínas proporcional à concentração de ureia. Já o efeito “*burst*” ocorrido no sistema com a quitosana foi atribuído à baixa concentração usada desse polímero.

Apesar disso, os sistemas se mostraram promissores como agentes de transporte e entrega da ureia. A tensão de ruptura do estudo realizado com a gelatina demonstrou a capacidade de reforço das nanofibras de PHB quando adicionadas à matriz. Um incremento de aproximadamente +100% na tensão de ruptura foi identificado. Além disso, o uso de polímeros biodegradáveis é uma opção ecologicamente adequada em comparação aos hidrogéis sintéticos atualmente aplicados na agricultura.

Nos testes realizados com o artefato produzido, o sistema demonstrou ser um regulador da umidade do solo, com potencial para estudos futuros que aprofundem o entendimento neste sentido.

A indústria agrícola e de alimentos são os destinatários iniciais dos avanços neste campo de estudo. Por outro lado, existe uma imensidão de desafios a serem superados para alcançar os objetivos da indústria. De maneira geral este trabalho contribuiu para apresentar alternativas para o desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada de nutrientes para agricultura.

Como sugestão para trabalhos futuros citam-se:

- Conduzir estudos para verificar os sistemas de interações entre a fase matriz (gelatina e quitosana) e as nanofibras de PHB, para elucidação das propriedades mecânicas do compósito.
- Conduzir estudos semelhantes utilizando outros nutrientes menos nocivos às estruturas físico-químicas dos materiais matriz (gelatina e quitosana).
- Conduzir estudos sobre a influência do processo de irrigação no mecanismo de liberação do material compósito, tendo em vista seu alto poder higroscópico.
- Estudar as relações de porcentagem de hidrogel por hectare e sua eficiência no desenvolvimento de mudas e plantas adultas.

## 7 REFERÊNCIAS

AGUILAR, R.; NAKAMATSU, J.; RAMÍREZ, E.; ELGEGREN, M.; AYARZA, J.; KIM, S.; PANDO, M. A.; ORTEGA-SAN-MARTIN, L. The potential use of chitosan as a biopolymer additive for enhanced mechanical properties and water resistance of earthen construction. *Construction and Building Materials*, v. 114, p. 625–637, 2016.

AVÉROUS, Luc; POLLET, Eric. Environmental silicate nano-biocomposites. *Green Energy and Technology* 2012. v. 166, p.13-39, 2012.

AZEEM, B.; KUSHAARI, K.; MAN, Z. B.; BASIT, A.; THANH, T. H. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. *Journal of Controlled Release*, v. 181, p. 11–21, 2014.

AZEVEDO, T. L. F.; BERTONHA, A.; GONÇALVES, A. C. A. Uso de Hidrogel na Agricultura. *Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta*, v.1, n.1, p.23-31, 2002

BAGHERI, M.; YOUNESI, H.; HAJATI, S.; BORGHEI, S.M. Application of chitosan-citric acid nanoparticles for removal of chromium (VI). *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 80, p. 431-444, 2015.

BAJPAI, J.; BAJPAI, A.K.; MISHRA, R. Dynamics of controlled release of potassium nitrate from a highly swelling binary bio-polymeric blend of alginate and pectin. *J. Macromol Sci Part A Pure Appl Chem*. v.43, p. 165-186, 2006.

BHARDWAJ, Nandana; KUNDU, Subhas C.. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. v.28, p.325-347, 2010.

BEZERRA, E. B.; LEITE, A. M.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. Obtenção e caracterização de membranas obtidas a partir de blendas poliméricas de poliamida. *Polímeros*. v. 24, n.3, p.381-387, 2014.

BIANCO, Alessandra; CALDERONE, Manuela; CACCIOTTI, Ilaria. Electrospun PHBV/PEO co-solution blends: microstructure, thermal and mechanical properties. *Materials Science and Engineering C*. n. 33, p.1077-1077, 2013.

BIGI, A.; COJAZZI, G. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. *Biomaterials*, v.22, p.763-768, 2001.

BILLMEYER JR, F.W. *Textbook of polymer Science*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons; 1971. p.110, 216, 235.

BIOCYCLE. Aplicações do PHB. Disponível em: < [http://www.biocycle.com.br /site.htm](http://www.biocycle.com.br/site.htm) >. Acessado em: Abril de 2014.

BOGNOLA, Itamar A.; BELLOTE, Antonio F. J. *Sistemas de plantio – Cultivo de pinus*. Embrapa Florestas – Sistemas de produção. n. 5, 2º ed. Maio, 2011.

BRETCANU, Oana; MISRA, Superb K.; YUNOS, D. Mohammad; BOCCACCINI, Aldo R.; ROY, Ipsita; KOWALCZYK, Tomasz; BLONSKI, Slawomir; KOWALEWSKI, Tomasz A. Electrospun nanofibrous biodegradable polyester coating on bioglass-based glass-ceramics for tissue engineering. *Materials Chemistry and Physics*. n. 118, p. 420-426, 2009.

CACCIOTTI, Ilaria; CALDERONE, Manuela; BIANCO, Alessandra. Tailoring the properties of electrospun PHBV mats: Co-solution blending and selective of PEO. *European Polymer Journal*. n. 49, p.3210-3222, 2013.

CANETTI, M.; URSO, M.; SADOCCO, P. Influence of the morphology and of the supermolecular structure on the enzymatic degradation of bacterial poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer*. v.40, n.10, p.2587-2594, 1999.

CARLI, L. N.; CRESPO, J. S.; MAULER, R.S. PHB-V nanocomposites based on organomodified montmorillonite and halloysite: The effect of clay type on the morphology and thermal and mechanical properties. *Composites: Parte A*. Amsterdam: Elsevier, v. 42, p1601-1608, 2011.

