

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ELETROFIAÇÃO DE QUITOSANA E POLI(ÓXIDO DE ETILENO)
COM INCORPORAÇÃO DE ACETATO DE ITÉRBIO E
CORANTES FLUORESCENTES**

Cristiane Guellis

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ELETROFIAÇÃO DE QUITOSANA E POLI(ÓXIDO DE ETILENO)
COM INCORPORAÇÃO DE ACETATO DE ITÉRBIO E
CORANTES FLUORESCENTES**

Cristiane Guellis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/*Campus* Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador: Cleber Antonio Lindino

Coorientador: Douglas Cardoso Dragunski

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Guellis, Cristiane

Eletrofiação de quitosana e poli(óxido de etileno) com incorporação de acetato de itérbio e corantes fluorescentes / Cristiane Guellis; orientador(a), Cleber Antonio Lindino; coorientador(a), Douglas Cardoso Dragunski, 2019.
71 f.

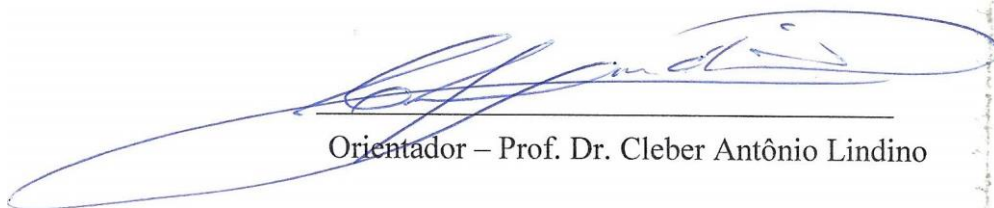
Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019.

1. Biopolímero. 2. Blenda polimérica. 3. Nanofibras. I. Lindino, Cleber Antonio. II. Dragunski, Douglas Cardoso. III. Título.

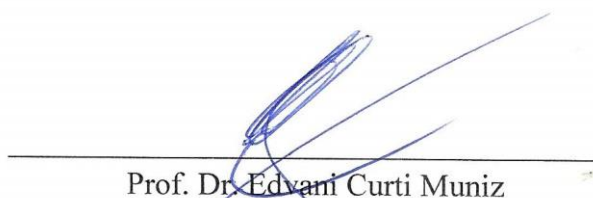
CRISTIANE GUELLIS

Eletrofiação de quitosana e poli(óxido de etileno) com incorporação de acetato de itérbio e corantes fluorescentes

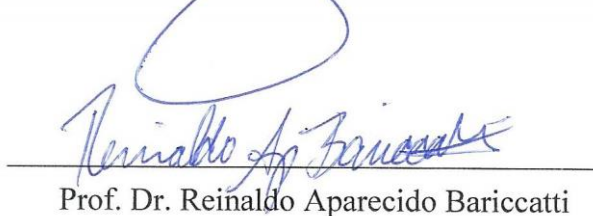
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química, linha de pesquisa Química Analítica e Ambiental (QAA), APROVADA pela seguinte banca examinadora:



Orientador – Prof. Dr. Cleber Antônio Lindino



Prof. Dr. Edvani Curti Muniz



Prof. Dr. Reinaldo Aparecido Bariccatti

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a Deus, que tudo providenciou para que pudesse concluir este trabalho.

Aos meus pais, pelo esforço em me conceder a oportunidade que me levou a concluir mais essa conquista. Em especial, à memória deste que hoje não está mais comigo, mas que foi de fundamental importância para mim, amado pai, que esteja com Deus.

Dedico também ao meu sobrinho afilhado, que me impulsiona a continuar trilhando este caminho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente, e acima de tudo, a Deus, que me concedeu o privilégio de viver e conviver entre essas pessoas que são o alicerce dessa conquista.

Ao meu orientador, Professor Dr. Cleber Antonio Lindino, por quem tenho grande admiração, agradeço pela disponibilidade, empenho, paciência, dedicação e por todo o conhecimento transmitido. És um excelente professor e também orientador.

Ao meu coorientador, Professor Dr. Douglas Cardoso Draguski, por todos os anos de aprendizagem até aqui.

Aos professores membros da banca examinadora, pelas contribuições.

Aos meus familiares, pela oportunidade de tornar essa conquista possível.

A todos os amigos que conquistei nesse caminho, pela amizade, diversão, aprendizado e convivência que muito me estimularam nessa jornada.

Em especial, meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de forma prestativa me ajudaram com os trabalhos realizados tornando possível a conclusão desta pesquisa.

À Universidade Estadual de Maringá, pela colaboração com este trabalho.

À CAPES e a Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	15
2 - OBJETIVOS.....	17
2.1 - OBJETIVO GERAL	17
2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 - ELETROFIAÇÃO	18
3.1.1 - PARÂMETROS DE ELETROFIAÇÃO	19
3.1.1.1 - PARÂMETROS DE PROCESSAMENTO	19
3.1.1.2 - FATORES AMBIENTAIS	20
3.1.1.3 - PROPRIEDADES DO POLÍMERO E SOLUÇÃO	21
3.1.2 - QUITOSANA	23
3.1.3 - POLI(ÓXIDO DE ETILENO)	24
3.2 - ITÉRBIO	25
3.3 - CORANTES	26
3.3.1 - ALARANJADO DE ACRIDINA	26
3.3.2 - FLUORESCÉINA.....	26
3.3.3 - ERITROSINA.....	27
3.3.4 - AGREGAÇÃO	28
3.3.5 - FLUORESCÊNCIA	29
3.3.6 - EXCÍMERO.....	30
4 - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	31
4.1 - PREPARO DAS SOLUÇÕES.....	31
4.2 - OBTENÇÃO DAS FIBRAS POLIMÉRICAS	31
4.3 - PLANEJAMENTO FATORIAL	32
4.4 - OBTENÇÃO DOS FILMES ELETROFIADOS.....	33
4.5 - OBTENÇÃO DE FILME POR CASTING	33
4.6 - INCORPORAÇÃO DOS CORANTES NOS FILMES ELETROFIADOS	34
4.7 - INCORPORAÇÃO DO ITÉRBIO NO FILME ELETROFIADO	34
4.8 - CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL	34

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 - OBTENÇÃO DAS FIBRAS POLIMÉRICAS	36
5.2 - PLANEJAMENTO FATORIAL	39
5.3 - OBTENÇÃO DO FILME ELETROFIADO	43
5.4 - INCORPORAÇÃO DOS CORANTES NOS FILMES ELETROFIADOS	46
5.5 - INCORPORAÇÃO DO ITÉRBIO NO FILME ELETROFIADO	51
5.6 - CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL	54
6 - CONCLUSÃO	65
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

LISTA DE ABREVIATURAS

λ	Comprimento de onda
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
%	Porcentagem
μm	Micrômetro (10^{-6} metros)
ATR	Reflexão total atenuada
cm	Centímetro
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DRX	Difração de Raios X
DTG	Termogravimetria derivada
FRX	Espectroscopia de fluorescência de Raios X
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
g	Gramas
h	Hora
kV	Quilovolts
m/m	Razão massa por massa
m/v	Razão massa por volume
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
min	Minutos
mL	Mililitro
nm	Nanômetro (10^{-9} metros)
PEO	Poli(óxido de etileno)
Qt	Quitosana
TGA	Análise termogravimétrica
T_c	Temperatura de cristalização
T_f	Temperatura de fusão
UV-vis	Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Esquema do equipamento de eletrofiação utilizando bomba de infusão e coletor plano.....	19
Figura 3.2: Aspecto morfológico dos beads formados nas fibras eletrofiadas.....	20
Figura 3.3: Fórmulas estruturais da quitina e da quitosana.....	23
Figura 3.4: Fórmula estrutural do poli(óxido de etileno).	25
Figura 3.5: Fórmula estrutural do corante alaranjado de acridina.	26
Figura 3.6: Fórmula estrutural do corante fluoresceína (a) e fluoresceína sódica (b).....	27
Figura 3.7: Fórmula estrutural do corante eritrosina (sal sódico).....	27
Figura 3.8: Geometria dos agregados do tipo H, J e HJ.....	28
Figura 3.9: Diagrama de Jablonski.	29
Figura 5.1: Possíveis interações, por ligação de hidrogênio, entre moléculas de quitosana e PEO	37
Figura 5.2: Imagens de microscopia ótica das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 1% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzidas sob tensão aplicada de 15 kV e distância de 20 cm entre agulha e o coletor, vistas com a objetiva de 100x/1,25.....	38
Figura 5.3: Diagrama do planejamento fatorial 2^4 mostrando a influência dos fatores concentração da solução % m/v (A), proporção do PEO % m/m (B), distância cm (C) e tensão kV (D) no diâmetro das fibras de quitosana e PEO produzidas.	40
Figura 5.4: Gráfico de Pareto do planejamento fatorial 2^4 mostrando os efeitos dos fatores concentração da solução % m/v (X1), proporção do PEO % m/m (X2), distância cm (X3) e tensão kV (X4) no diâmetro das fibras de quitosana e PEO produzidas.	42
Figura 5.5: Superfície de resposta para o diâmetro das fibras poliméricas em função da concentração da solução (% m/v) versus proporção do PEO (% m/m), tendo como distância 15 cm e tensão 15 kV.....	43
Figura 5.6: Imagens de microscopia ótica das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzidas sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas com as objetivas de 40x/0,65 (a) e 100x/1,25 (b).	44
Figura 5.7: Histograma representativo da distribuição do diâmetro das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzidas sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	44
Figura 5.8: Fotografia do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	45
Figura 5.9: Imagens de microscopia eletrônica de varredura do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas em ampliações de 3000x – 50 μ m (a) e 10000x – 10 μ m (b).	45
Figura 5.10: Fotografia dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica	

(c), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	46
Figura 5.11: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a/a'), eritrosina (b/b') e fluoresceína sódica (c/c'), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas em ampliações de 3000x – 30 µm (esquerda) e 10000x – 10 µm (direita).	47
Figura 5.12: Espectros de absorção das soluções dos corantes alaranjado de acridina (—), eritrosina (—) e fluoresceína sódica (—), a 0,001% m/v em água purificada.	48
Figura 5.13: Espectros de refletância dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, sem (—) e com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (—), eritrosina (—) e fluoresceína sódica (—), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	49
Figura 5.14: Espectros de emissão (—) e excitação (—) dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	50
Figura 5.15: Fotografia da fluorescência na luz negra dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	51
Figura 5.16: Imagens de microscopia ótica das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 3% em relação a massa dos polímeros de acetato de itérbio III, produzidas sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas com as objetivas de 40x / 0,65 (a) e 100x / 1,25 (b).	51
Figura 5.17: Fotografia do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 3% em relação a massa dos polímeros de acetato de itérbio III, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.	53
Figura 5.18: Imagens de microscopia eletrônica de varredura do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 3% em relação a massa dos polímeros de acetato de itérbio III, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas em ampliações de 3000x – 30 µm (a) e 10000x – 10 µm (b).	53
Figura 5.19: Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) obtidos utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) para as amostras em pó de quitosana (a) e PEO (b) e reflexão total atenuada (ATR) para os filmes produzidos por eletrofiação (c), casting quitosana e PEO (d) e casting quitosana (e).	55
Figura 5.20: Fotografia do filme obtido pelo método de casting da solução de quitosana e PEO a 2% m/v e proporção 90:10% m/m.	56
Figura 5.21: Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), obtidos utilizando a técnica de reflexão total atenuada (ATR), dos filmes eletrofiados sem (a) e com	

a incorporação dos corantes alaranjado de acridina (b), eritrosina (c) e fluoresceína sódica (d).	56
Figura 5.22: Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), obtidos utilizando a técnica de reflexão total atenuada (ATR), dos filmes eletrofiados sem (a) e com a incorporação de acetato de itérbio III (b).	57
Figura 5.23: Curvas termogravimétricas — (TGA) e derivada das curvas de degradação — (DTG) das amostras em pó de quitosana (a) e PEO (b) e dos filmes produzidos por eletrofiado (c) e casting quitosana e PEO (d).	58
Figura 5.24: Curvas termogravimétricas — (TGA) e derivada das curvas de degradação — (DTG) dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c).	59
Figura 5.25: Curvas termogravimétricas — (TGA) e derivada das curvas de degradação — (DTG) do filme eletrofiado com incorporação de acetato de itérbio III.	60
Figura 5.26: Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) das amostras em pó de quitosana (a) e PEO (b), e dos filmes produzidos por eletrofiado (c) e casting quitosana e PEO (d).	61
Figura 5.27: Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) fluoresceína sódica (c) e acetato de itérbio III (d).	62
Figura 5.28: Difrátogramas de raios X das amostras em pó de PEO (a) e quitosana (b), dos filmes produzidos por eletrofição (c) e casting quitosana e PEO (d), dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes alaranjado de acridina (e), eritrosina (f) e fluoresceína sódica (g), da amostra pura de acetato de itérbio III (h) e do filme eletrofiado com incorporação do acetato de itérbio III (i), obtidos na varredura do ângulo 2θ de 5° a 60° , com incremento de $0,02^\circ$	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial.....	32
Tabela 5.1: Diâmetro médio e desvio padrão das fibras eletrofiadas sob diferentes parâmetros e em diversas concentrações e proporções de quitosana e PEO.	38
Tabela 5.2: Matriz do planejamento fatorial 2^4 , com as variáveis codificadas e reais tendo como resposta o diâmetro médio e o desvio padrão das fibras eletrofiadas.	39
Tabela 5.3: Matriz do planejamento fatorial 2^4 , realizado utilizando o <i>software chemoface</i> , com as variáveis reais tendo como resposta o diâmetro médio das fibras eletrofiadas. ...	41
Tabela 5.4: Estimativa dos efeitos, erros padrão e teste t de Student para o diâmetro das fibras eletrofiadas de acordo com o planejamento fatorial 2^4	41
Tabela 5.5: Comprimentos de ondas de máxima absorção dos corantes em solução e nos filmes eletrofiados.....	49
Tabela 5.6: Diâmetro médio e desvio padrão das fibras eletrofiadas sem e com a incorporação de acetato de itérbio III produzidas sob diferentes parâmetros de eletrofiação.	52
Tabela 5.7: Principais bandas na região do infravermelho das amostras em pó de quitosana e PEO obtidas utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr).....	54
Tabela 5.8: Temperaturas e entalpias de fusão e cristalização e porcentagem de cristalinidade da amostras.....	63

ELETROFIAÇÃO DE QUITOSANA E POLI(ÓXIDO DE ETILENO) COM INCORPORAÇÃO DE ACETATO DE ITÉRBIO E CORANTES FLUORESCENTES

Cristiane Guellis

RESUMO

A eletrofiação é uma técnica que emprega forças eletrostáticas para produzir micro e nanofibras poliméricas. Diante disso, neste trabalho reporta-se o estudo da eletrofiação de quitosana (Qt) e de poli(óxido de etileno) (PEO). Para isso, soluções compostas de quitosana e PEO foram preparadas em solução aquosa de ácido acético 90% v/v, nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% m/v, nas proporções de Qt:PEO de 90:10 e 95:05% m/m. Para o estudo dos parâmetros que influenciam a eletrofiação, foram realizados testes variando a tensão em 15, 18, 21 e 23 kV e a distância em 15, 18 e 20 cm, sendo a vazão mantida constante em 0,5 mL h⁻¹. As condições ótimas foram concentração de 2% m/v, proporção 90:10% m/m, tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm. De acordo com as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), o filme eletrofiado nessas condições apresentou diâmetro médio de $0,2855 \pm 0,0508$ μm . Para aplicação do material produzido realizou-se a incorporação de 2% dos corantes fluorescentes alaranjado de acridina, eritrosina ou fluoresceína sódica e de 3% de acetato de itérbio III em relação a massa dos polímeros. A incorporação dos corantes foi comprovada pelos espectros de refletância nos comprimentos de ondas próximos à máxima absorção dos corantes em solução. A análise de espectrofluorimetria evidenciou a fluorescência do material. No caso do itérbio, a comprovação da incorporação por espectroscopia de fluorescência de raios X (FRX), indicou que a porcentagem em massa desse material é de 4,4% dos 3% de acetato de itérbio III incorporado em relação a massa dos polímeros. Na caracterização dos filmes por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) verificou-se interações do grupamento amina da quitosana com os componentes da mistura. Na análise de termogravimetria (TGA) observou-se, mediante a comparação com o método de *casting*, alteração na temperatura de degradação dos polímeros conforme o método de obtenção dos filmes poliméricos. Além disso, pela análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) constatou-se que a quitosana altera as temperaturas de fusão e cristalização do PEO, devido a interação entre os polímeros. Por fim, com a técnica de difração de raios X (DRX) foi possível verificar que os filmes são amorfos.

Palavras-chave: biopolímero; blenda polimérica; nanofibras.

ELECTROSPINNING OF CHITOSAN AND POLY(ETHYLENE OXIDE) WITH YTTERBIUM ACETATE AND FLUORESCENT DYES INCORPORATION

Cristiane Guellis

ABSTRACT

Electrospinning is a technique that employs electrostatic forces to produce micro and nanofibers polymer. Therefore, in this work the study of the electrophysics of chitosan (Ch) and poly (ethylene oxide) (PEO) is reported. For this, solutions composed of chitosan and PEO were prepared in aqueous solution of acetic acid 90% v/v, at the concentrations of 1, 2, 3, 4 and 5% w/v, in the proportions of Ch:PEO of 90:10 and 95:05% w/w. For the study of the parameters that influence the electrospinning, tests were performed varying the voltage (kV) from 15, 18, 21 at 23 and the distance from 15, 18 to 20 cm, with the flow maintained constant 0.5 mL h⁻¹. The optimum conditions were concentration of 2% w/v, proportion 90:10% w/w, applied voltage of 18 kV and distance of 18 cm. According to the scanning electron microscopy (SEM) images, the electrospun film in these conditions had an average diameter of 0.2855 ± 0.0508 μm. For the application of the material produced, 2% of the fluorescent dyes acridine orange, erythrosine or fluorescein sodium and 3% of ytterbium III acetate in relation to the mass of the polymers were incorporated. The incorporation of the dyes was confirmed by the spectra of reflectance in the wavelengths close to the maximum absorption of the dyes in solution. Spectrofluorimetry analysis evidenced fluorescence of the material. In the case of ytterbium, proof of incorporation by X-ray fluorescence spectroscopy (FRX) indicated that the mass percentage of this material is 4.4 % of the 3% ytterbium III acetate incorporated in relation to the mass of the polymers. In the characterization of the films by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), interactions of the chitosan amine group with the components of the blend were observed. In the thermogravimetric analysis (TGA), it was observed, through the comparison with the casting method, a change in the degradation temperature of the polymers according to the method of obtaining the polymer films. In addition, differential scanning calorimetry (DSC) analysis showed that chitosan alters the melting and crystallization temperatures of PEO due to the interaction between the polymers. Finally, with the technique of X-ray diffraction (XRD) it was possible to verify that the films are amorphous.

Keywords: biopolymer; polymer blend; nanofibers.

1 - INTRODUÇÃO

Com o advento da nanotecnologia, o interesse pelo desenvolvimento de novos materiais tem aumentado exponencialmente. Uma das técnicas que emergiu deste cenário foi a eletrofiação, processo este que emprega a força eletrostática em soluções poliméricas para a produção de micro e nanofibras [1]. A versatilidade no uso das fibras produzidas por esse método tem levado a um aumento significativo das pesquisas voltadas ao emprego desta técnica.

Atualmente, a eletrofiação tornou possível produzir fibras de biomateriais, como a quitosana. A quitosana é polímero natural que tem despertado o interesse de cientistas e pesquisadores pela utilidade médica que possui. Ademais, a possibilidade da utilização desse polímero, produzido a partir de resíduos gerados pelos setores produtivos da Aquicultura e da Piscicultura, traz viabilidade econômica e contribui para reduzir drasticamente o acúmulo desse material no meio ambiente.

No caso específico desse biopolímero, ainda são necessários estudos envolvendo sua fiação, devido à dificuldade em se obter micro e nanofibras de quitosana pura [1,2]. Apesar do sucesso descrito por alguns autores, o uso de solventes de alto custo e grande toxicidade como o ácido trifluoroacético e o 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol, exige cuidados extras e instalações adequadas ao executar o processo de eletrofiação [2,3]. Assim, a substituição do ácido trifluoroacético por solventes menos agressivo proporciona a possibilidade de maior aplicabilidade, como também causa menor impacto ao ambiente. A utilização do ácido acético, considerado mais seguro e compatível com os princípios da Química Verde, é uma tentativa de reduzir os contaminantes e trabalhar por uma química mais sustentável.

Diante disso, na busca por contornar a dificuldade de eletrofiação da quitosana, muitos estudos vêm avaliando sua eletrofiação associada a outros polímeros, como o poli(óxido de etileno), PEO [1,2,4]. A combinação entre quitosana e PEO é uma estratégia bastante interessante que possibilita a obtenção de um material capaz de ser fiável e ao mesmo tempo ser composto, em sua maior proporção, por um polímero natural.

Atualmente, a produção de filmes eletrofiados compostos de quitosana, PEO e outro material incorporado é o que tem atraído o interesse de cientistas e pesquisadores.

Entretanto, estudos reportando a produção de fibras desse material contendo corantes fluorescentes são escassos na literatura e, portanto, se tornam interessantes de serem estudados. Nesse contexto, os corantes alaranjado de acridina, eritrosina e fluoresceína sódica se destacam pelo grande interesse médico que possuem. Além disso, a incorporação desses compostos, assim como de outros que contém elementos específicos como o itérbio (Yb), se justifica pelo potencial que possuem no desenvolvimento de novos materiais.

2 - OBJETIVOS

2.1 - OBJETIVO GERAL

Produzir filmes de quitosana e PEO pelo processo de eletrofição e incorporar os corantes fluorescentes alaranjado de acridina, eritrosina e fluoresceína sódica nos filmes a serem eletrofiados.

2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a influência dos parâmetros de eletrofição no processo de obtenção das fibras de quitosana e PEO;
- Incorporar acetato de itérbio III no filme a ser eletrofiado;
- Analisar a influência da incorporação dos corantes e do itérbio nos filmes de quitosana e PEO, sob os aspectos físico-químicos;
- Caracterizar os filmes quanto ao comportamento térmico por análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), a morfologia por microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), a cristalinidade por difração de raio X (DRX) e a estrutura química por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

3 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 - ELETROFIAÇÃO

A eletrofiação (no inglês *electrospinning*) é uma técnica relativamente antiga, mas que atualmente é bastante estudada. É um método para produzir fibras de micro a nano escala, capaz de formar filmes de elevada área superficial e alta porosidade [2]. As aplicações propostas para estas micro e nanofibras são cada vez mais diversas, tais como liberação controlada de fármacos, engenharia de tecidos, curativos, filtros e sensores [1].

De acordo com a literatura, embora estudos mais antigos sejam encontrados, o princípio da técnica de eletrofiação é atribuído a Formhals, pela série de patentes requeridas por ele ao longo dos anos de 1934 a 1944. Além disso, se considera o estudo de Taylor sobre jatos elétricos, realizado em 1969, uma base importante para a técnica. Apesar disso, foi somente em meados dos anos de 1990, que a eletrofiação começou a ser utilizada por Reneker e a partir daí passou a ser amplamente estudada até hoje [5].

Vista como uma técnica relativamente simples e versátil, a eletrofiação se baseia na aplicação do campo elétrico entre o tubo capilar, contendo a solução polimérica e o coletor [1,6].

Basicamente, o tubo, usualmente uma seringa, que contém a solução do polímero, é acoplado a uma bomba de infusão e conectado ao eletrodo positivo pela agulha capilar acoplada à seringa. Uma vez aplicado o campo elétrico, este influencia a superfície líquida na ponta do capilar e ali são geradas cargas elétricas, as forças de repulsão aparecem e agem de forma oposta à tensão superficial e a gota pendente se deforma inicialmente no cone de Taylor. À medida que se tem um campo elétrico forte, em que as forças de repulsão eletrostática superam a tensão superficial do líquido, um jato de fluido é ejetado da ponta do cone. Conforme a densidade de carga no jato interage com o campo elétrico produzindo sua instabilidade, ocorre também a evaporação do solvente e as fibras são depositadas no coletor que está ligado ao eletrodo negativo [5-8].

Variações na configuração do sistema de eletrofiação são possíveis, o que permite obter filmes de diferentes morfologias e geometrias. A solução polimérica presente na seringa, que é forçada a escoar pela agulha com o auxílio de uma bomba de infusão, é

depositada no coletor que pode ser plano e estacionário ou cilíndrico e rotativo [1]. A FIG. 3.1 apresenta um esquema básico do equipamento de eletrofiação, com utilização de bomba de infusão e coletor plano.

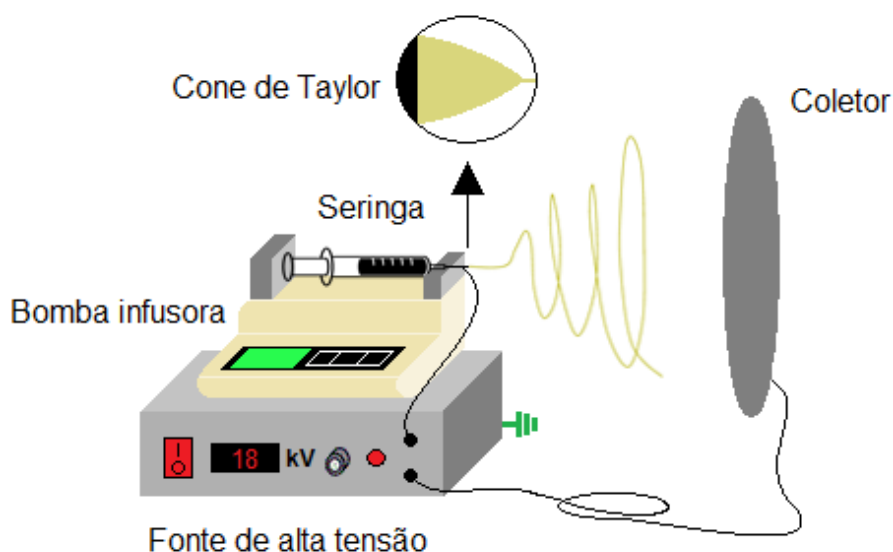


Figura 3.1: Esquema do equipamento de eletrofiação utilizando bomba de infusão e coletor plano. Elaborado pela autora.

Independentemente da configuração, é importante notar que, embora este processo seja relativamente simples, a produção de nanofibras depende dos diversos parâmetros de eletrofiação, tais como os de processamento, diâmetro interno da agulha, distância desta e o coletor, taxa de vazão e a tensão elétrica aplicada, os fatores ambientais, como temperatura e umidade relativa, e as propriedades do polímero e solução como concentração, massa molar, viscosidade, condutividade, tensão superficial, solvente e constante dielétrica [3,6,8,9].

3.1.1 - PARÂMETROS DE ELETROFIAÇÃO

3.1.1.1 - PARÂMETROS DE PROCESSAMENTO

No processo de eletrofiação, para que a força eletrostática supere a tensão superficial da solução, é necessária a aplicação de alta tensão. Logo, a carga elétrica aplicada está diretamente relacionada à morfologia das fibras eletrofiadas. Geralmente uma tensão mais elevada diminui o diâmetro das fibras e aumenta a possibilidade de formação de *beads* (FIG. 3.2), que são defeitos estruturais presentes ao longo das fibras em forma de pérolas [3].

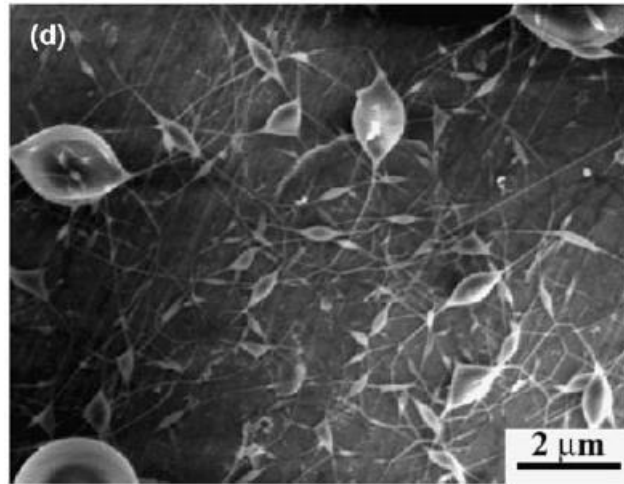


Figura 3.2: Aspecto morfológico dos *beads* formados nas fibras eletrofiadas [10].

A alteração da distância do coletor sob a mesma tensão levará a diferenças na intensidade do campo elétrico e no tempo de voo do jato. Assim, a distância usada não deve ser muito grande, a ponto de ocasionar a perda da influência do campo elétrico sobre o jato, causando instabilidade, e nem muito pequena, para que reduza o tempo de evaporação do solvente e aumente a força do campo elétrico levando a formação de *beads* [3,11].

Outro parâmetro importante no processo é o efeito da vazão sobre a morfologia e o diâmetro das fibras eletrofiadas. Uma vez que o fluxo determina a quantidade de solução disponível para eletrofiação, à medida que este ultrapasse a taxa de ejeção causada pela força eletrostática, seriam formados *beads* de grandes dimensões e fibras de maior diâmetro [3].

Além desses parâmetros, a espessura da agulha também pode apresentar efeito sobre a eletrofiação uma vez que o diâmetro menor provoca redução da gota na ponta da agulha e leva a menor exposição da solução à atmosfera durante o processo [3,11]. A influência no diâmetro médio das fibras varia, podendo não apresentar diferença como também podendo reduzir com a diminuição do diâmetro interno da agulha [11].

3.1.1.2 - FATORES AMBIENTAIS

É preferível que a eletrofiação seja conduzida em um ambiente de condições controladas, visto que os parâmetros ambientais também podem influenciar a formação, o diâmetro e a morfologia das fibras eletrofiadas.

A necessidade de se controlar a temperatura do ambiente é devido à sua influência direta na evaporação do solvente e na viscosidade da solução. Temperaturas mais altas elevam a taxa de evaporação e proporcionam maior liberdade para as cadeias

poliméricas se moverem resultando em menor viscosidade da solução e geralmente na formação de fibras com diâmetros menores [12-14].

A umidade relativa do ar também afeta a taxa de evaporação do solvente, influenciando diretamente o processo de eletrofiação. Uma condição de umidade mais elevada deixa o ambiente com maior quantidade de água na atmosfera, o que leva as fibras a não terem todo o solvente evaporado antes de alcançar o coletor, ocasionando a deposição com fusão das fibras e formação de *beads* [5,14]. Nessas condições de umidade, a eletrofiação de um polímero hidrofóbico leva a água agir como um não-solvente e uma fina película é formada em torno do jato polimérico, o que permite a formação de fibras porosas. Em outro caso, dependendo da volatilidade do solvente, condições ambientais de umidade baixa leva à solidificação do polímero na ponta da agulha caso a taxa de vazão da solução seja menor do que a taxa de evaporação do solvente [5].

3.1.1.3 - PROPRIEDADES DO POLÍMERO E SOLUÇÃO

A configuração do sistema e as condições de operação dependem muito do material e da escolha do solvente, dado que as propriedades físicas e químicas do polímero e da solução podem afetar a capacidade de fiação e, portanto, a morfologia das fibras eletrofiadas [15].

Na seleção do solvente, baixo ponto de ebulição favorece a evaporação do mesmo da superfície do jato eletrofiado. Contudo, essa rápida evaporação na superfície externa da fibra pode facilmente formar uma fina camada de polímero seco enquanto ainda há solvente dentro do jato. A deposição das fibras contendo solvente causará sua deformação após a perda desse conteúdo final levando a formação de uma estrutura enrugada. Da mesma forma, não são desejáveis solventes menos voláteis uma vez que o elevado ponto de ebulição impede a secagem do material. Tais fatores confirmam que, na escolha do solvente, o ponto de ebulição é um fator relevante para o processo de eletrofiação, assim como a tensão superficial da solução, uma vez que soluções com baixa tensão superficial ajudam a eletrofiação a ocorrer em campos elétricos mais baixos [16-18].

Por sua vez, o solvente também irá influenciar na condutividade elétrica da solução juntamente com o polímero usado para o preparo da mesma. Solventes excessivamente carregados (ionizados) podem elevar a condutividade da solução impedindo o processo de eletrofiação. Para alguns casos, sais ou nanopartículas podem ser usados para controlar este parâmetro. Em geral, o uso de soluções com condutividade maior diminui significativamente o diâmetro das fibras. A presença de sais dissolvidos aumenta a condutividade o que favorece a redução no diâmetro das fibras eletrofiadas. Por

outro lado, soluções poliméricas com baixa condutividade apresentam a formação de *beads* [5].

De modo geral, a massa molar de um polímero afeta as propriedades reológicas e elétricas como viscosidade, tensão superficial, condutividade e resistência dielétrica das soluções. Tal fato influencia a uniformidade, a morfologia e o tamanho das fibras formadas na eletrofiação. Um polímero com baixa massa molar tende a produzir solução com pouca fração de emaranhamento entre as cadeias poliméricas, o que leva à formação de *beads* mesmo em altas concentrações. À medida que a massa molar do polímero aumenta, o emaranhamento das cadeias poliméricas e, portanto, a viscosidade da solução também aumenta, e tal aspecto leva a obtenção de fibras uniformes com diâmetro maior [5,8]

Nesse contexto, para uma determinada massa molar, existe uma faixa de concentração na qual a solução pode ser eletrofiada. Logo, a concentração desempenha um papel importante na formação das fibras, uma vez que sua variação altera a morfologia do produto eletrofiado [19]. Estudos demonstraram que em soluções com concentrações muito baixas, não há o emaranhamento das cadeias poliméricas, o que leva a instabilidade e interrupção do jato e a produção de gotículas pulverizadas ou mesmo a formação de *beads* nas fibras. Por outro lado, a utilização de soluções muito concentradas leva ao aumento demasiado da viscosidade e o entupimento da agulha pode ocorrer, impedindo a formação do jato e, conseqüentemente, da eletrofiação [5,15]. Deste modo, a concentração ideal varia com o polímero e sua massa molar e pode ser ajustada com o tipo de solvente [5].

Por sua vez, a concentração é um fator determinante na viscosidade da solução, isso porque uma solução mais concentrada é também uma solução mais viscosa, devido ao fato do aumento dos emaranhados das cadeias poliméricas na solução. Para a eletrofiação este é um parâmetro muito importante, visto que é necessário certo grau de emaranhamento na solução para se evitar a interrupção do jato durante o processo. Soluções com viscosidade muito baixa tende a pulverização da solução ou mesmo a formação de fibras com *beads*, em contrapartida viscosidades mais elevadas geralmente formam fibras com diâmetros médios maiores. Como mencionado, não são desejáveis viscosidades muito elevadas, ao ponto de evitarem a formação do jato durante o processo [1,20,21].