CASTRO-ENRÍQUEZ, Daniela Denisse; RODRIGREZ-FÉLIX, Francisco; RAMIREZ-WONG, Benjamin; TORRES-CHÁVEZ, Patricia I.; CASTILLO-ORTEGA, Maria M.; RODRIGEZ-FÉLIX, Dora E.; ARMENTA-VILLEGAS, Lorena; LEDESMA-OSUNA, Ana I. Preparation, characterization and release of urea from wheat gluten electrospun membranes. *Materials*. n.5, p.2903-2916, 2012.

CHANG, S.L.; YU, T. L.; HUANG, C. C.; CHEN, W. C.; LINILU, K.; LIN, T. L. Effect of polyester side-chains on the phase segregation of polyurethanes using small-angle X-ray scattering. *Polymer*. n.39, v.15, p.3479-3489, 1998.

CHAPLIN, M. Water structure and science. Gelatin. London, UK. July, 2007. Disponível em: <<http://www.lsbu.ca.ul/water/hygel.html#319>>. Acessado em: OUT 2014.

CHASE, G. G.; VARABHAS, J. S.; RENEKER, D. H. New methods to electrospin nanofibers. *Journal of engineered fibers and fabrics*. n.3, v.6, p.32-38, 2011.

CHIU, H. J.; CHEN, H.L.; LIN, J. S. Crystallization induced microstructure of crystalline/crystalline poly(vinylidene fluoride)/poly(3-hydroxybutyrate) blends probed by small angle X-ray scattering. *Polymer*. v.42, n.13, p.5749-5754, 2001.

CHO, J.; HEUZEY, M.-C.; BÉGIN, A.; CARREAU, P. J. Effect of urea on solution behavior and heat-induced gelation of chitosan-B-glycerophosphate. *Carbohydrate Polymer*. v.63, n.4, p.607-518. 2006.

CIVARDI, Ederson A.; SILVEIRA NETO, Américo N.; RAGAGNIN, Vilmar A.; GODOY, Eloene R.; BROD, Elias. Uréia de liberação lenta aplicada superficialmente e uréia comum incorporada ao solo no rendimento do milho. *Pesquisa Agropecuária Trop*. v. 41, n.1, p.52-59, jan/mar, 2011.

COIMBRA, P.; GIL, M. H.; FIGUEIREDO, M. Tailoring the properties of gelatina films for drug delivery application: influence of the chemical cross-linking method. *International Journal of Biological Macromolecules*. v.70, p.10-19, 2014.

CORRADINI, E.; DE MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C. A preliminar study of incorporation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. *eXPRESS polymer Letters*. n.8, v.4, p.509-515, 2010.

COSTA Jr., Ezequiel de Souza; MANSUR, Herman Sander. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. *Química nova*.v.31, n.6, p.1460-1466, 2008.

<sup>1</sup>COSTA, Rodrigo G. F.; et. al. Eletrofiação de Polímeros em solução. Parte I: Fundamentação Teórica. *Polímeros*. v.22, n.2, 2012.

<sup>2</sup>COSTA, Rodrigo G. F.; et. al. Eletrofiação de Polímeros em solução. Parte II: Aplicações e Perspectivas. *Polímeros*. v.22, n.2, 2012.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E.. Nanotechnologies in the food industry – recente developments, risk and regulation. *Trends in food Science & technology*. n.24, p.30-46, 2012.

D'AMICO, D. A.; IGLESIAS MONTES, M. L.; MANFREDI, L. B.; CYRAS, V. P. Fully bio-based and biodegradable polylactic acid/poly(3-hydroxybutyrate) blends: Use of a common plasticizer as performance improvement strategy. *Polymer Testing*, v.49, p. 22-28, 2016.

DIMIDA, S.; DEMITRI, C.; DE BENEDICTIS, V. M.; SCALERA, F.; GERVASO, F.; SANNINO, A. Genipin-cross-linked chitosan-based hydrogels: Reaction kinetics and structure-related characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 132, 2015.

DJAGNY, K. B.; WANG, Z.; XU, S. Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries: review. *Critical reviews in food science and nutrition*. v.41, n.6, p.481-492, 2001.

DOMÍNGUEZ-DÍAZ, M.; MENESES-ACOSTA, A.; ROMO-URIBE, A.; PEÑA, C.; SEGURA, D.; ESPIN, G. Thermo-mechanical properties, microstructure and biocompatibility in poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB) produced by OP and OPN strains of *Azotobacter vinelandii*. *European Polymer Journal*. v.63, p.101-112, 2015.

ELAIN, A.; LE GRAND, A.; CORRE, Y.-M.; LE FELLIC, M.; HACHET, N.; LE TILLY, V.; LOULERGUE, P.; AUDIC, J.-L.; BRUZAUD, S. Valorisation of local agro-industrial processing waters as growth media for polyhydroxyalkanoates (PHA) production. *Industrial Crops and Products*, v.80 p. 1–5, 2015.

EMBRAPA. Base de dados da pesquisa agropecuária. Disponível em: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>. Acessado em: Set 2016.

ENDRES, H.-J.; SIEBERT-RATHS, A. Engineering biopolymers: markets, manufacturing, properties and applications. Munich: Hanser Publishers, 2011.

ERCEG, M.; KOVCIC, T.; KLAVIC, I. Thermal degradation of poly(3-hydroxybutyrate) plasticized with acetyl tributyl citrate. *Polymer Degradation & Stability*. v.90, p.313-318, 2005.

FABRA, M. J.; LOPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Effect of the film-processing conditions, relative humidity and ageing on wheat gluten films coated with electrospun poly(hydroxyalkanoate). *Food Hydrocolloids*, v. 44, p. 292-299, 2015.