No processo de eletrofiação, as fibras só podem ser obtidas a medida que as forças eletrostáticas superam a tensão superficial da solução. No caso da tensão superficial, esta varia tanto com a natureza do solvente como com a concentração do polímero. Dependendo do solvente utilizado e da concentração moderada do polímero, pode ocorrer diminuição na tensão superficial da solução, e as fibras obtidas podem ter

pouco ou nenhum *beads*. Por outro lado, se a solução polimérica de baixa concentração for utilizada, a tensão superficial aumenta e pode causar a instabilidade do jato durante o processo de eletrofiação, ocorrendo a eletropulverização em vez de eletrofiação. Para superar o aumento da tensão superficial, é necessário utilizar tensões mais altas para reduzir ou eliminar a presença de *beads* nas fibras [5].

Por fim, com base nesses parâmetros, deve-se de pensar no polímero e no solvente a serem utilizados. Um grande número de polímeros de origem natural ou sintética, com muitas aplicações e diferentes funcionalidades, veem sendo eletrofiados. No caso dos biopolímeros, um dos mais pesquisados em virtude de suas características de biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade [4,20] é a quitosana.

3.1.2 - QUITOSANA

A quitosana é um polímero derivado da reação de desacetilação da quitina. A quitina, por sua vez, é um polissacarídeo linear, presente em crustáceos, insetos e fungos e é o segundo mais abundante na natureza após a celulose [22]. Estruturalmente a quitina é constituída predominantemente por unidades N-acetil-D-glicosamina e a quitosana por unidades D-glucosamina (FIG. 3.3) [11,12,16].

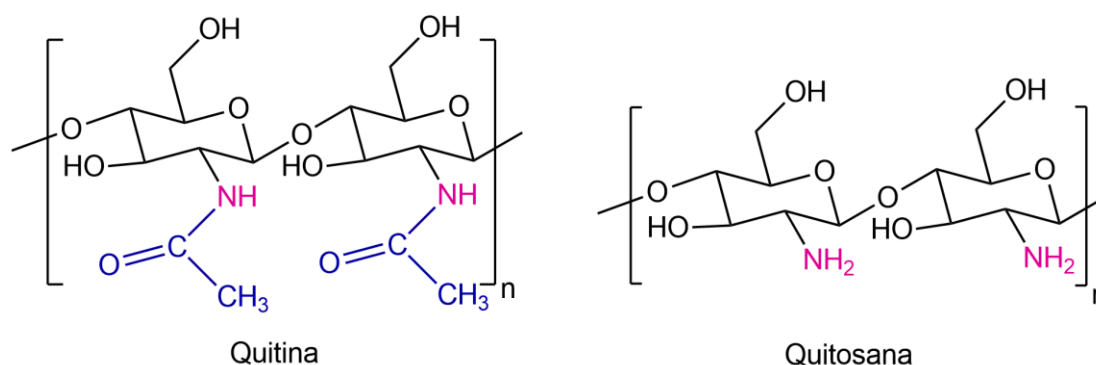


Figura 3.3: Fórmulas estruturais da quitina e da quitosana. Elaborado pela autora com base na literatura.

A solubilidade da quitosana está diretamente relacionada ao grau de desacetilação, pH e a natureza do solvente. Este biopolímero é considerado insolúvel em soluções com pH maior ou igual a 6,5 [3,11,23] e na maioria dos solventes orgânicos convencionais [10]. Embora, mesmo que em ácidos inorgânicos sua solubilidade seja bastante limitada (apenas sob prolongada agitação e aquecimento), a quitosana com elevado grau de desacetilação é, de fato, solúvel em soluções diluídas de ácidos orgânicos [3,4,6,11]. O meio ácido age de forma a protonar os grupos aminas livres desse polímero para formar um polieletrólito de caráter catiônico, motivo pelo qual apresenta maior

solubilidade que sua precursora, a quitina [3,4,20]. No entanto, tal propriedade confere às soluções de quitosana alta viscosidade, o que dificulta sua eletrofição [3,20]. Soluções com altas concentrações deste polímero são muito viscosas e, portanto, frequentemente difíceis de eletrofiar. Mesmo a concentrações moderadas, as soluções de quitosana podem ser demasiadas viscosas para serem eletrofiadas com êxito [20].

Em meio a isso, a eletrofição de soluções de quitosana é conhecida como sendo um grande desafio. Os primeiros estudos bem-sucedidos foram conduzidos por Min et al. [19] por meio da desacetilação de nanofibras de quitina, obtidas a partir da utilização do 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) como solvente e por Ohkawa et al. [7] que obtiveram sucesso utilizaram quitosana de massa molar $210.000 \text{ g mol}^{-1}$ dissolvida em ácido trifluoroacético (TFA). Apesar do sucesso descrito, o uso destas fibras pode ser limitado devido ao alto custo e toxicidade do TFA e HFIP [2,3].

Uma alternativa foi a proposta de Geng et al. [8] em utilizar quitosana dissolvida em solução de ácido acético a 90% v/v. Os autores conseguiram obter nanofibras uniformes da solução ácida de quitosana, de massa molar $106.000 \text{ g mol}^{-1}$ e grau de desacetilação de 54%. Estes consideraram que a redução da tensão superficial produzida pela alta concentração de ácido acético é a propriedade da solução mais importante para eletrofição da quitosana. Nesta mesma linha, Homayoni et al. [3] conseguiram produzir, de modo satisfatório, nanofibras de quitosana dissolvida em soluções de ácido acético de até 70% v/v.

Apesar da dificuldade de eletrofição da quitosana, suas propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade [4,20], ainda tornam este biopolímero muito atraente para a eletrofição de modo que atualmente os estudos estão sendo conduzidos com soluções de quitosana e outros polímeros, sendo um deles o poli(óxido de etileno).

3.1.3 - POLI(ÓXIDO DE ETILENO)

O poli(óxido de etileno), PEO (FIG. 3.4) é um homopolímero sintético linear de óxido de etileno, representado pela fórmula $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$. É um polímero termoplástico, semicristalino, que não apresenta toxicidade, o que o torna aplicável nas indústrias farmacêuticas, alimentícia e de cosméticos, é solúvel em água e em diversos solventes orgânicos [18,24].

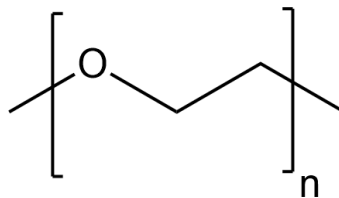


Figura 3.4: Fórmula estrutural do poli(óxido de etileno). Elaborado pela autora com base na literatura.

A utilização do PEO na eletrofição da quitosana é em virtude de sua forte interação com este biopolímero, o que favorece o processamento do mesmo, aliado ao fato de que esta junção não restringe as aplicações finais das fibras de quitosana [2,4].

Alguns dos primeiros relatos da eletrofição da blenda de quitosana e PEO foram de Duan et al. [25] que, utilizando ácido acético como solvente, conseguiram produzir fibras eletrofiadas desses polímeros. Segundo os autores, a condutividade, a tensão superficial e, especialmente, a viscosidade das soluções facilitaram a eletrofição da blenda. Da mesma forma, Bhattaraia et al. [15] relataram a eletrofição de quitosana e PEO com o tensoativo comercialmente disponível Triton X-100™. Como resultado, os autores constataram forte dependência entre a viscosidade da solução e, portanto, sobre a proporção de quitosana e PEO com a capacidade de eletrofição e a morfologia das fibras produzidas.

Além desses estudos, pode-se encontrar na literatura outros envolvendo a eletrofição da quitosana com o PEO. Estudos esses que podem estar relacionados apenas com a eletrofição da solução polimérica ou com a incorporação de outro material junto aos polímeros. Embora a eletrofição de soluções contendo apenas as macromoléculas tenha sido bastante pesquisada, a busca por novos materiais tem levado há um interesse crescente na incorporação de outros componentes a matriz polimérica. Pensando nisso, este trabalho teve como objetivo produzir filmes eletrofiados de quitosana e PEO e como aplicação a incorporação de itérbio e corantes fluorescentes, visto o potencial que possuem para o desenvolvimento de novos materiais.

3.2 - ITÉRBIO

O itérbio é um elemento químico da série dos lantanídeos de número atômico 70 e massa atômica 173,04 u. É utilizado na fabricação de lasers e células solares e possui também aplicação como componente de catalisadores na indústria química.

A produção de filmes eletrofiados de quitosana e PEO com incorporação do itérbio e também dos corantes se justifica pelas poucas publicações encontradas e também pelas inúmeras aplicações que possuem.

3.3 - CORANTES

3.3.1 - ALARANJADO DE ACRIDINA

O alaranjado de acridina (FIG. 3.5) se destaca pelo grande interesse biológico e médico que possui. Pertencente à família das acridinas, este corante catiônico fluorescente [26-28] apresenta fórmula molecular $C_{17}H_{19}N_3$, e massa molar de $265,35 \text{ g mol}^{-1}$.

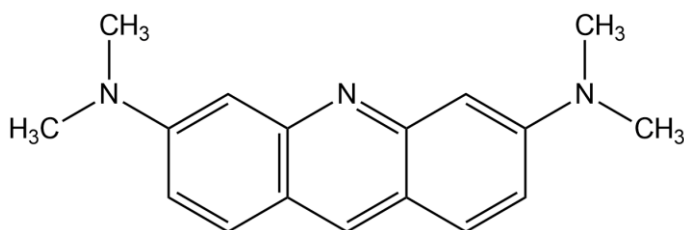


Figura 3.5: Fórmula estrutural do corante alaranjado de acridina. Elaborado pela autora com base na literatura.

O corante alaranjado de acridina teve sua fluorescência proposta pela primeira vez na década de 1940 e desde os anos 1950 tem sido amplamente utilizado em diagnósticos médicos [29-31]. Entre suas principais aplicações tem-se a utilização como sonda para discriminação de DNA e RNA [28,29]. Possui aplicações na terapia fotodinâmica, detecção de câncer ginecológico e diagnóstico rápido de malária [28,31,32]. Além disso, esse corante ainda apresenta outras enormes aplicações [26] que podem incluir o desenvolvimento de sensores e dispositivos óticos.

3.3.2 - FLUORESCÉINA

A fluoresceína (FIG. 3.6), por sua vez, é um corante xanteno, não tóxico e altamente fluorescente [33,34]. Foi sintetizada pela primeira vez por Von Bayer em 1871 [34] e é conhecida na sua forma de sal sódico, como uranina ($C_{20}H_{10}O_5Na_2$) ou fluoresceína sódica.

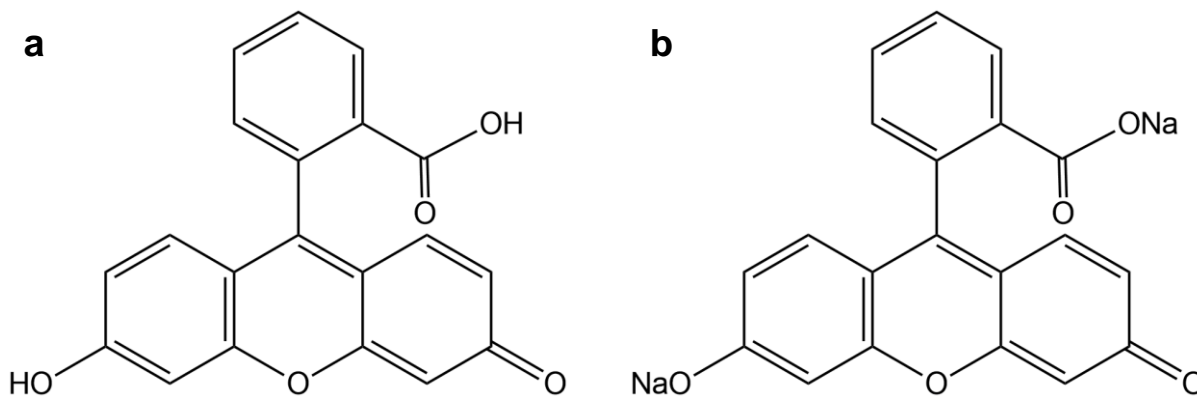


Figura 3.6: Fórmula estrutural do corante fluoresceína (a) e fluoresceína sódica (b). Elaborado pela autora com base na literatura.

Utilizada no ramo da medicina, a fluoresceína sódica serve como agente de contraste e ferramenta de diagnóstico no campo da oftalmologia [33,34]. Além disso, esse corante apresenta aplicações no desenvolvimento de sensores para detecção de diferentes analitos, como por exemplo, o 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), conhecido por *ecstasy* [35].

3.3.3 - ERITROSINA

A eritrosina, por sua vez, é um sal dissódico de 2,4,5,7-tetraiodo-fluoresceína (FIG. 3.7), que possui ampla aplicação nas indústrias farmacêuticas, alimentícia, de cosméticos e também de vestimenta [36,37].

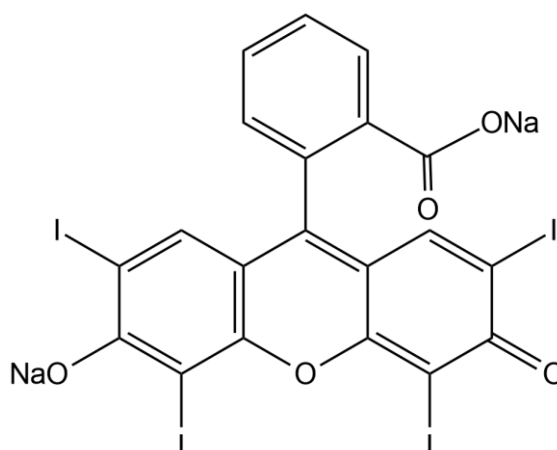


Figura 3.7: Fórmula estrutural do corante eritrosina (sal sódico). Elaborado pela autora com base na literatura.

Usado para colorir alimentos, tecidos, cosméticos e medicamentos, a eritrosina é também um dos corantes utilizado para aplicações orais, como agente de marcação de

placas dentárias [37,38]. Possui atividade antibacteriana para organismos gram-positivos e gram-negativos e bactérias orais, além de propriedades antifúngicas [38,39].

3.3.4 - AGREGAÇÃO

Em solução aquosa, alguns corantes exibem comportamento de agregação em função de sua concentração [40,41]. A auto associação de moléculas de corante em meio aquoso é um fenômeno em que as moléculas podem unir-se, formando dímeros, trímeros ou mesmo agregados maiores, dependendo das condições experimentais em que se apresentam [42,43]. As possíveis causas apontadas pelos autores para a formação de agregados são os diferentes tipos de interações, tais como forças de Van der Waals, interações π - π , ligações de hidrogênio, efeitos hidrofóbicos e interação eletrostática [42,44].

Segundo Walker e Weatherley [45], a formação de dímeros em corantes se inicia em concentrações muito baixas, e à medida em que a concentração aumenta tem-se uma tendência crescente no aumento da agregação, devido ao aumento do número de colisão entre as moléculas [42,46].

A FIG. 3.8, mostra a geometria que pode ser adotada pelos agregados moleculares. No tipo J (ou *edge-to-edge*), o ângulo entre os monômeros é de 180° com disposição lado a lado. No tipo H (ou *face-to-face*), o ângulo é de 0° , ou seja, as moléculas estão dispostas em pilhas. Em alguns casos, outros tipos de agregados podem ser apresentados como uma composição mista HJ [44].

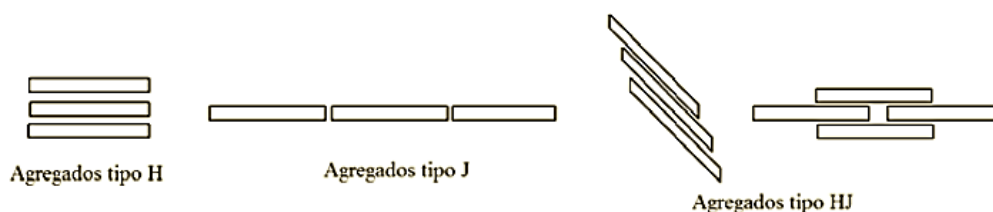


Figura 3.8: Geometria dos agregados do tipo H, J e HJ [44]

A presença de agregados altera tanto o espectro de absorção quanto o espectro de fluorescência, isso porque os agregados possuem características distintas do seu monômero. A agregação altera as características energéticas do composto. Dentro do agregado aumenta-se a probabilidade de perdas não radiativas de energia, o que diminui o tempo de fluorescência [44]

3.3.5 - FLUORESCÊNCIA

Fluorescência e fosforescência são processos de luminescência molecular em que a excitação é feita por absorção de fótons [47,48]. Chamados de métodos fotoluminescentes, esses fenômenos são ilustrados pelo Diagrama de Jablonski (FIG. 3.9), o qual descreve os processos de absorção e emissão de luz [48,49].