FABRI, D.; GUAN, J. CESÀRO, A. Crystallisation and melting behaviour of poly (3-hydroxybutyrate) in dilute solution: towards an understanding of physical gels. *Thermochimica Acta*. 1998; 321(1-2):3-16.

FANG, J.; NIU, H.; LIN, T.; WANG, X. Applications of electrospun nanofibers. *Chinese Science Bulletin*. v. 53, n. 15, p. 2265-2286, DOI: 10.1007/s11434-008-0319-0. SpringerLink, 2008.

FERNANDES, J. G.; CORREIA, D. M.; BOTELHO, G.; PADRÃO, J.; DOURADO, F.; RIBEIRO, C.; LANCEROS-MÉNDEZ, S.; SENCADAS, V. PHB-PEO electrospun fiber membranes containing chlorhexidine for drug delivery applications. *Polymer Testing*. n.34, p.64-71, 2014.

FRYCZKOWSKI, R.; KOWALCZYK, T. Nanofibres from polyaniline/polyhydroxybutyrate blends. *Synthetic Metals*. n.159, p.2266-2268, 2009.

GARCIA-GARCIA, D.; FERRI, J. M.; BORONAT, T.; LOPEZ-MARTINEZ, J.; BALART, R. Processing and characterization of binary poly(hydroxybutyrate) (PHB) and poly(caprolactone) (PCL) blends with improved impact properties. *Polymer Bulletin*, v. 73, p. 3333-3350, 2016.

GORGIEVA, S.; KOLOL, V.; in: PIGNATELLO (Ed). *Biomaterials applications for nanomedicine*. Intech: Rijeka, p.17-52, 2011.

GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable Polymers for the Environment. *Science* n.297, p.803-807, 2002.

GRUÈRE, G.; NARROD, C.; ABBOTT, L. *Agriculture, Food, and Water Nanotechnologies for the Poor: Opportunities, Constraints, and Role of the CGIAR*. IFPRI Discussion Paper 1064. International Food Policy Research Institute, Washington, DC, 2011.

GRUÈRE, Guillaume P. Implications of nanotechnology growth in food and agriculture in OECD countries. *Food Policy*. n.37, p.191-198, 2012.

GUO, L.; COLBY, R. H.; LUSIGNAN, C. P.; HOWE, A. M. Physical gelation of gelatin studied with rheo-optics. *Macromolecules*. v.36, p. 10009-10020, 2003.

GURUNATHAN, T.; MOHANTY, S.; NAYAK, S. K. A review of the recent developments in biocomposites based on natural fibres and their application perspectives. *Composites: Part A*, v.77, p. 1-25, 2015.

HABLOT, E.; BORDES, P.; POLLET, E., AVÉROUS, L. Thermal and thermo-mechanical degradation of poly(3-hydroxybutyrate)-based multiphase systems. *Polymer degradation and Stability*. Amsterdam: Elsevier, v.93, n.2, p.413-421, Feb. 2008.

HADAM, A.; MARIOLA, W.; ZBIGNIEW, K. Effect of hydrogel on the turf grass species growing under salt stress. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Land Reclamation*, v. 43, n.1, p.47-55, 2011.

HEO, K.; YOON, J.; JIN, K. S.; KIM, G.; SATO, H.; OZAKI, Y.; et al. Synchrotron X-ray scattering studies on the structural evolution of microbial poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of Applied Crystallography*. v.40, p.594-598, 2007.

HOTTLE, T. A.; BILEC, M. M.; LANDIS, A. E. Sustainability assessments of bio-based polymers. *Polymer Degradation and Stability*. v.98, p. 1898-1907, 2013.

HUSSAIN, R.; DEVI, R. R.; MAJI, T. K. Controlled release of urea from chitosan microspheres prepared by emulsification and cross-linking method. *Iran Polym J*. v.21, p.473-479, 2012.

IBRAHIM, S.; NAWWAR, G. A. M.; SULTAN, M. Development of bio-based polymeric hydrogel: Green, sustainable and low cost plant fertilizer packaging material. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v.4, p.203–210, 2016.

IfBB - Institute for Bioplastics and Biocomposites. Acessado em: Maio, 2014 disponível em: <ifbb.wp.hs-hannover.de>

ISHII, Daisuke; YING, Tang Hui; YAMAOKA, Tetsuji; IWATA, Tadahisa. Characterization and biocompatibility of biopolyester nanofibers. *Materials Journal*. n.2, p.1520-1546, 2009.

ITO, Yoshihiro; HASUDA, Hirokazu; KAMITAKAHARA, Masanobu; OHTSUKI, Chikara; TANIHARA, Masao; KANG, Inn-Kyu; KWON, Oh Hyeong. A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibers as a tissues engineering material. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. v.100, n.1, p.43-49, 2005.

JAMNONGKAN, T.; KAEWPIROM, S. Potassium release kinetics and water retention of controlled release fertilizers based on chitosan hidrogels. *J. Polym. Environ*. v.18, p.413-421, 2010.

JAO, C. S.; WANG, Y.; WANG, C. Novel elastic nanofibers of syndiotactic polypropylene obtained from electrospinning. *European Polymer Journal*. v.54, p.181-189, 2014.

JESUS, Rodolfo C. de. Processamento e caracterização de biocompósito de PHB com fibras naturais de coco e de sisal acetinadas e não-acetinadas. 2008, 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Materiais) – Faculdade de Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.

KAH, Melanie; HOFMANN, Thilo. Nanopesticide Research: Current trends and future priorities. *Environment Internacional*. n.63, p.224-235, 2014.

KAI, D.; PRABHAKARAN, M. P.; STAHL, B.; EBLENKAMP, M.; WINTERMANTEL, E.; RAMAKRISHNA, S. Mechanical properties and *in vitro* behavior of nanofiber-hydrogel composites for tissue engineering applications. *Nanotechnology*. v.23, 2012.

KAMPEERAPAPPUN, Piyaporn; PHANOMKATE, Nipon. Slow release fertilizer from core-shell electrospun fibers. *Chiang Mai J. Sci*. v.40, n.4, p.775-782, 2013.

KHOT, Lav R.; SANKARAN, Sindhuja; MAJA, Joe Mari; EHSANI, Reza; SCHUSTER, Edmund W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*. n.35, p.64-70, 2012.

KILIC, Ali; ORUC, Fatih; DEMIR, Ali. Effects of polarity on electrospinning process. *Textile Research Journal*. v.0, v.0, p.1-8, 2007.

KREVELEN, D. W. V.; NIJENHUIS, K. T. Properties of polymers: their correlation with chemical structure; their numerical estimation and prediction from additive group contributions. Elsevier, 4<sup>o</sup> Ed., 2009.

KUMBAR, S. G.; KULKARNI, A. R.; AMINABHAVI, T. M. Crosslinked chitosan microspheres for encapsulation of diclofenac sodium: effect of crosslinking agent. *J. Microencapsul*. v.19, p.173-180, 2002.

KURUSU, R. S.; SILIKI, C. A.; DAVID, É.; DEMARQUETTE, N. R.; GAUTHIER, C.; CHENAL, J. M. Incorporation of Plasticizers in sugarcane-based poly(3-hydroxybutyrate) (PHB): Changes in microstructure and properties through ageing and annealing. *Industrial Crops and Products*. v.72, p.166-174, 2015.

KWON, J. H.; WILSON, L. D.; SMMYNAIKEN, R. Mechanism of arsenic removal using chitosan and nanochitosan. *Journal of Colloid and Interface Science*. v.416, p.1-10, 2014.

LAI, J. Y. Biocompatibility of chemically cross-linked gelatin hydrogels for ophthalmic use. *J. Mater. Sci. Mater. Med*. v.21, p.1899-1911, 2010.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. *Química Nova*, v. 32, p. 672-678, 2009.

LAYCOCK, B.; HALLEY, P.; PRATT, S.; WERKER, A.; LANT, P. The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates. *Progress in Polymer Science*. v.39, n.3-4, p.536-583, 2014.

LEMECHKO, Pierre; RAMIER, Julien; VERSACE, Davy Louis; GUEZENNEC, Jean; SIMON-COLIN, Christelle; ALBANESE, Patricia; RENARD, Estelle; LANGLOIS, Valerie. Designing expolysaccharide-graft-poly(3-hydroxybutyrate) copolymers for electrospun scaffolds. *Reactive & Functional Polymers*. n.73, p.237-243, 2013.

LI, Qiuyan; HE, Guo. Gelatin-enhanced porous titanium loaded with gentamicin sulphate and in vitro release behavior. *Materials and Design*. v.99, p.459-466, 2016.

LI, Jianming; CONNELL, Sean; SHI, Riyi. Biomimetic Architectures for Tissue Engineering. in: *Biomimetics Learning from Nature*. Ed: Amitava Mukherjee, 2010.

LIANG, R.; YUAN, H.; XI, G.; ZHOU, Q. Synthesis of wheat straw-g-poly(acrylic acid) superabsorbent composites and release of urea from it. *Carbohydrate Polymers*, v.77, p.181-187, 2009.

LIN, W.; YU, D.; YANG, M.; *Colloids Surf. B*. v.47, p.43, 2006.

LINS, L. C.; PADOIN, N.; PIRES, A. T. N.; SOARES, C. Modeling ketoprofen release from PHB/Chitosan composite microparticle. *Polymer Bulletin*. v.73, p.1515-1529, 2016.

LIU, W.; ZHAN, J.; SU, Y.; WU, T.; RAMAKRISHNA, S.; LIAO, S.; MO, X. Injectable hydrogel incorporating with nanoyarn for bone regeneration. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. v.25, p.168, 2014.

LUZIO, Alessandro; CANESI, Eleonora V.; BERTARELLI, Chiara; CAIRONI, Mario. Electrospun Polymer Fibers for Electronic Applications. *Materials*. v.7, p.906-947, 2014.

MAGRINI, Alessandra; MELO, Caio K.; CASTRO JR., Carlos A.; GAIOTO, Carolina C.; DOS SANTOS, Dirceu P.; BORGES, Grazielle; ROSA, Isaías da S.; DELGADO, Jorge J. S.; PINTO, José C.; SOUZA, Márcio N. de; OLIVEIRA, Maria C. B. R.; SOUZA, Paula N.; MELO JR., Príamo A.; ADERNE, Ricardo; VASCONCELOS, Sonia M. R. Impactos ambientais causados pelos plásticos: uma discussão científica a respeito dos fatos e dos mitos. 2º ed. Rio de Janeiro: E-Papers, 2012.

MAJI T. K.; BARUAH, I.; DUBE, S.; HUSSAIN, R. Microencapsulation of *zanthoxylum Limonella oil (ZLO)* in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresour Technol*. v.98, p.840-844, 2007.

MANO, E. B., MENDES, L. C., Introdução a polímeros. 2 ed. São Paulo, Edgard Blücher, 2004.

MARTINHO, J. M. G. Espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível. *Química*. v.55, p. 44-48, 1994.

MATSUMOTO, K.; TAGUCHI, S. Enzyme and metabolic engineering for the production of novel biopolymers: Crossover of biological and chemical processes. *Current Opinion in Biotechnology*. v. 24, p. 1054-1060, 2013.