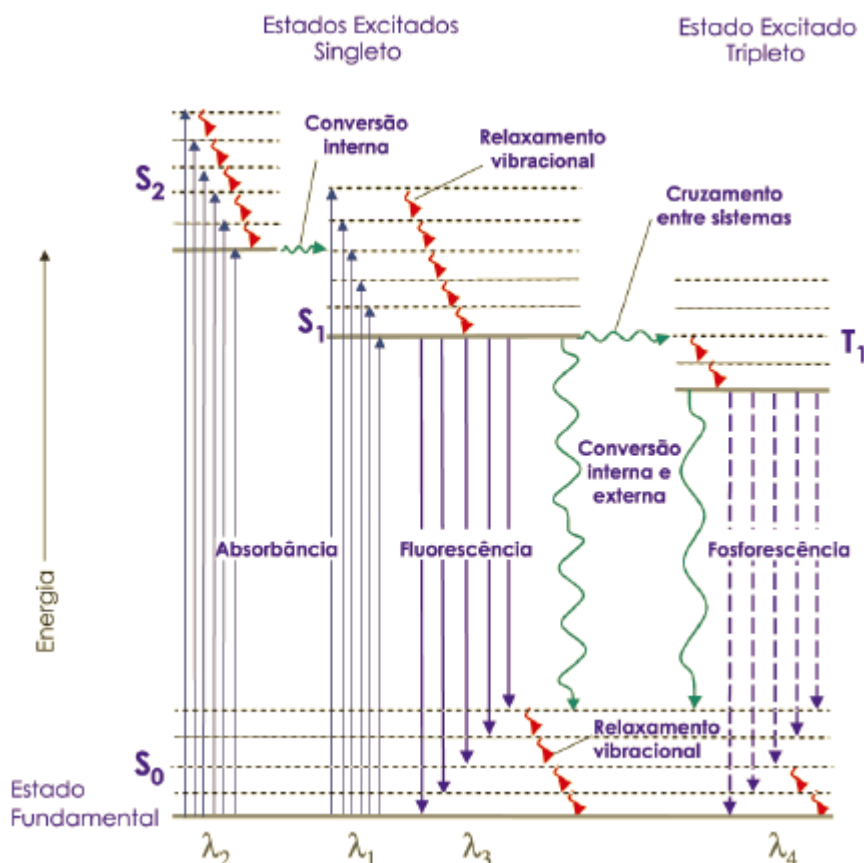


Figura 3.9: Diagrama de Jablonski [50].

Observando-se a FIG. 3.9, verifica-se que as moléculas em nível de menor energia estão no estado eletrônico fundamental, denominado estado singlete (S_0), no qual os spins encontram-se emparelhados. Com o fornecimento de energia a partir da absorção de luz, os elétrons da molécula podem passar para níveis de maior energia. Contudo, esse estado mais energético do elétron, é muito instável e por meio de processos radiativos (fosforescência e fluorescência) ou não radiativos (relaxação vibracional, conversão interna e cruzamento intersistema), a energia pode ser perdida e o elétron volta a um estado menos excitado ou ao seu estado fundamental [48,51].

Após absorção do fóton, a transição proveniente de um estado excitado singlete (S_1 e S_2) para um estado singlete fundamental (S_0) corresponde ao processo radiativo de fluorescência, o qual não envolve mudanças na multiplicidade dos spins. Por outro lado, a

transição de um estado excitado triplete (T_1), em que ocorreu inversão do spin eletrônico por cruzamento intersistema, para um estado fundamental singlete (S_0) condiz com as emissões por fosforescência [48,50].

Devido às perdas de energia por processos não radiativos, a energia de emissão é tipicamente menor que a da absorção, o que resulta em diferenças nos comprimentos de onda de absorção e emissão [48,52]. A distância entre o comprimento de onda de excitação e emissão é chamada de deslocamento de Stokes, fundamental para aplicações da fluorescência, uma vez que moléculas com grandes deslocamentos são facilmente detectáveis, enquanto que aquelas com pequenos deslocamentos apresentam difícil detecção [52].

Por fim, verifica-se que uma molécula excitada pode voltar ao seu estado fundamental por meio de uma série de diferentes processos de desativação. O processo que será favorecido é aquele que minimiza o tempo de vida do estado excitado. Se a desativação por fluorescência é rápida em relação aos processos não radiativos, sua emissão é observada. Por outro lado, se um processo não radiativo apresenta uma constante de velocidade mais favorável, a fluorescência não ocorre ou é pouca intensa [48]

3.3.6 - EXCÍMERO

Ainda com relação ao estado fundamental e excitado das moléculas, os excímeros são dímeros no estado excitado (“**excited + dimer**” = excímer) [40,47]. Segundo Hubenko et al. [40] e Sarkar et al. [53] existem dois tipos de excímeros: dinâmico e estático.

O excímero dinâmico é formado pela colisão entre um fluoróforo no estado fundamental e um fluoróforo no estado excitado, durante o tempo de vida da espécie excitada [40,47,53]. Em contrapartida, o excímero estático é formado de um dímero pré-arranjado no estado fundamental. Nesta situação, as unidades monoméricas do dímero devem estar dispostas de tal maneira que a distância entre elas seja curta o suficiente para formar o excímero por foto-excitação. Segundo Hubenko et al. [40] isto ocorre para fluoróforos concentrados em superfícies sólidas e matrizes porosas, ou seja, em meios com a geometria restrita [54].

Diante disso, neste trabalho apresenta-se os estudos envolvendo a fluorescência dos corantes alaranjado de acridina, eritrosina e fluoresceína sódica nos filmes eletrofiados de quitosana e PEO e discute-se a possível formação de excímero no filme eletrofiado com alaranjado de acridina.

4 - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.1 - PREPARO DAS SOLUÇÕES

Os polímeros utilizados foram quitosana comercializada pela Polymar (Fortaleza - CE, Brasil) com grau de desacetilação de 85% e o poli(óxido de etileno) de massa molar de 65.000 g mol⁻¹, comercializado pela Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA). Foram utilizados ácido acético glacial P.A., (CH₃COOH) de pureza 99,8% da Neon e água purificada por destilação e osmose reversa (Quimis), para a solubilização dos polímeros.

As soluções de quitosana foram preparadas em ácido acético 90% v/v nas concentrações de 2 e 4% m/v. Da mesma forma, as soluções contendo quitosana e PEO foram igualmente preparadas em ácido acético 90% v/v, nas concentrações 1, 2, 3, 4 e 5% m/v, nas proporções 90:10 e 95:05% m/m, com a maior quantidade sendo do biopolímero. Para garantir a completa solubilização dos solutos e assim obter-se material homogêneo, tais soluções foram mantidas sob agitação magnética por 24 horas em temperatura ambiente. Posteriormente, cada solução preparada foi transferida para uma seringa de vidro de 5 mL para ser eletrofiada.

4.2 - OBTENÇÃO DAS FIBRAS POLIMÉRICAS

A eletrofiação das soluções poliméricas foi realizada utilizando-se sistema constituído por uma bomba infusora, da World Precision Instruments modelo SP100I Syringe Pump, uma fonte de alta tensão da marca Bertan modelo 30-R, um coletor metálico estático aterrado e uma seringa de vidro de 5 mL, com agulha hipodérmica de diâmetro interno de 0,70 mm.

A fim de se obter fibras em escalas nano ou micrométrica, estudou-se os parâmetros que influenciam o processo de eletrofiação. Para tanto, foram realizados testes variando a tensão em 15, 18, 21 e 23 kV e a distância da ponta da agulha ao coletor em 15, 18 e 20 cm, sendo a vazão mantida constante em 0,5 mL h⁻¹. Para avaliação do diâmetro das fibras formadas, fixou-se no coletor metálico uma lâmina de microscópio para a coleta das amostras formadas em cada condição definida pela distância e tensão. Tais

experimentos foram realizados em temperatura de $22 \pm 5^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $46 \pm 5\%$.

A avaliação da uniformidade e diâmetro das fibras a partir das lâminas coletadas foi realizada por meio do microscópio ótico modelo CX31 com câmera SC30, ambos da marca Olympus e captura das imagens no *software* Analisis Get It®. Na determinação do diâmetro foi usado o *software* Quantikov Image Analyzer 10.1, no qual se mediu 10 diâmetros selecionados aleatoriamente em cada uma das quatro fotos tiradas para cada lâmina vista com a objetiva de 100x /1,25.

4.3 - PLANEJAMENTO FATORIAL

A fim de se verificar a influência dos parâmetros de eletrofiação no diâmetro das fibras produzidas, realizou-se um planejamento fatorial de 2^4 , no qual os fatores: f foram analisados em dois níveis, inferior (-) e superior (+), cujos valores estão apresentados na (TAB. 4.1).

Tabela 4.1: Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial.

Fatores	Níveis	
	-	+
Concentração da solução (% - m/v)	2	4
Proporção do PEO (% - m/m)	05	10
Distância (cm)	15	20
Tensão (kV)	15	21

O efeito de cada fator e de suas interações foi determinado seguindo a proposta de Montgomery [55].

Para verificação da real significância de cada fator e de suas interações sobre o diâmetro das fibras, realizou-se o mesmo planejamento fatorial de 2^4 utilizando o *software* Chemoface®. Os fatores utilizados foram igualmente concentração da solução, proporção do PEO, distância e tensão, como descritos na (Tab. 4.1). O número de replicatas utilizadas neste planejamento foram quatro, que correspondem ao diâmetro médio de cada 10 medidas feitas em cada uma das quatro fotos tiradas de cada lâmina vista com a objetiva de 100x /1,25.

4.4 - OBTENÇÃO DOS FILMES ELETROFIADOS

Após a definição dos melhores parâmetros para eletrofiação, preparou-se novas soluções contendo quitosana e PEO na concentração de 2% m/v e proporção 90:10% m/m, para produção de filmes dos polímeros e igualmente para incorporação dos corantes alaranjado de acridina ($C_{12}H_{19}N_3 \cdot HCl \cdot ZnCl_2$, Biotec), eritrosina ($C_{20}H_{61}Na_2O_5$, Vetec) e fluoresceína sódica ($C_{20}H_{10}Na_2O_5$, Vetec) e também do acetato de itérbio III ($C_6H_9O_6Yb \cdot 4H_2O$, Sigma Aldrich, 99,9%). O preparo das soluções com material incorporado foi conduzido solubilizando-se as massas de quitosana e PEO em ácido acético 90% v/v, com adição de cada corante em uma solução diferente, mas na mesma concentração de 2% em relação a massa dos polímeros. No caso do itérbio, esse material foi adicionado lentamente à solução de quitosana e PEO, na concentração de 3% também em relação a massa dos polímeros. Para garantir a completa solubilização dos materiais, essas soluções foram igualmente mantidas sob agitação magnética por 24 horas, a temperatura ambiente. Posteriormente a esse período, tais misturas foram transferidas para a seringa de vidro de 5 mL para serem eletrofiadas.

A fim de verificar se houve mudanças no diâmetro das fibras formadas para solução com itérbio, foram realizados os mesmos testes de variação da tensão e distância anteriormente descritos, com base nos resultados obtidos é que se produziu o filme eletrofiado. No caso das soluções com os corantes a obtenção dos filmes foi a partir dos melhores parâmetros de eletrofiação já definidos. A produção dos filmes para caracterização foi a partir da eletrofiação de 4 mL das soluções sem e com a incorporação dos corantes e do itérbio.

4.5 - OBTENÇÃO DE FILME POR CASTING

Para comparação com o material eletrofiado um filme de quitosana e PEO foi produzido pelo método de *casting*. Para tanto, preparou-se do mesmo modo 10 mL da solução desses polímeros em ácido acético 90% v/v, na concentração de 2% m/v e proporção 90:10% m/m, respectivamente. No caso do filme obtido por *casting* da solução de quitosana, preparou-se uma solução deste biopolímero em ácido acético 90% v/v, na concentração de 2% m/v. Para garantir a completa solubilização dos polímeros, as soluções foram igualmente mantidas sob agitação magnética por 24 horas, a temperatura ambiente. Posteriormente a esse período, essas soluções foram transferidas para placas de teflon e mantidas ao ar livre para evaporação do ácido acético.

4.6 - INCORPORAÇÃO DOS CORANTES NOS FILMES ELETROFIADOS

Para determinação do comprimento de onda de máxima absorção dos corantes, as soluções preparadas a 0,001% m/v em água destilada foram analisadas na faixa de 190 - 1100 nm, com intervalo da amostra fixo em 1 nm e cubeta de quartzo de caminho óptico de 10 mm, utilizando-se espectrofotômetro UV-Vis da marca Shimadzu, modelo UV-1800 e *software* UVProbe.

Os espectros de refletância especular dos filmes eletrofiados foram igualmente realizadas no espectrofotômetro UV-Vis da marca Shimadzu, modelo UV-1800 e *software* UVProbe, na faixa de 190 - 1100 nm, sob ângulo de 5°.

Por sua vez, os espectros de fluorescência dos corantes nos filmes eletrofiados foram obtidos em um espectrofluorímetro da marca Aminco, modelo SPF-500C e *software* 500, equipado com uma lâmpada de descarga Xenon de 300 kW, com a abertura das fendas de excitação e emissão mantidas em 4 nm e a alta voltagem da fotomultiplicadora em 800 V.

4.7 - INCORPORAÇÃO DO ITÉRBIO NO FILME ELETROFIADO

A verificação da incorporação do itérbio foi realizada em uma amostra central do filme por meio de espectroscopia de fluorescência de raios X (FRX), utilizando equipamento da marca RigakuZSX Primus II.

4.8 - CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

A análise morfológica dos filmes eletrofiados e a determinação dos diâmetros das suas fibras foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um equipamento da FEI Company modelo Quanta 250. Para a observação pelo MEV, as amostras foram fixadas em suporte por uma fita adesiva dupla face de carbono e revestidas com uma fina camada de ouro utilizando um metalizador Bal-tec SCD 005 Sputter Coater. O diâmetro das fibras foi determinado pelo *software* Quantikov Image Analyzer 10.1, medindo-se o diâmetro de 20 fibras escolhidas aleatoriamente a partir das imagens de MEV, com ampliação de 10000x – 10 µm.

A análise da estrutura química das amostras em pó de quitosana e PEO e as possíveis mudanças estruturais nos materiais obtidos por eletrofiação e *casting* foram avaliadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) para as amostras em pó e reflexão total atenuada (ATR) para os filmes. As análises foram realizadas em temperatura de 25°C, na

região de 4000 a 550 cm^{-1} , com resolução de 8 cm^{-1} e oito varreduras sucessivas, utilizando espectrofotômetro FTIR da marca Perkin-Elmer.

A estabilidade térmica das blendas sem e com os materiais incorporados e das amostras em pó de quitosana e PEO foi estudada por análise termogravimétrica (TGA) num equipamento Perkin Elmer modelo STA 6000. A massa das amostras inseridas no cadinho de porcelana foi de 5 a 10 mg, a faixa de temperatura utilizada foi de 30°C a 900°C com razão de aquecimento de 10°C min^{-1} e fluxo de nitrogênio de 50 mL min^{-1} .

As propriedades térmicas, isto é, os processos de fusão e cristalização das amostras em pó de quitosana e PEO e dos filmes polímeros sem e com os corantes e o itérbio, foram determinadas pela análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando um equipamento Shimadzu DSC-60. A massa das amostras inseridas no cadinho de alumínio fechado foi de 5 a 10 mg. A faixa de temperatura para a análise dos filmes eletrofiados e das amostras em pó de quitosana e PEO ficou entre 30°C a 200°C com resfriamento até 30°C, sob razão de aquecimento de 10°C min^{-1} e fluxo de nitrogênio de 50 mL min^{-1} .

A partir dos termogramas gerados na análise de DSC foi possível então obter os valores dos pontos de fusão, cristalização e os calores envolvidos em cada processo com o auxílio do software TA-60WS. Para o cálculo da porcentagem de cristalinidade utilizou-se a equação 1 segundo Veleirinho et al. [17] e Kong et al. [56].

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_f - \Delta H_c}{\Delta H_f^\circ} \times 100 \quad (1)$$

em que ΔH_f é a entalpia de fusão da amostra, ΔH_c é a entalpia de cristalização e ΔH_f° é a entalpia de fusão teórica da amostra 100% cristalina.

A determinação do grau de cristalinidade das amostras em pó de quitosana, PEO e acetato de itérbio III e as possíveis alterações estruturais desses materiais e dos corantes nos filmes produzidos foi realizada pela técnica de difratometria de raios X (DRX) em equipamento Bruker® modelo D2 Phaser, com radiação $K\alpha$ do Cu de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, varredura do ângulo 2θ de 5° a 60° e incremento de 0,02°.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - OBTENÇÃO DAS FIBRAS POLIMÉRICAS

Os testes iniciais realizados, a fim de se observar a formação de fibras, foram conduzidos variando-se a tensão em 15, 18, 21 e 23 kV e a distância entre a ponta da agulha e a placa coletora em 15, 18 e 20 cm, mantendo-se a vazão constante em 0,5 mL h⁻¹. Isso significa que, para cada solução preparada, foram coletadas amostras em 12 lâminas.

Nos primeiros testes realizados para as soluções de 2 e 4% de quitosana, ao invés de se obter fibras contínuas, o que se obteve foram jatos intermitentes sendo ejetados da seringa e, por não terem todo o solvente evaporado antes de alcançarem o coletor, lá se depositaram na forma de gotículas pulverizadas. A visualização por microscopia ótica mostrou claramente a formação de gotas e não de fibras. A alteração nos parâmetros do processo não resolveu esse problema, nem melhorou a qualidade do produto formado. Tais resultados corroboram com a literatura [1,2,10,12,15,19], no que se refere a dificuldade da produção de fibras eletrofiadas a partir de soluções de quitosana.