MAXIQUIM. MMO Biopolymer 2013. Porto Alegre, 2013.

MELLO, Ivana L.; COUTINHO, Fernanda M. B.; DELPECH, Marcia C.; ALBINO, Fernanda F. M.; SANTOS, Sânia M. Polibutadieno alto-cis: estudo viscométrico em tolueno e ciclohexano. *Revista Polímeros*. v.16, n.1, 2006.

MODI, Sunny; KOELLING, Kurt; VODOZOTZ, Yael. Assessment of PHB with varying hydroxyvalerate content for potential packaging applications. *European Polymer Journal*. Elsevier, V.47, n.2, p179-186, Fev. 2011.

MOLINARI, Davi. Empresa inovadora desenvolve plástico biodegradável. Portal Funcap Ciência, Fortaleza, Dez. 2008. Disponível em: < <http://funcapciencia.funcap.ce.gov.br/noticias/empresa-inovadora-desenvolve-plastico-biodegradavel/?searchterm=phb> >. Acessado em: Abril de 2014.

MONTESANO, F. F.; PARENTE, A.; SANTAMARIA, P.; SANNINO, A.; SERIO, F. Biodegradable superabsorbent hydrogel increases water retention properties of growing media and plant growth. *Agriculture and agricultural science procedia*. v.4, p. 451-458, 2015.

MORAES, Maria Flávia V. de. Produção e Caracterização de blenda polimérica biodegradável Poli(hidroxi-butarato) [PHB] / co-poliéster alifático aromático [ECOFLEX®] para aplicação em embalagem. 2004, 134 f. Dissertação (Mestrado em engenharia de materiais) – REDEMAT, Universidade Federal de Ouro Preto, da Fundação de Tecnologia do Estado de Minas Gerais, e da Universidade do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2004.

MUZZARELLI, R. A. A. Genipin-crosslinked chitosan hydrogels as biomedical and pharmaceutical aids. *Carbohydrate Polymers*, v. 77, p.1-9, 2009.

NAGIAH, N.; MADHAVI, L.; ANITHA, R.; ANANDAN, C.; SRINIVASAN, N. T.; SIVAGNANAM, U. T. Development and characterization of coaxially electrospun gelatin coated poly (3-hydroxybutyric acid) thin films as potential scaffolds for skin regeneration. *Materials Science and Engineering C*, v.33, p.4444–4452, 2013.

NASCIMENTO, Jefer F. do. Estudo da processabilidade e da caracterização do poli (ácido 3-hidroxi-butírico) – PHB obtido a partir da cana-de-açúcar. 2001, 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Materiais) – Faculdade de Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2001.

NAVROSKI, M. C.; ARAUJO, M. M.; FLOR, C. S.; CUNHA, F. S.; BERGHETTI, A. L. P.; PEREIRA, M. O. Uso de hidrogel possibilita redução da irrigação e melhora o crescimento inicial de mudas de eucalyptus dunnii maiden. *Sci. For.* v.43, n.106, p.467-476, 2015.

NAZ, M. Y.; SULAIMAN, S. A. Slow release coating remedy for nitrogen loss from conventional urea: a review. *Journal Control Release*, v.225, p. 109-120, 2016.

NEO, Y. P.; EASTEL, A. J.; NIKOLAIDIS, M. G.; QUEK, S. Y. Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter. *Journal of Food Engineering*. n.109, p.645-651, 2012.

NEPPALLI, R.; MAREGA, C.; MORIGO, A.; BAJGAI, M. P.; KIM, H. Y.; CAUSIN, V.. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) filled with electrospun nylon fibers: A model for a facile composite fabrication. *European Polymer Journal*. n.46, p.968-976, 2010.

NGUYEN, Thi-Hiep; LEE, Boyong-Taek. Fabrication and characterization of cross-linked gelatin electro-spun nano-fibers. *J. Biomedical Science and Engineering*. v.3, p.1117-1124, 2010.

NI, Xiaoyu; Wu, Yueji; WU, Zhengyan; WU, Lin; QIU, Guannan; YU, Lixiang. A novel slow-release urea fertiliser: Physical and chemical analysis of its structure and study of its release mechanism. *Biosystems Engineering*. n.115, p.274-282, 2013.

NORMAND, V.; MULLER, S.; RAVEY, J.-C.; PARKER, A. Gelation kinetics of gelatin: a master curve and network modelling. *Macromoleculer*. v.33, p.1063-1071, 2000.

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

OLIVEIRA, Paulo Miranda. Desenvolvimento e caracterização de biocompósito de matriz polimérica de PHB reforçado com HAP-91®. 2005, 148f. Dissertação (Mestrado em engenharia de materiais) – REDEMAT, Universidade Federal de Ouro Preto, da Fundação de Tecnologia do Estado de Minas Gerais, e da Universidade do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2005.

OYEN, M. L. Mechanical characterization of hydrogel materials. *International Materials Reviews* 2014. v.59, n.1, p.44-59, 2014.

OZEKI, M.; TABATA, Y. In vivo degradability of hydrogels prepared from different gelatins by various cross-linking methods. *J. Biometer Sci. Polym. Ed.* v.16, p.549-561, 2005.

PACHEKOSKI, W.M.; DALMOLIN, C.; AGNELLI, J.A.M. The influence of the industrial processing on the degradation of poly(hidroxybutyrate) - PHB. *Materials Research.* v.16, n.2, p.327-332, 2013.

PAGNAN, Caroline Salvan. Análise da ação de colorants naturais na propriedade de biodegradação do Poli(hidroxibutirato) – PHB. 2014, 86f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – REDEMAT, Universidade Federal de Ouro Preto, da Fundação de Tecnologia do Estado de Minas Gerais, e da Universidade do Estado de Minas Gerais. Ouro Preto, 2014.