Essa dificuldade em se eletrofiar a quitosana é principalmente devido à alta viscosidade de sua solução, que pode ser explicada pelas fortes ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas, que complexam o entrelaçamento das mesmas e restringem sua mobilidade [57]. Além disso, soluções de quitosana são bastante condutivas devido à natureza policatiônica do polímero. Sob o alto campo elétrico, isto leva a um maior alongamento do jato durante o movimento de “chicoteamento” e “flexão” da solução. No entanto, as interações repulsivas entre as cadeias da quitosana desestabilizam o jato na região de estiramento, que resulta em um comportamento de espalhamento e rompimento do mesmo e a produção de gotículas no coletor [2,22].

Em vista disso, e com base na literatura [1,2,4,20], para a obtenção das fibras de quitosana fez-se necessário a utilização do PEO junto a matriz polimérica, como aditivo facilitador de formação de fibras. Tal escolha foi feita por poder se trabalhar com um material capaz de ser diluído junto à solução de quitosana.

A adição do PEO facilita a eletrofição deste biopolímero por reduzir a viscosidade da solução de quitosana, assim como diminuir a condutividade elétrica da mesma devido às ligações de hidrogênio formadas entre os grupos amina deste polímero e os grupos éter do PEO (FIG. 5.1), o que ajuda na obtenção de um jato mais estável e tornam a quitosana mais eletrofiável [2,22,57].

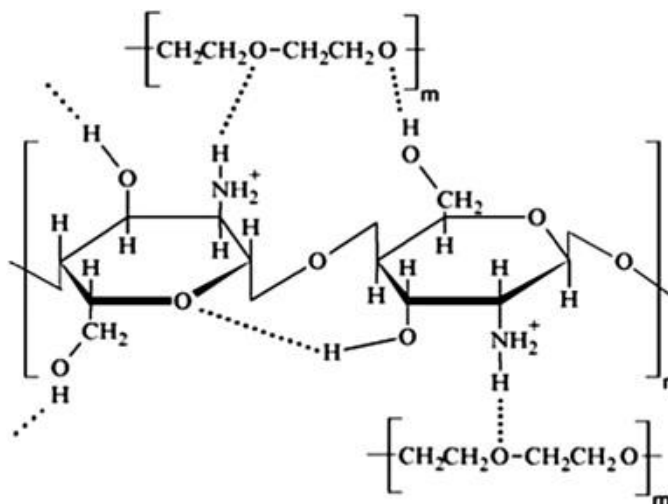


Figura 5.1: Possíveis interações, por ligação de hidrogênio, entre moléculas de quitosana e PEO [23].

Diante disso, preparou-se as soluções de quitosana e PEO nas concentrações de 1, 2, 3, 4, e 5% m/v para se determinar a concentração ideal da solução para obtenção da matriz nanofibrosa. No caso do preparo dessas soluções nas proporções de 90:10 e 95:05% m/m para quitosana e PEO, respectivamente, foi devido ao objetivo de se produzir filmes eletrofiados com maior quantidade do biopolímero.

Posto isso, nos primeiros testes realizados os resultados obtidos mostraram que a solução de 5% de quitosana e PEO, preparada na proporção 90:10%, respectivamente, não foi capaz de produzir fibras. Uma razão para isso é a alta viscosidade da solução e a impossibilidade de ocorrer o fluxo da solução através da agulha. Em virtude disso, esta solução foi descartada e assim não foi preparada na proporção 95:05%, devido ao aumento da concentração de quitosana que acarretaria em uma viscosidade ainda maior.

No caso das soluções de 1%, para ambas as proporções 90:10 e 95:05%, foi possível ver, por meio de microscopia ótica, a formação de fibras muito finas ligadas por *beads* e respingos do solvente, possivelmente em virtude das soluções serem muito líquidas. Em virtude do aspecto das fibras formadas (FIG. 5.2), não foi possível realizar a determinação do diâmetro, mesmo com a objetiva de 100x/1,25. Em resumo, foi observado que a adição de PEO à solução facilitou a eletrofição da quitosana.

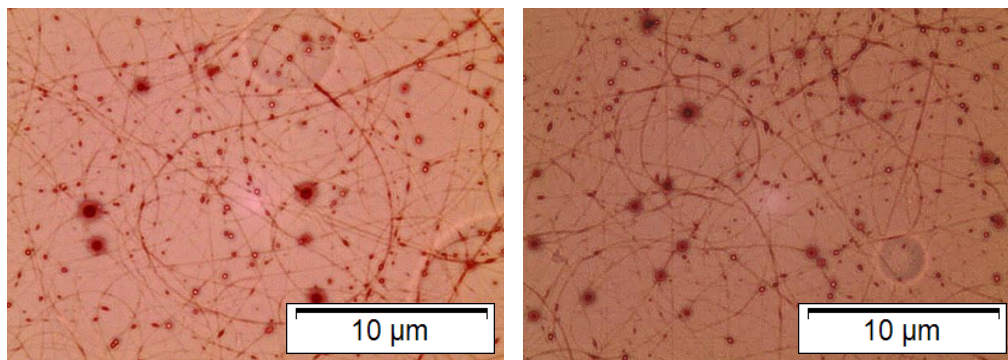


Figura 5.2: Imagens de microscopia ótica das fibras obtidas a partir da eletrofição da solução de quitosana e PEO a 1% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzidas sob tensão aplicada de 15 kV e distância de 20 cm entre agulha e o coletor, vistas com a objetiva de 100x/1,25.

Para as soluções de 2, 3 e 4% foi possível visualizar, por meio de microscopia ótica, a formação de fibras sem a presença de *beads* para ambas as proporções 90:10 e 95:05%. Nesses casos, a partir das imagens obtidas no microscópio ótico, pode-se calcular o diâmetro médio das fibras, assim como o desvio padrão, com o auxílio do programa *Quantikov Image Analyzer* (TAB. 5.1).

Tabela 5.1: Diâmetro médio e desvio padrão das fibras eletrofiadas sob diferentes parâmetros e em diversas concentrações e proporções de quitosana e PEO.

Parâmetros*		Diâmetro médio e desvio padrão (µm)		
		Proporção 90:10% m/m		
		2 % m/v	3% m/v	4% m/v
15 kV	15 cm	0,9213 ± 0,1021	0,9497 ± 0,1430	0,7622 ± 0,0989
	18 cm	0,9083 ± 0,1177	0,9526 ± 0,1515	0,9682 ± 0,2097
	20 cm	0,8323 ± 0,1080	0,9812 ± 0,1151	0,8420 ± 0,1565
18 kV	15 cm	0,8827 ± 0,1211	0,8237 ± 0,1033	0,9290 ± 0,1684
	18 cm	0,8117 ± 0,0719	0,9332 ± 0,1131	0,9457 ± 0,1416
	20 cm	0,8978 ± 0,1224	0,9292 ± 0,1519	1,1586 ± 0,1356
21 kV	15 cm	0,8840 ± 0,1131	0,8326 ± 0,0865	1,1560 ± 0,1494
	18 cm	0,9203 ± 0,1178	0,8568 ± 0,0917	1,2319 ± 0,1584
	20 cm	0,8250 ± 0,1039	0,8906 ± 0,1213	1,2633 ± 0,1132
23 kV	15 cm	0,9243 ± 0,1005	0,8224 ± 0,0870	0,9660 ± 0,1525
	18 cm	0,8172 ± 0,1106	0,9120 ± 0,1430	1,1297 ± 0,1455
	20 cm	0,7936 ± 0,0916	0,9497 ± 0,1233	1,1905 ± 0,1722
Parâmetros*		Proporção 95:05% m/m		
		2 % m/v	3% m/v	4% m/v
15 kV	15 cm	0,9013 ± 0,1086	0,9572 ± 0,1654	1,0182 ± 0,1764
	18 cm	1,0003 ± 0,1074	0,8825 ± 0,1003	0,9695 ± 0,1829
	20 cm	0,8743 ± 0,0854	0,8987 ± 0,1260	1,0866 ± 0,2041
18 kV	15 cm	0,8814 ± 0,1201	0,8601 ± 0,1542	1,0875 ± 0,1712
	18 cm	0,8638 ± 0,1403	0,9212 ± 0,1264	0,9663 ± 0,1715
	20 cm	0,8747 ± 0,1278	0,9363 ± 0,1452	1,2220 ± 0,1563
21 kV	15 cm	0,8378 ± 0,0777	0,8360 ± 0,1051	1,1125 ± 0,1060
	18 cm	1,0015 ± 0,1405	0,9370 ± 0,1298	1,1191 ± 0,1430
	20 cm	0,9340 ± 0,1011	0,8702 ± 0,1006	1,2154 ± 0,1585
23 kV	15 cm	0,9201 ± 0,1251	0,8835 ± 0,1110	1,1625 ± 0,1658
	18 cm	0,8680 ± 0,0848	0,8901 ± 0,1393	1,1325 ± 0,1257
	20 cm	0,8942 ± 0,0893	0,9910 ± 0,1632	1,1809 ± 0,1246

* kV – tensão aplicada; cm – distância agulha coletor; % m/v – concentração da solução; % m/m – proporção quitosana:PEO.

5.2 - PLANEJAMENTO FATORIAL

Diante dos dados obtidos, utilizou-se o planejamento fatorial 2^4 para verificar a influência dos fatores concentração da solução, proporção do PEO, distância e tensão no diâmetro médio das fibras. Para tanto, um conjunto de 16 experimentos foi gerado pela combinação entres esses 4 fatores e os 2 níveis. A TAB. 5.2 apresenta a matriz com os níveis codificados e reais dos fatores principais e de suas interações.

Tabela 5.2: Matriz do planejamento fatorial 2^4 , com as variáveis codificadas e reais tendo como resposta o diâmetro médio e o desvio padrão das fibras eletrofiadas.

Exp.*	Fatores**				Combinação dos fatores											Diâmetro médio e desvio padrão (μm)
	[Solução] (% - m/v)	PEO (% - m/m)	Distância (cm)	Tensão (kV)	AB	AC	AD	BC	BD	CD	ABC	ABD	ACD	BCD	ABCD	
	A	B	C	D												
1	-(2)	-(05)	-(15)	-(15)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	0,9013 \pm 0,1086
2	+(4)	-(05)	-(15)	-(15)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	1,0182 \pm 0,1764
3	-(2)	+(10)	-(15)	-(15)	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	0,9213 \pm 0,1021
4	+(4)	+(10)	-(15)	-(15)	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	0,7622 \pm 0,0989
5	-(2)	-(05)	+(20)	-(15)	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	0,8743 \pm 0,0854
6	+(4)	-(05)	+(20)	-(15)	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	1,0866 \pm 0,2041
7	-(2)	+(10)	+(20)	-(15)	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	0,8323 \pm 0,1080
8	+(4)	+(10)	+(20)	-(15)	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	0,8420 \pm 0,1565
9	-(2)	-(05)	-(15)	+(21)	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	0,8378 \pm 0,0777
10	+(4)	-(05)	-(15)	+(21)	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	1,1125 \pm 0,1060
11	-(2)	+(10)	-(15)	+(21)	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	0,8840 \pm 0,1131
12	+(4)	+(10)	-(15)	+(21)	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	1,1560 \pm 0,1494
13	-(2)	-(05)	+(20)	+(21)	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	0,9340 \pm 0,1011
14	+(4)	-(05)	+(20)	+(21)	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	1,2154 \pm 0,1585
15	-(2)	+(10)	+(20)	+(21)	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	0,8250 \pm 0,1039
16	+(4)	+(10)	+(20)	+(21)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,2633 \pm 0,1132

* Número de experimentos analisados.

** % m/v – concentração da solução; % m/m – proporção do PEO; cm – distância agulha coletor; kV – tensão aplicada.

Analisando-se a FIG. 5.3, a qual apresenta a influência dos fatores e de suas interações no diâmetro médio das fibras produzidas, calculado segundo a proposta de Montgomery [55] a partir dos dados da TAB. 5.2, observa-se que a concentração da solução foi o fator que mais influenciou no aumento do diâmetro das fibras, com efeito positivo de 14,46%. Tal resultado pode ser explicado pelo fato de que, sendo a quitosana o componente predominante, as soluções com maior concentração deste polímero são mais viscosas [20] e, portanto, podem produzir fibras de maior espessura. No caso do PEO, este polímero, além de favorecer a eletrofiação da quitosana, sua proporção influenciou na redução do diâmetro das fibras ao diminuir a viscosidade das soluções [22,57], seu efeito foi de -4,94%. A tensão utilizada e sua interação com a concentração da solução foram os outros dois fatores que maior apresentaram influência em aumentar o diâmetro das fibras produzidas, 9,90 e 10,87%, respectivamente. No processo de eletrofiação, a tendência é que o aumento da tensão diminua o diâmetro das fibras [3], isso porque, segundo Zhang et al. [58] ao se aumentar a tensão aplicada, isto é, aumentar a intensidade do campo elétrico,

aumenta-se a força eletrostática repulsiva no jato, que favorece a formação de fibras mais finas. No entanto, uma possível explicação para os resultados aqui obtidos é que com o aumento da tensão, a solução presente na ponta da seringa é removida mais rapidamente à medida que o jato é ejetado do cone Taylor [58], e isso caracteriza um aumento na quantidade de polímero sendo ejetado e resulta no aumento do diâmetro das fibras. No caso de soluções mais concentradas o diâmetro será ainda maior.

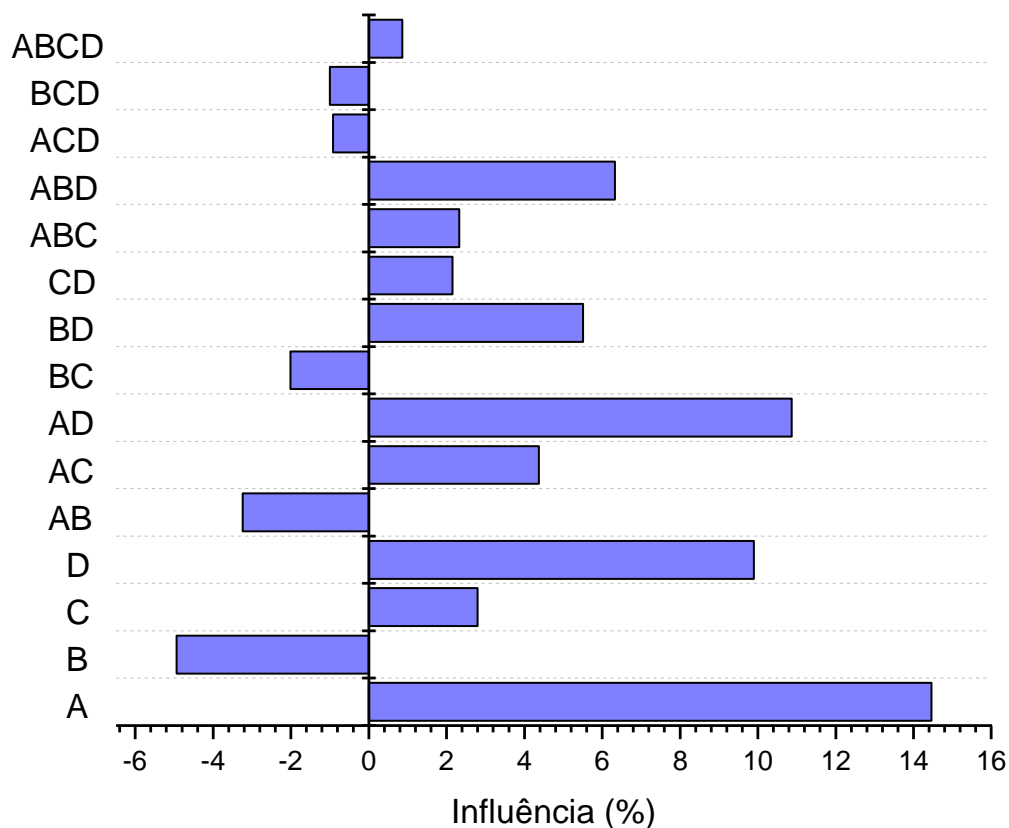


Figura 5.3: Diagrama do planejamento fatorial 2^4 mostrando a influência dos fatores concentração da solução % m/v (A), proporção do PEO % m/m (B), distância cm (C) e tensão kV (D) no diâmetro das fibras de quitosana e PEO produzidas.

A TAB. 5.3 apresenta a matriz com os níveis reais dos fatores: concentração da solução, proporção do PEO, distância e tensão tendo como resposta os quatro diâmetros médios utilizados no planejamento fatorial 2^4 realizado com o *software Chemoface*[®].

Tabela 5.3: Matriz do planejamento fatorial 2⁴, realizado utilizando o software Chemoface®, com as variáveis reais tendo como resposta o diâmetro médio das fibras eletrofiadas.

Exp.*	Fatores**				Diâmetro médio (µm)	Diâmetro médio (µm)	Diâmetro médio (µm)	Diâmetro médio (µm)
	[Solução] (% m/v)	Proporção PEO (% m/m)	Distância (cm)	Tensão (kV)				
1	2	5	15	15	0,9666	0,8547	0,9017	0,8821
2	2	5	15	21	0,8638	0,8384	0,8062	0,8426
3	2	5	20	15	0,8626	0,8732	0,8852	0,8762
4	2	5	20	21	0,9496	0,8558	1,0103	0,9204
5	2	10	15	15	0,8608	0,9594	0,9000	0,9649
6	2	10	15	21	0,9376	0,9798	0,8464	0,7721
7	2	10	20	15	0,8325	0,8824	0,8741	0,7402
8	2	10	20	21	0,8163	0,9585	0,7650	0,7601
9	4	5	15	15	0,9806	1,1862	1,0412	0,8647
10	4	5	15	21	1,0227	1,0721	1,1980	1,1574
11	4	5	20	15	1,1658	0,9616	1,1720	1,0472
12	4	5	20	21	1,3583	1,1523	1,1349	1,2160
13	4	10	15	15	0,7807	0,7561	0,7296	0,7823
14	4	10	15	21	1,1224	1,1310	1,1477	1,2231
15	4	10	20	15	0,8654	0,7661	0,8389	0,8974
16	4	10	20	21	1,2543	1,3070	1,2304	1,2616

* Número de experimentos analisados.

** % m/v – concentração da solução; % m/m – proporção do PEO; cm – distância agulha coletor; kV – tensão aplicada.

De acordo com a TAB. 5.3, o experimento 13, que corresponde a solução preparada a 4% na proporção 90:10% e eletrofiada nos parâmetros de 15 kV e 15 cm, produziu fibras de quitosana e PEO com os menores diâmetros, o que corrobora com o resultado obtido no planejamento fatorial realizado segundo a proposta de Montgomery [55].

Obtida a partir dos dados da TAB. 5.3 a TAB. 5.4 apresenta quais os efeitos foram estatisticamente significativos para determinação do diâmetro das fibras eletrofiadas.

Tabela 5.4: Estimativa dos efeitos, erros padrão e teste t de Student para o diâmetro das fibras eletrofiadas de acordo com o planejamento fatorial 2⁴.

	Efeito	Erro-padrão	t	p*
X1 - Concentração da solução (% m/v)	0,1808	0,0180	10,0604	2,0783x10 ⁻¹³
X2 - Proporção do PEO (% m/m)	-0,0618	0,0180	-3,4370	0,0012
X3 - Distância (cm)	0,0350	0,0180	1,9452	0,0576
X4 - Tensão (kV)	0,1237	0,0180	6,8852	1,1027x10 ⁻⁰⁸
X1*X2	-0,0406	0,0180	-2,2567	0,0286
X1*X3	0,0546	0,0180	3,0397	0,0038
X1*X4	0,1358	0,0180	7,5595	1,0260x10 ⁻⁰⁹
X2*X3	-0,0252	0,0180	-1,4019	0,1674
X2*X4	0,0689	0,0180	3,8340	3,6691x10 ⁻⁰⁴
X3*X4	0,0269	0,0180	1,4965	0,1411
X1*X2*X3	0,0291	0,0180	1,6208	0,1116
X1*X3*X4	0,0791	0,0180	4,4027	5,9525x10 ⁻⁰⁵
X1*X3*X4	-0,0114	0,0180	-0,6353	0,5282
X2*X3*X4	-0,0125	0,0180	-0,6969	0,4892
X1*X2*X3*X4	0,0108	0,0180	0,6005	0,5510

*Efeitos significativos no intervalo de confiança de 95%, p-valor < 0,05.

A representação gráfica dos dados da TAB. 5.4 está retratada na FIG. 5.4, pelo gráfico de Pareto, que mostra os valores absolutos dos efeitos e indica quais foram significativos (p -valor $< 0,05$).

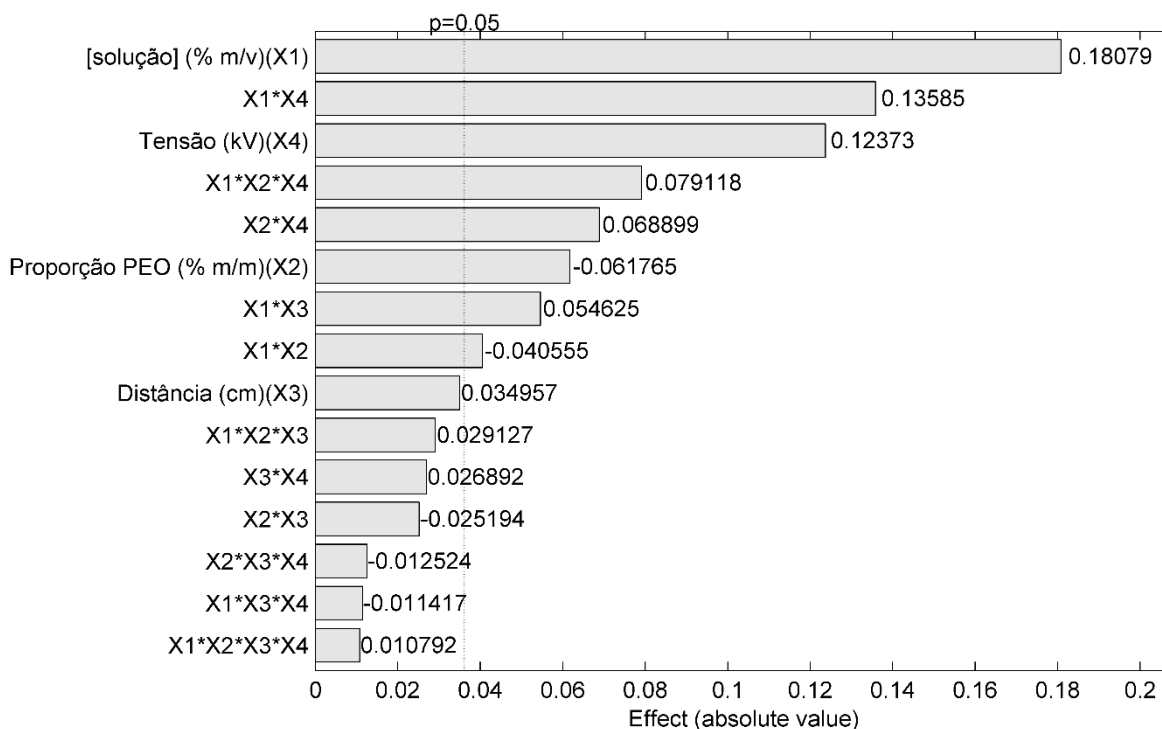


Figura 5.4: Gráfico de Pareto do planejamento fatorial 2^4 mostrando os efeitos dos fatores concentração da solução % m/v (X1), proporção do PEO % m/m (X2), distância cm (X3) e tensão kV (X4) no diâmetro das fibras de quitosana e PEO produzidas.

Na análise dos efeitos o fator mais significativo (p -valor $< 0,05$) para determinação do diâmetro das fibras eletrofiadas, corresponde a proporção do PEO. A adição deste polímero reduz o diâmetro das fibras eletrofiadas, como discutido nos resultados obtidos no planejamento fatorial 2^4 realizado segundo a proposta de Montgomery [55].

O mesmo efeito de redução também foi observado na interação dos fatores concentração da solução e proporção do PEO. O aumento da concentração da solução pode produzir fibras de maior espessura, uma vez que, sendo a quitosana o componente predominante, as soluções com maior concentração deste polímero são mais viscosas [20]. Entretanto, um aumento também na proporção do PEO resulta, segundo ambos os planejamentos realizados, na diminuição do diâmetro das fibras, visto que a adição do PEO reduz a viscosidade da solução de quitosana [22,57]. Os efeitos das interações entre ambos esses fatores podem ser observados na FIG. 5.5, a qual apresenta a superfície de resposta para o diâmetro das fibras poliméricas em função da concentração da solução (% m/v) versus proporção do PEO (% m/m), tendo como distância 15 cm e tensão 15 kV.

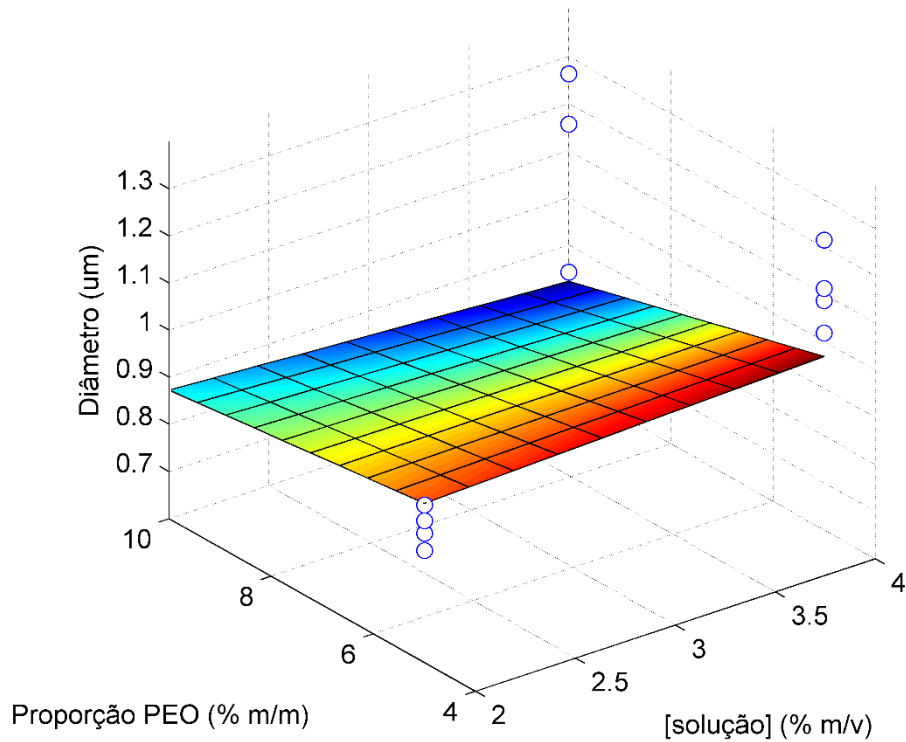


Figura 5.5: Superfície de resposta para o diâmetro das fibras poliméricas em função da concentração da solução (% m/v) versus proporção do PEO (% m/m), tendo como distância 15 cm e tensão 15 kV.

Conforme observa-se na FIG 5.5, quanto maior a concentração da solução e a proporção do PEO, menor é o diâmetro das fibras eletrofiadas, para uma distância de 15 cm e tensão de 15 kV.

5.3 - OBTENÇÃO DO FILME ELETROFIADO

Apesar dos resultados obtidos no planejamento experimental, para definição dos melhores parâmetros de eletrofição levou-se em conta a solução que apresentou menor desvio padrão relacionado à medida do diâmetro das fibras, conforme a (TAB 5.1). Tal análise estatística é capaz de indicar a solução que permite a obtenção de fibras mais homogêneas. Nesse caso, a solução de 2% na proporção 90:10%, eletrofiada nos parâmetros de 18 kV e 18 cm (FIG. 5.6), apresentou o melhor resultado com diâmetro médio e desvio padrão de $0,8117 \pm 0,0719 \mu\text{m}$.

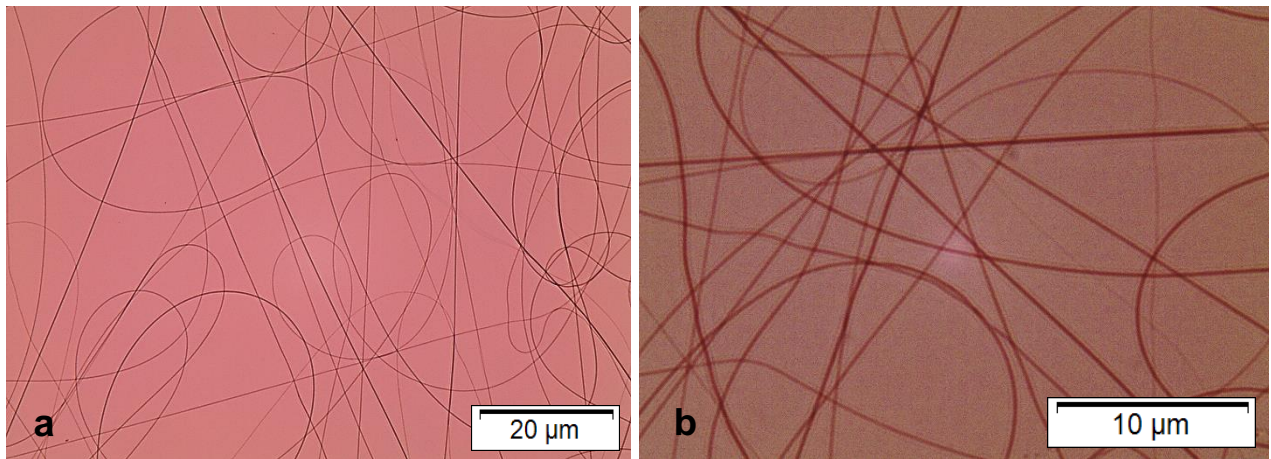


Figura 5.6: Imagens de microscopia ótica das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzidas sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas com as objetivas de 40x/0,65 (a) e 100x/1,25 (b).

A representação da frequência com que determinado diâmetro aparece nas imagens obtidas a partir da eletrofiação da solução de 2% na proporção 90:10% está apresentada no histograma da (FIG. 5.7). Os diâmetros entre 0,8137 e 0,8590 μm aparecem com maior frequência e diâmetros menores, por volta de 0,6329 a 0,6781 μm são menos frequentes. O menor diâmetro encontrado para as fibras desta solução foi de 0,6329 μm e o maior de 0,9494 μm .

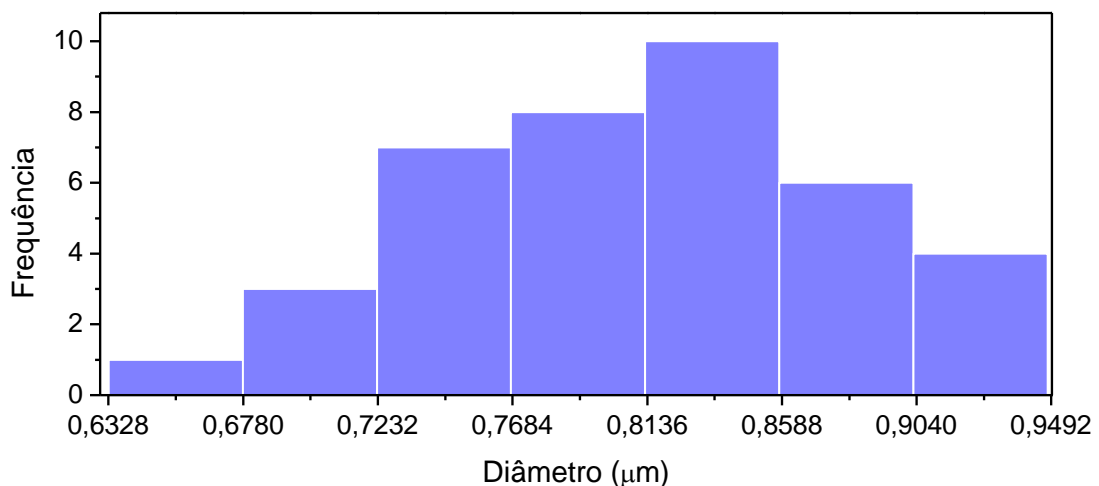


Figura 5.7: Histograma representativo da distribuição do diâmetro das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzidas sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

Com base nesses dados, foi produzido o filme a partir desta solução (FIG. 5.8), eletrofiando-se 4 mL, sob as condições de 25 ± 5 $^{\circ}\text{C}$ e 46 ± 5 % de umidade.

Durante o processo de eletrofiação, após um período de deposição das fibras, observou-se o acúmulo de microfibras na superfície do filme, mas tal fato não prejudicou a obtenção do mesmo.

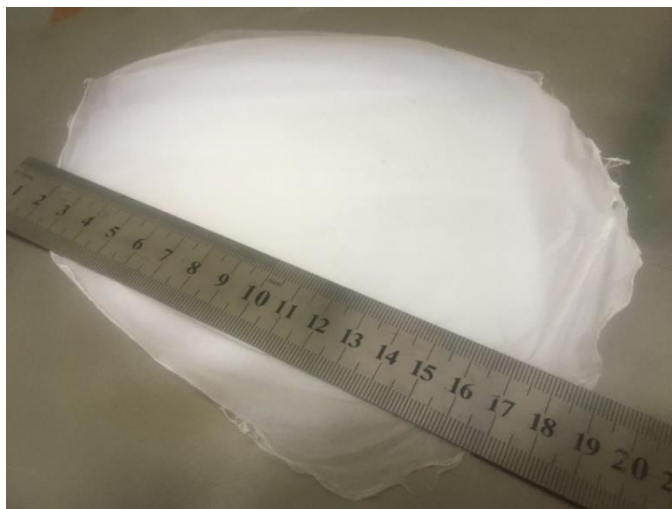


Figura 5.8: Fotografia do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

Após a obtenção do filme polimérico, foram realizadas medidas de microscopia eletrônica de varredura (FIG. 5.9), para melhor visualização das fibras.