PARK, J. W.; WHITESIDE, W. S.; CHO, S. Y. Mechanical and water vapor barrier properties of extruded and heat-pressed gelatin films. *LWT – Food Sci, Tech.* v.41, n.4, p.692-700, 2008.

PASCU, Elena I.; STOKES, Joseph, McGUINNESS, Garret B. Electrospun composite of PHBV, silk fibron and nano-hydroxyapatite for boné tissue engineering. *Materials Science and Engineering C.* n.33, p.4905-4916, 2013.

PHAM, Quinh P.; HARMA, Upma; MIKOS, Antonios G. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review. *Tissue Engineering,* n.5, v.12, 2006.

PINTO, C.E.; ARIZAGA, G.G.; WYPYCH, F.; RAMOS, L.F.; SATYANARAYANA, K.G. Studies of the effect of molding pressure and incorporation of sugarcane bagasse fibers on the structure and properties of poly(hydroxybutyrate). *Composites. Part A, Applied Science and Manufacturing.* v. 40, p.573-582, 2009.

PRADELLA, José Geraldo da Cruz. Biopolímeros e intermediários químicos. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Relatório Técnico nº 84 396-205. São Paulo: Março de 2006.

PULAT, M.; AKALIN, G. O.; Preparation and characterization of gelatin hydrogel support for immobilization of *Candida rugosa* lipase. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology,* v. 41, n.3, p.145-151, 2013.

RAFIQUE, A.; ZIA, K. M.; ZUBER, M.; TABASUM, S.; REHMAN, S. Chitosan Functionalized poly(vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: a review. *International Journal of Biological Macromolecules.* v.87, p.141-154, 2016.

RAMIER, Julien; BOUDERLIQUE, Thibault; STOILOVA, Olya; MANOLOVA, Nevena; RASHKOV, Iliya; LANGLOIS, Valérie; RENARD, Estelle; ALBANESE, Patricia; GRANDE,

Daniel. Biocomposite scaffolds based on electrospun poly(3-hydroxybutyrate) nanofibers and electrospayed hydroxyapatite nanoparticles for bone tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering C*. n.38, p.161-169, 2014.

RANI, A.; MONGA, S.; PRABHAKAR, M.; SHARMA, A. Reinforcing thermoplastic starch composites with cellulose nanofibers. *Plastics Research on line*. p. 1-4, 2016. Disponível em: <http://www.4spepro.org/pdf/006673/006673.pdf>. Acessado em: Out 2016.

RATTANAMANEE, A.; NIAMSUP, H.; SRISOMBAT, L.O.; PUNYODOM, W.; WATANESK, R.; WATANESK, S. Role of Chitosan on Some Physical Properties and the Urea Controlled Release of the Silk Fibroin /Gelatin Hydrogel. *Journal of Polymers and the Environment*, v.23, p.334-340, 2015.

REHMAN, A.; AHMAD, R.; SAFDAR, M. Effect of hydrogel on the performance of aerobic rice sown under different techniques. *Plant Soil Environment*. v. 57, n.7, p.321-325, 2011.

RENEKER, Darrell H.; YARIN, Alexander L.. Electrospinning jets and polymer nanofibers. *Polymer*. v.49, p.2387-2425, 2008.

RIGHETTI, M. C.; DI LORENZO, M. L. Melting temperature evolution of non-reorganized crystals. Poly(3-hydroxybutyrate). *Thermochimica Acta*. v.512, n.1, p.59-66, 2011.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci*. v.31, p.603–632, 2006.

ROKHADE, A. P.; PATIL, S. A.; AMINABHAVI, T. M.; *Carbohydr. Polym.* v.67, p.605, 2007.

ROSA, D. S.; PANTANO FILHO, R. Biodegradação um ensaio com polímeros. 122p. São Paulo: Mora, 2003.

RUDNIK, Ewa. Compostable polymer materials: Definitions, structure and methods of preparation. chapter 10, p. 189-212. In: *Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: properties, processing and applications*. p. 462, Elsevier, 2013.

RULE, R. J.; LIGGAT, J. J. Time-resolved synchrotron small angle X-ray scattering studies of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) polymers. *Polymer*. v.36, n.20, p.3831-3840, 1995.

SAKAI, S.; TAKAGI, Y.; YAMADA, Y.; YAMAGUCHI, T.; KAWAKAMI, K. (2008) Reinforcement of porous alginate scaffolds by incorporating electrospun fibres. *Biomed. Mater.* 3 034102 (6pp)

SAVCI, Serpil. Investigation of effect of chemical fertilizers on environment. *APCBEE Procedia*. n.1, p.287-292, 2012.

SIEMANN, Ulrich. Solvent cast technology – a versatile tool for thin film production. *Progr Colloid Polym Sci*. v.130, p.1-14, 2005

SILVA, Thadeu; LODI, Ana Luiza; ORLOVICIN, Natália. Consumo de macronutrientes (NPK) deve ser de 13,054 toneladas em 2013. Comodity Insight. Maio de 2013.

SIN, L. T.; RHMAT, A. R.; RAHMAN, A. W. A.. Overview of Poly(lactic Acid). chapter 2, p. 11-52. In: Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: properties, processing and applications. p. 462, Elsevier, 2013.

SISSON, K., C.Z., FARACH-CARSON, M.C., CHASE, D.B. AND RABOLT J.F. Evaluation of cross-linking methods for electrospun gelatin on cell growth and viability. Bio-macromolecules, v.10, 2009.

SOMBATMANKHONG, K.; SUWANTONG, O.; WALEETORNCHEEPSAWAT, S.; SUPAPHOL, P.. Electrospun fiber mats of poly(3-hydroxybutyrate), poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate), and their blends. Wiley InterScience, p. 2923-2933, 2006.