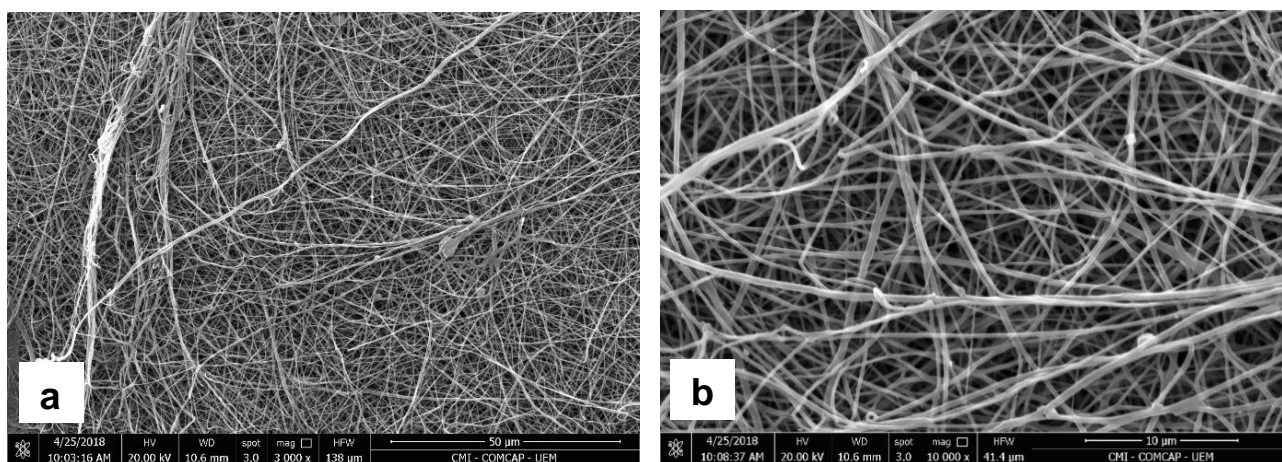


Figura 5.9: Imagens de microscopia eletrônica de varredura do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas em ampliações de 3000x – 50 µm (a) e 10000x – 10 µm (b).

As imagens de MEV indicam a eletrofiação de fibras sem a presença de *beads*. A medida do diâmetro dessas fibras a partir da imagem com ampliação de 10000x aponta diferença no diâmetro médio obtido pelas imagens das duas técnicas de microscopia. O que antes era uma média de $0,8117 \pm 0,0719 \mu\text{m}$ passou a ser com a nova medida $0,2855$

$\pm 0,0508 \mu\text{m}$, o que melhor corrobora com os resultados obtidos por outros autores [1,11,12,21,22].

5.4 - INCORPORAÇÃO DOS CORANTES NOS FILMES ELETROFIADOS

Na aplicação dos filmes, os estudos iniciais da incorporação dos corantes alaranjado de acridina, eritrosina e fluoresceína sódica nas soluções de 2% de quitosana e PEO na proporção 90:10%, foram bem-sucedidos, alteraram a coloração dos filmes eletrofiados o que indica interações dos mesmos com os polímeros (FIG. 5.10).

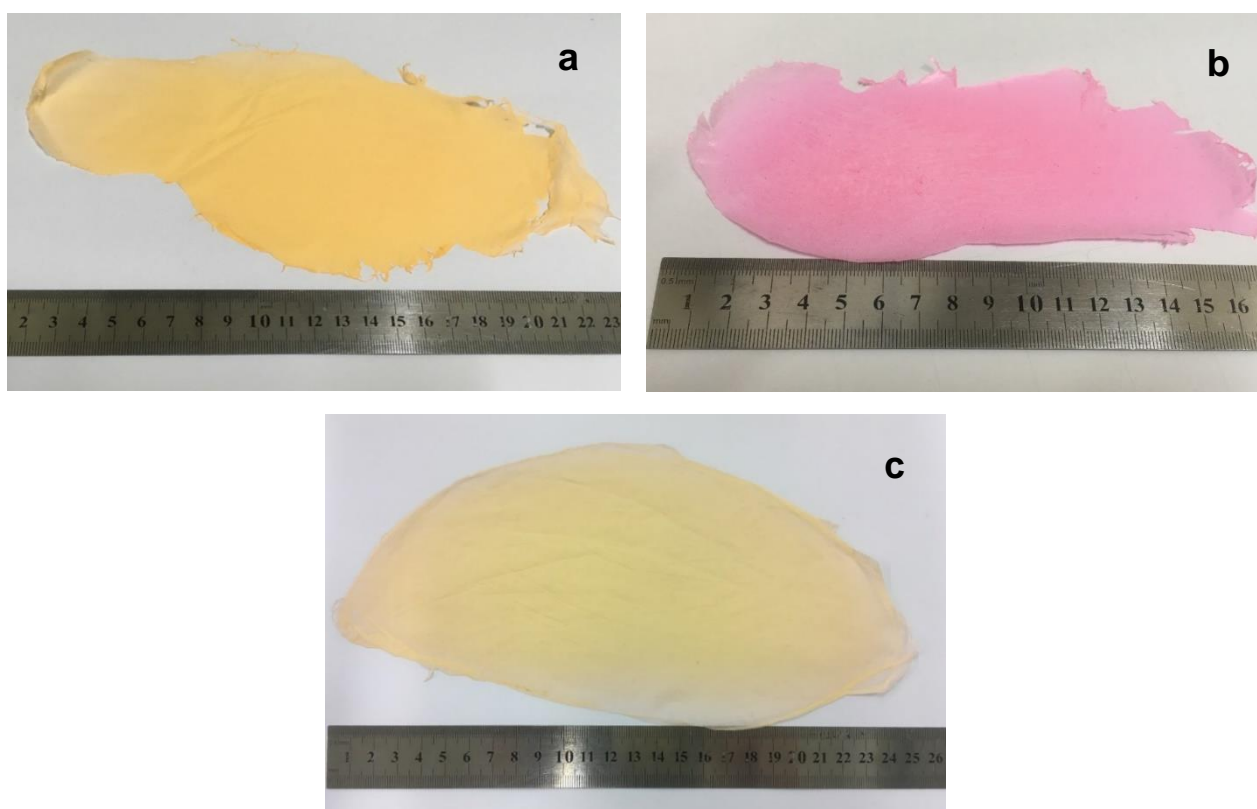


Figura 5.10: Fotografia dos filmes obtidos a partir da eletrofição das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

A incorporação dos corantes não produziu mudanças na morfologia das fibras eletrofiadas, como é possível visualizar nas imagens de MEV (FIG. 5.11). As fibras formadas mostraram-se uniformes e sem a presença de *beads*. No caso do diâmetro médio obteve-se os valores de $0,2472 \pm 0,0436 \mu\text{m}$, $0,2492 \pm 0,0355 \mu\text{m}$ e $0,2558 \pm 0,0424 \mu\text{m}$ para as fibras dos filmes obtidos com alaranjado de acridina, eritrosina e fluoresceína sódica, respectivamente.

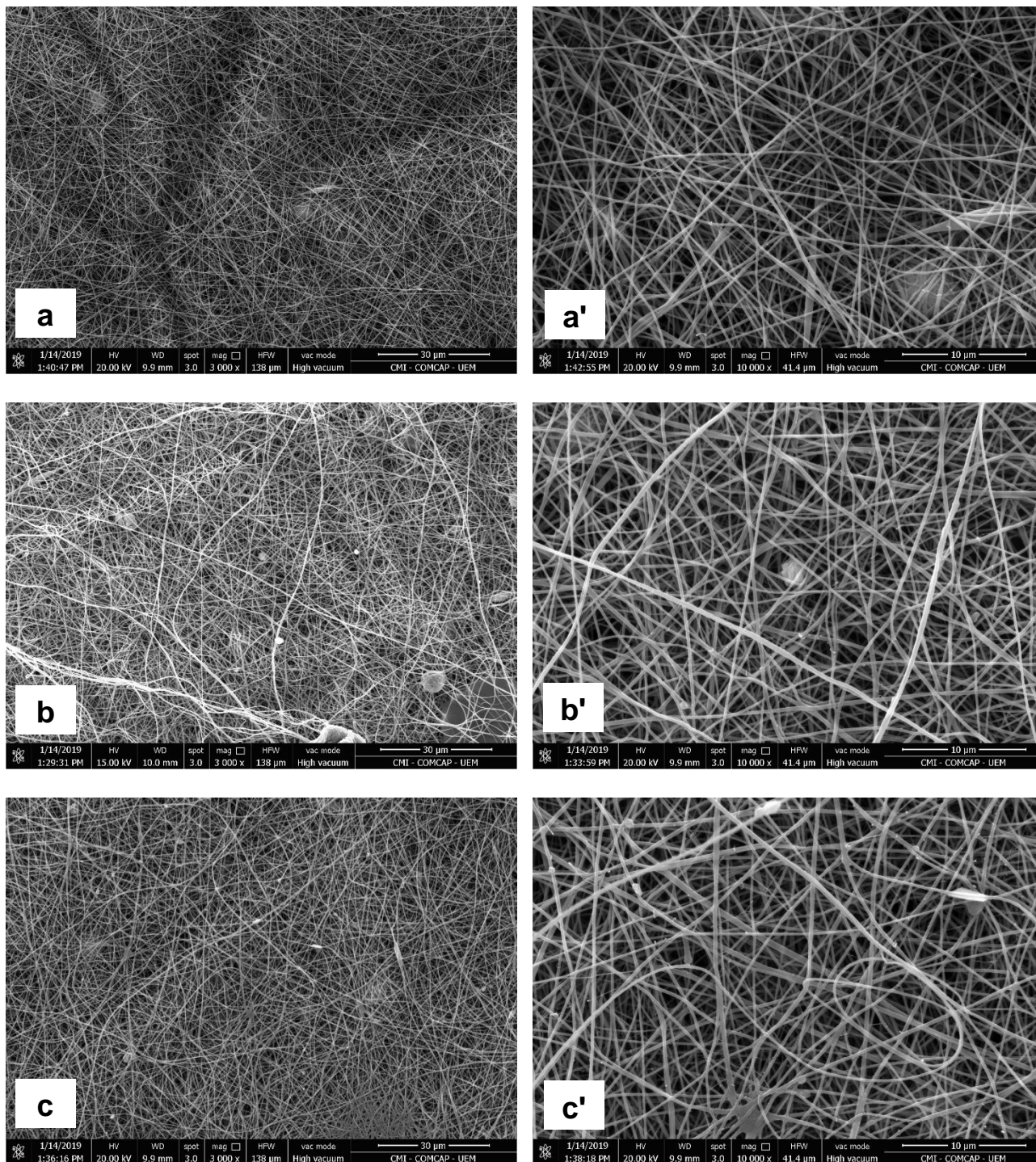


Figura 5.11: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a/a'), eritrosina (b/b') e fluoresceína sódica (c/c'), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas em ampliações de 3000x – 30 µm (esquerda) e 10000x – 10 µm (direita).

Nos espectros de absorção eletrônica dos corantes em solução aquosa (FIG. 5.12) verificou-se que o alaranjado de acridina apresenta comprimento de onda de máxima absorção em 491 nm [28,40,59], a eritrosina em 526 nm [37,60] e a fluoresceína sódica em 454 nm e 478 nm [61]. No caso do alaranjado de acridina, o aumento da concentração deste corante em solução altera o perfil da banda de absorção que apresenta aumento

relativo da intensidade em 470 nm, em comparação com 491 nm. Nessa situação, tal dependência da intensidade com a concentração permite que estas bandas sejam atribuídas ao dímero ($\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$) e ao monômero ($\lambda_{\text{max}} = 491 \text{ nm}$) do corante, respectivamente [40,59].

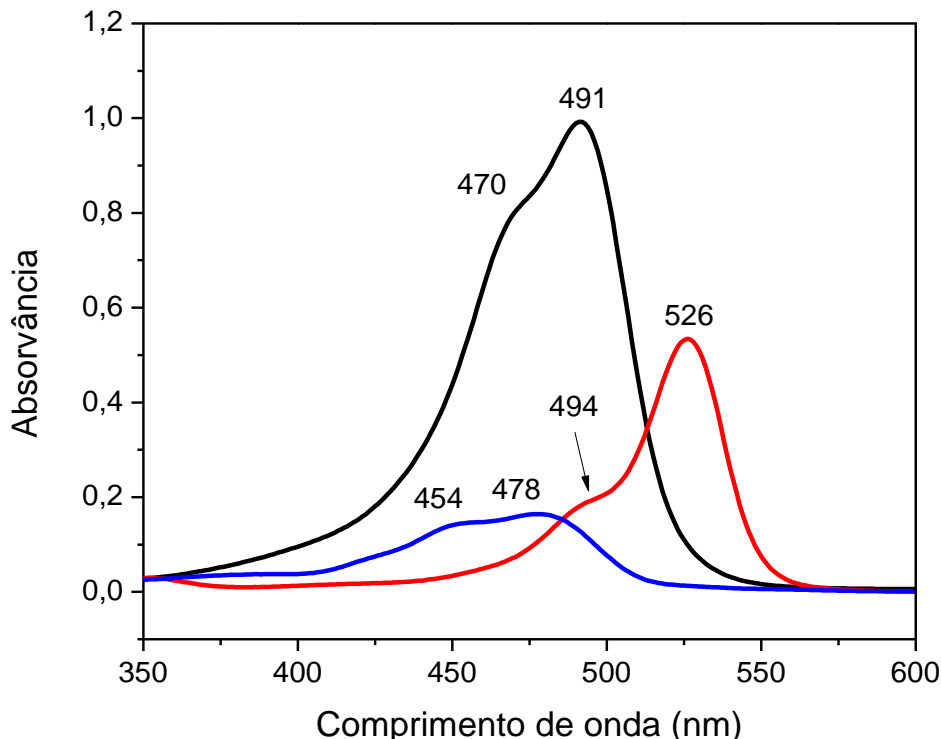


Figura 5.12: Espectros de absorção das soluções dos corantes alaranjado de acridina (—), eritrosina (—) e fluoresceína sódica (—), a 0,001% m/v em água purificada.

Diante disso, a comprovação da incorporação dos corantes nos filmes eletrofiados pode ser verificada pelos espectros de refletância no UV-Vis (FIG. 5.13). Os filmes com alaranjado de acridina, eritrosina e fluoresceína sódica apresentam, respectivamente, refletância nos comprimentos de onda de 491 nm e 469, 541 nm e 505 nm, valores estes muito próximos a máxima absorção dos corantes em solução (TAB. 5.5), o que confirma a presença dos mesmos nos filmes eletrofiados. No caso do filme eletrofiado com o alaranjado de acridina mudanças no perfil do espectro de refletância podem indício da presença de agregados do corante [28,40].

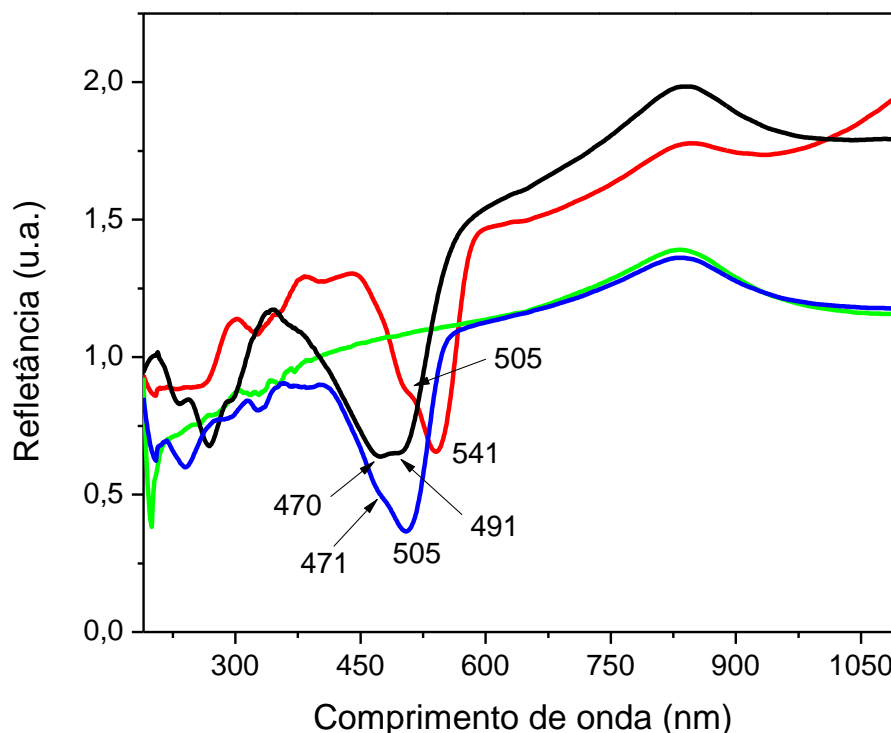


Figura 5.13: Espectros de refletância dos filmes obtidos a partir da eletrofição das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, sem (—) e com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (—), eritrosina (—) e fluoresceína sódica (—), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

Tabela 5.5: Comprimentos de ondas de máxima absorção dos corantes em solução e nos filmes eletrofiados.

Corantes	λ solução (nm)	λ refletância (nm)	λ solução (nm) - artigos
Alaranjado de acridina	470 - 491	469 - 491	467 - 490 [40]
Eritrosina	494 - 526	505 - 541	525 [37]
Fluoresceína sódica	454 - 478	471 - 505	457 - 484 [61]

Isto posto, tratando-se de estudos iniciais dos efeitos da incorporação dos corantes nos filmes eletrofiados, verificou-se que os espectros de fluorescência dos corantes eritrosina e fluoresceína sódica (FIG. 5.14b/c) são muito semelhantes às espécies em solução [61,62]. Por outro lado, os espectros de excitação de ambos os corantes apresentaram perfis diferentes dos espectros de excitação e absorção na solução. No filme o corante eritrosina apresenta λ_{ex} em 543 nm e λ_{em} em 575 nm que corresponde a $\lambda\Delta$ de 32 nm. A fluoresceína sódica, por sua vez, possui λ_{ex} a 469 nm e λ_{em} a 548 nm e $\lambda\Delta$ de 79 nm. Esta variação entre as bandas de excitação e emissão corresponde ao deslocamento de Stokes. Esse deslocamento é fundamental para aplicações do uso da fluorescência porque permite a fácil detecção da sua emissão [52].