SORRENTINO, Andrea; GORRASI, Giuliana; VITTORIA, Vittoria. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. Trends in Food Science & Technology. Amsterdam: Elsevier, v.18, n.2, p84-95, 2007.

SUN, X. S.. Overview of plant polymers: resources, demands and sustainability. Chapter 1, p. 1-10. In: Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: properties, processing and applications. p.462, Elsevier, 2013.

SUWANTONG, Orawan; WALEETORNCHEEPSAWAT, Suchada; SANCHAVANAKIT, Neeracha; PAVASANT, Prasit; CHEEPSUNTHORN, Poonlarp; BUNAPRASERT, Tanom; SUPAPHOL, Pitt. In vitro biocompatibility of electrospun poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fiber mats. International Journal of Biological Macromolecules. n.40, p.217-223, 2007.

SZCZESNIAK, Alina S.; MacALLISTER, Robert V. Study of gelatin gels and the effect of urea on their formation. Journal of applied polymer science. v.8, p.1291-1401, 1964.

TANUMA, H.; SAITO, T.; NISHIKAWA, K.; DONG, T.; YAZAWA, K.; INOUE, Y. Preparation and characterization of PEG-cross-linked chitosan hydrogel films with controllable swelling and enzymatic degradation behavior. Carbohyd Polym. v.80, p.260-265, 2010.

TERADA, Mikio; MARCHESSAULT, R. H.. Determination of solubility parameters for poly(3-hydroxyalkanoates). International Journal of Biological Macromolecules. n.25, p.207-215, 1999.

TERAO, K.; NAGASAWA, N.; NISHIDA, H.; FURUSAWA, K.; MORI, Y.; YOSHII, F.; DOBASHI, T. Reagent-free crosslinking of aqueous gelatin manufacture and characteristics of gelatin gels irradiated with gamma-ray and electron beam. J. Biometer Sci. Polym. Ed. v.22, n.11, p.1197-1208, 2003.

TRAN, C. D.; DURİ, S.; DELNERI, A.; FRANKO, M. Chitosan-cellulose composite materials: preparation, characterization and application for removal of microcystin. Journal of Hazardous Materials. v. 252, p. 355-366, 2013.

TSAI, C.-Y.; WOUNG, L.-C.; YEN, J.-C.; TSENG, P.-C.; CHIOU, S.-H.; SUNG, Y.-J.; LIU, K.-T.; CHENG, Y.-H. Thermosensitive chitosan-based hydrogels for sustained release of ferulic acid on corneal wound healing. *Carbohydrate Polymers*, v.135, p.308–315, 2016.

ULLAH, F.; OTHMAN, M. B. H.; JAVED, F.; AHMAD, Z.; AKIL, H. M. D. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering C*, v.57, p.414–433, 2015.

UMAÑA, E.; OUGIZAWA, T.; INOUE, T. Preparation of new membranes by complex formation of itaconic acid–acrylamide copolymer with polyvinylpyrrolidone: studies on gelation mechanism by light scattering. *Journal of Membrane Science*. v.157, p.85-96, 1999.

URANGA, J.; LECETA, I.; ETXABIDE, A.; GUERRERO, P.; DE LA CABA, K. Cross-linking of fish gelatins to develop sustainable films with enhanced properties. *European Polymer Journal*, v.78, p. 82-90, 2016.

URICANU, V. I.; DUITTS, M. H. G.; NELISSEN, R. M. F.; BENNINK, M. L.; MELLEMA, J. Local structure and elasticity of soft gelatin gels studied with atomic force microscopy. *Langmuir*. v.19, p.8182-8194, 2003.

VALERO-VALDIVIESO, M. F.; ORTEGÓN, Y.; USATEGUI, Y. Bipolímeros: Advances y Perspectivas. *Dyna*, año 80, n.181, p. 171-180, 2013.

VELEIRINHO, Beatriz; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; LOPES-DA-SILVA, J. A. Processing conditions and characterization of novel electrospun poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)/chitosan blend fibers. *Materials Letters*. n. 65, p.2216-2219, 2011.

VASCONCELOS, Yuri. Plástico de Açúcar. FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. *Novos Materiais: Revista Ed. 80 – 10/2002*. Disponível em: < <http://www.revistapesquisa.fapesp.br/?art=1967&bd=1&pg=1&lg=> >. Acessado em: Abril de 2014.

VISSER, J.; MELCHELS, F. P. W.; JEON, J. E.; BUSSEL, E. M.; KIMPTON, L. S.; BYRNE, H. M.; DHERT, W. J. A.; DALTON, P. D.; HUTMACHER, D. W.; MALDA, J. Reinforcement of hydrogels using three-dimensionally printed microfibrils. *Nature Communications*. v. 6, p.6933, 2015.

VOLOVA, T. G.; PRUDNIKOVA, S. V.; BOYANDIN, A. N. Biodegradable poly-3-hydroxybutyrate as a fertilizer carrier. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 96, n. 12, p. 4183-4193, 2016.

WANG, Chi; et. al.. How to manipulate the electrospinning jet with controlled properties to obtain uniform fibers with the smallest diameter? – a brief discussion of solution electrospinning process. *Journal Polymer Research*. v.18, p.111-123, 2011.

WANG, Chi; HSU, Chia-Hung; HWANG, I.-Hwe. Scaling laws and internal structure for characterizing electrospun poly[(r)-3-hydroxybutyrate] fibers. *Polymers*. n.49, p.4188-4195, 2008.

WANG, H.; FU, G.; LI, X.. Functional Polymeric Nanofibers from Electrospinning. *Recent Patents on Nanotechnology*. Vol. 3. p. 21-31. Bentham Science, 2009.

WANG, Q.; CHEN, D. Synthesis and characterization of a chitosan based nanocomposite injectable hydrogel. *Carbohydrate Polymers*, v. 136, p. 1228–1237, 2016.

WENDHAUSEN, Paulo A. P. Análises Térmicas. Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia Mecânica. Disciplina: Caracterização de materiais III. Disponível em: < [www.materiais.ufsc.br/Disciplinas/EMC5733/Apostila.pdf](http://www.materiais.ufsc.br/Disciplinas/EMC5733/Apostila.pdf) >. Acessado em: Abril de 2014.

WU, Lan; LIU, Mingzhu. Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water retention. *Carbohydrate Polymers*. n.72, p.240-247, 2008.

XU, J.; GUO, B. H.; YANG, R.; WU, Q.; CHEN, G. Q.; ZHANG, Q. M. In situ FTIR study on melting and crystallization of polyhydroxyalkanoates. *Polymer*. v.43, p.6893-6899, 2002.

XUE, Chen; WILSON, Lee D. Kinetic study on urea uptake with chitosan based sorbent materials. *Carbohydrate Polymers*. v.135, p.180-186, 2016.

YANG, D.; ZHANG, J.; XUE, J.; NIE, J.; ZHANG, Z. Electrospinning of Poly(3-hydroxybutyrate--3-hydroxyvalerate) nanofibers with feature surface microstructure. *Journal of Applied Polymer Science*. v. 127, n.4, p.2867-2874, 2012.

YATES, M. R.; BARLOW, C. Y. Life cycle assessments of biodegradable, comercial biopolymers – A critical review. *Resources, Conservation and Recycling*. v.78, p.54-66, 2013.

YU, Wen; LAN, Chin-Hung; WANG, Shao-Jie; FANG, Peng-Fei; SUN, Yi-Ming. Influence of zinc oxide nanoparticles on the crystallization behavior of electrospun poly(3-hidrixybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanofibers. *Polymer*. n.51, p.2403-2409, 2010.

ZHANG, J.; SATO, H.; NODA, I.; OZAKI, Y. Conformation rearrangement and molecular dynamics of poly(3-hydroxybutyrate) during the melt-crystallization process investigated by infrared and two-dimensional infrared correlation spectroscopy. *Macromolecules*. v.38, p.4274-4281, 2005.

ZHIJIANG, C.; CHENGWEI, H.; GUANG, Y. Crystallization behavior, thermal property and biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(ethylene glycol) grafting copolymer. *Polymer Degradation & Stability*. v.96, p.1602-1609, 2011.

ZOHURIAAN-MEHR, M. J.; KABIRI, K. Superabsorbent polymer materials: a review. *Iranian Polymer Journal*, v.17, n.6, p.451-477, 2008.

## 8 ANEXOS

### 8.1 Lista de equipamentos utilizados nos ensaios

#### *Aagitador magnético*

Marca TECNAL, Modelo 085. Laboratório: FabLab Design – Centro Design Empresa – UEMG.

#### *Microscópio Eletrônico de Varredura - MEV*

Marca TESCAN, Modelo Vega 3LM. Laboratório: CBEIH – Centro de Bioengenharia de Espécies Invasoras de Hidrelétricas.

#### *Espectroscopia no infravermelho - FTIR*

Marca Shimadzu, modelo IRAffinity-1S. Laboratório: LEPCoM – Laboratório de Estudos em polímeros e compósitos – UFMG.

#### *Análise Termogravimétrica - TGA*

Marca Shimadzu, modelo DTG-60H. Laboratório: LEPCoM – Laboratório de Estudos em polímeros e compósitos – UFMG.

#### *Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC*

Marca Shimadzu, modelo DSC-60. Laboratório: LEPCoM – Laboratório de Estudos em polímeros e compósitos – UFMG.

#### *Difratômetro de Raio X - DRX*

Marca Shimadzu, Modelo XRD-7000. Laboratório: LEPCoM – Laboratório de Estudos em polímeros e compósitos – UFMG.

#### *Ensaio Mecânicos Universais – Tração*

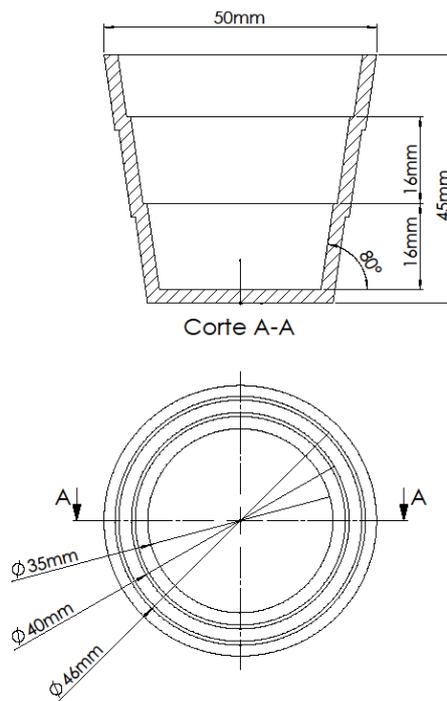
Marca EMIC, modelo DL-3000. Laboratório: FabLab Design – Centro Design Empresa – UEMG.

### *Espectrofotometria na região ultravioleta e visível (UV-Vis)*

Marca Shimadzu, modelo UV-2600 equipado com sistema de resfriamento TCC-240A.

Laboratório: LEPCoM – Laboratório de Estudos em polímeros e compósitos – UFMG.

## 8.2 Projeto técnico do artefato para liberação prolongada



## 8.3 Deconvolução do Espectro FTIR