No caso do corante alaranjado de acridina tanto o espectro de emissão quanto de excitação (FIG. 5.14a) apresentaram grandes diferenças. Neste caso, a banda de

emissão com formato alargado pode ser indicativo da possível formação de agregados, o que corrobora com o espectro de refletância do filme. Além disso, a presença do pico de excitação em 569 nm, que corresponde a emissão em 603 nm, é incomum. Como não foi observado bandas nesse comprimento de onda no espectro de refletância do filme, este pico pode ser indicativo da formação de excímero (dímero excitado), que poderia ser comprovado com medidas do tempo de vida [40].

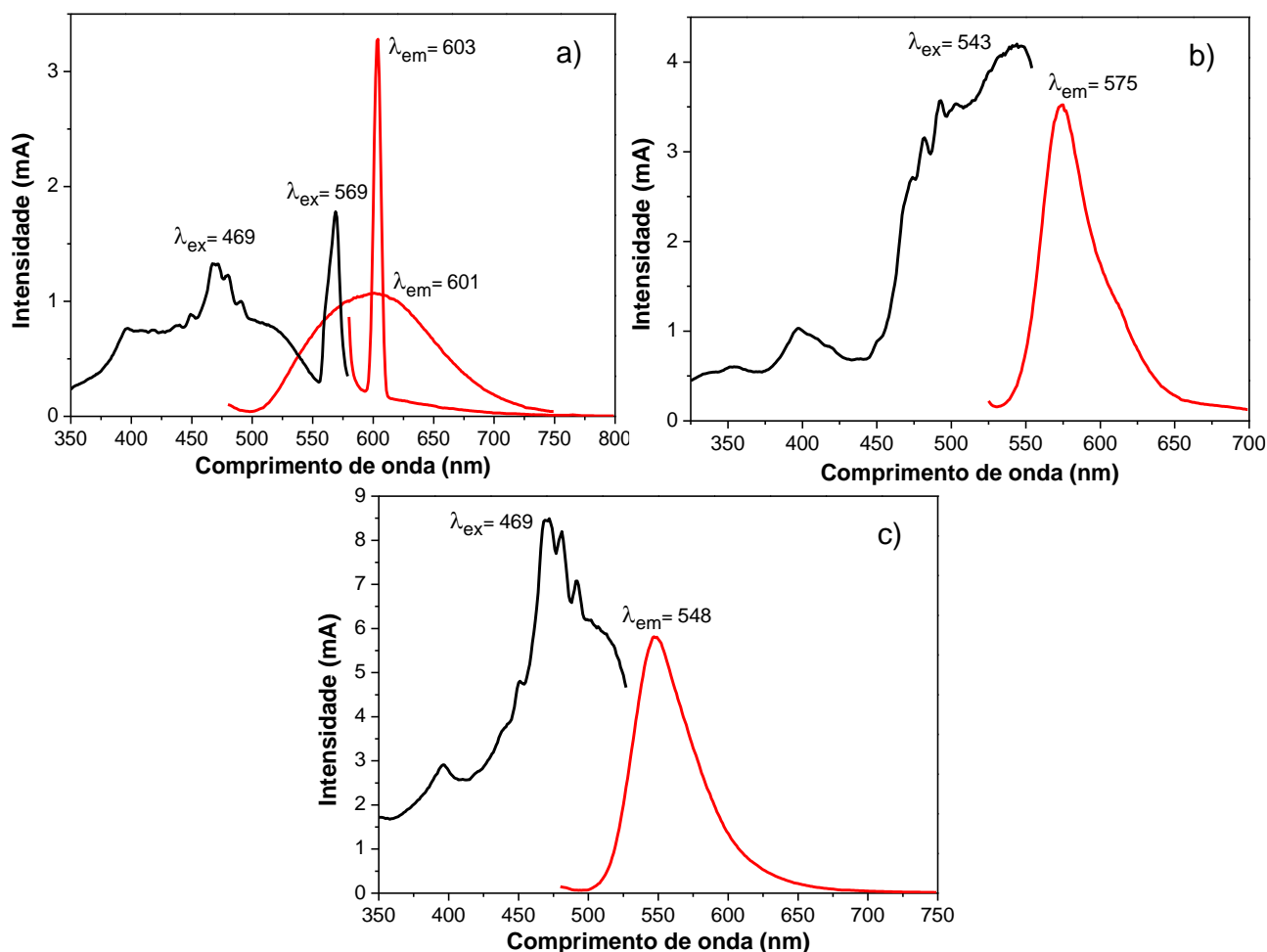


Figura 5.14: Espectros de emissão (—) e excitação (—) dos filmes obtidos a partir da eletrofiliação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

Ainda com relação a fluorescência dos filmes, a imagem FIG. 5.15 mostra o aspecto dos filmes sob a luz negra. No caso do filme com eritrosina, por se tratar de um corante com alta emissão, a diferença que é observada nessa luz é mínima. Independente disso, os resultados evidenciam a produção de filmes fluorescentes, o que torna o material produzido particularmente útil para aplicações como sensores flexíveis e sondas fluorescentes para espécies químicas. Ademais, o uso desses corantes tornar a produção bastante favorável, por se tratarem de produtos de fácil acesso e de baixo custo.

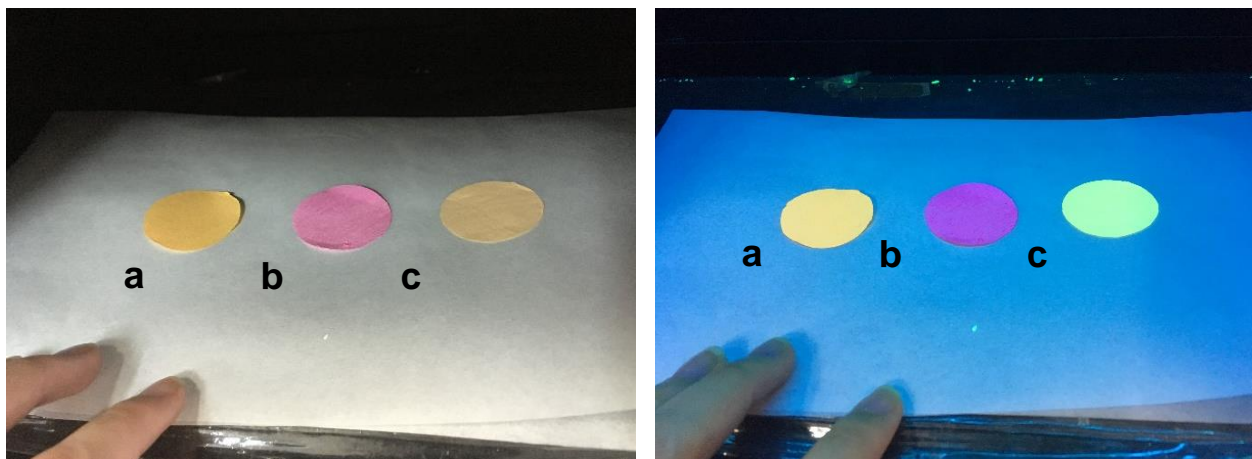


Figura 5.15: Fotografia da fluorescência na luz negra dos filmes obtidos a partir da eletrofiação das soluções de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 2% em relação a massa dos polímeros dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c), produzidos sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

5.5 - INCORPORAÇÃO DO ITÉRBIO NO FILME ELETROFIADO

A incorporação do acetato de itérbio III na solução de 2% de quitosana e PEO, na proporção 90:10%, também não produziu mudanças na morfologia das fibras eletrofiadas, como é possível visualizar nas imagens de microscopia ótica (FIG. 5.16). As fibras formadas igualmente mostraram-se uniformes e sem a presença de *beads*.

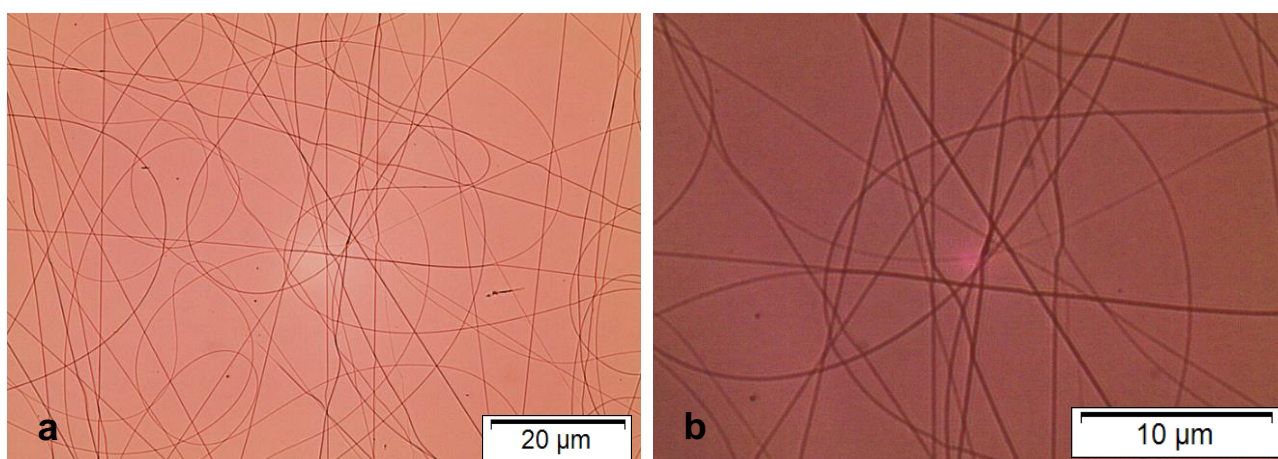


Figura 5.16: Imagens de microscopia ótica das fibras obtidas a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 3% em relação a massa dos polímeros de acetato de itérbio III, produzidas sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas com as objetivas de 40x / 0,65 (a) e 100x / 1,25 (b).

Na variação da tensão em 15, 18, 21 e 23 kV e da distância em 15, 18 e 20 cm a diferença encontrada para o desvio padrão do diâmetro médio das fibras produzidas sem e com a incorporação de itérbio (TAB. 5.6) não foi significativa, uma vez que o valor de F

experimental de 1,62 é menor que o valor de F crítico de 2,82, no intervalo de confiança de 95%.

Tabela 5.6: Diâmetro médio e desvio padrão das fibras eletrofiadas sem e com a incorporação de acetato de itérbio III produzidas sob diferentes parâmetros de eletrofiação.

Diâmetro médio e desvio padrão (μm)		
Parâmetros*	2% m/v 90:10% m/m	2% m/v 90:10% m/m + 3% acetato de itérbio III
15 kV	15 cm	0,9213 \pm 0,1021
	18 cm	0,9313 \pm 0,0977
	20 cm	0,9635 \pm 0,1089
18 kV	15 cm	0,8827 \pm 0,1211
	18 cm	0,8117 \pm 0,0719
	20 cm	0,8978 \pm 0,1224
21 kV	15 cm	0,8840 \pm 0,1131
	18 cm	0,9203 \pm 0,1178
	20 cm	0,8250 \pm 0,1039
23 kV	15 cm	0,9243 \pm 0,1005
	18 cm	0,8172 \pm 0,1106
	20 cm	0,7936 \pm 0,0916

* kV – tensão aplicada; cm – distância agulha coletor; % m/v – concentração da solução; % m/m – proporção quitosana:PEO.

Apesar dos parâmetros de 15 kV e 15 cm apresentarem desvio padrão menor para as fibras com itérbio (TAB. 5.6), optou-se por continuar utilizando os parâmetros de 18 kV e 18 cm, uma vez que a menor distância, de 15 cm, leva a deposição de gotas do solvente no coletor, fato esse observado no microscópio ótico. Assim, com base nesses dados, produziu-se o filme de quitosana, PEO e itérbio (FIG. 5.17), eletrofiando-se 4 mL da solução de 2%, na proporção 90:10%, com adição de 3% de acetato de itérbio III em relação a massa dos polímeros, sob as condições de 24 ± 5 °C e 45 ± 5 % de umidade relativa do ar.



Figura 5.17: Fotografia do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 3% em relação a massa dos polímeros de acetato de itérbio III, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor.

Após a obtenção do filme polimérico foram realizadas medidas de microscopia eletrônica de varredura (FIG. 5.18). De acordo com as imagens, a presença do itérbio realmente não produziu mudanças na morfologia e uniformidade das fibras. No caso do diâmetro médio este manteve-se em $0,2578 \pm 0,0561 \mu\text{m}$.

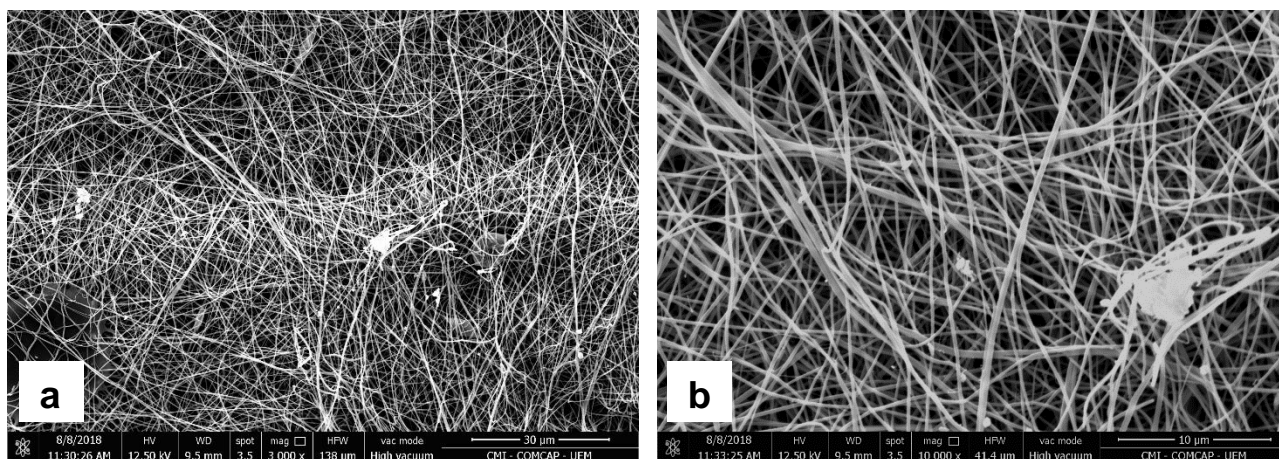


Figura 5.18: Imagens de microscopia eletrônica de varredura do filme obtido a partir da eletrofiação da solução de quitosana e PEO a 2% m/v, na proporção 90:10% m/m, com incorporação de 3% em relação a massa dos polímeros de acetato de itérbio III, produzido sob tensão aplicada de 18 kV e distância de 18 cm entre agulha e o coletor, vistas em ampliações de 3000x – 30 μm (a) e 10000x – 10 μm (b).

A incorporação do itérbio, comprovada por FRX, medida para o filme obtido da solução de 2% de quitosana e PEO, na proporção 90:10%, eletrofiado nas condições de 15 kV e 20 cm, a $0,5 \text{ mL h}^{-1}$. De acordo com a análise, a porcentagem em massa de itérbio no filme é de 4,4% dos 3% de acetato de itérbio III incorporado em relação a massa dos polímeros.

Diante disso, a possibilidade que a eletrofição oferece para aplicação dessas fibras com itérbio é da utilização do filme como sensor flexível.

5.6 - CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

Na caracterização por FTIR dos materiais, as principais bandas na região do infravermelho das amostras em pó de quitosana (FIG. 5.19a) e PEO (FIG. 5.19b) e seus respectivos números de onda (cm^{-1}) estão detalhadas na (TAB. 5.7).

Tabela 5.7: Principais bandas na região do infravermelho das amostras em pó de quitosana e PEO obtidas utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr).

Vibração	Número de onda (cm^{-1})	Referências
Quitosana		
OH e NH_2 deformação axial	3449	[57,63,64]
C-H estiramento simétrico e assimétrico	2925 e 2876	[65,66]
C=O deformação axial de amidas	1649	[63,65,66]
N-H deformação angular	1557	[22,67]
CH_2 deformações axial	1422	[66]
CH_3 deformações simétrica	1383	[66]
C–O–C (estrutura sacarídea) deformação axial	1152	[65,67,68]
C-O estiramentos	1071 - 949	[66,68]
Poli(óxido de etileno)		
O-H estiramento	3488	[64]
CH_2 deformação axial	2886	[57,67]
CH_2 deformação angular	1466 e 1348	[57]
C–O–C estiramento axial	1100	[2,22]

No filme eletrofiado (FIG. 5.19c), a protonação do grupamento amina da quitosana dá origem as bandas em 1551 cm^{-1} e 1407 cm^{-1} , ambas atribuídas ao grupamento NH_3^+ e nomeadas deformação antissimétrica e deformação simétrica, respectivamente [69,70]. Juntamente a isso, alterações da intensidade da banda que no espectro do filme

obtido por *casting* da solução de quitosana dissolvida em ácido acético 90% (FIG. 5.19e) se apresenta em 1060 cm^{-1} e nos filmes produzidos por eletrofiação e *casting* das soluções de quitosana e PEO (FIG. 5.19c/d) se encontra em 1071 cm^{-1} e 1064 cm^{-1} , respectivamente, pode ser indicativo do deslocamento e sobreposição da banda C–O–C do PEO para número de onda mais baixo, o que corrobora com os resultados de Pakravan et al. [2], e indica interações por ligações de hidrogênio entre o grupo amina da quitosana e o oxigênio do grupo éter do PEO.

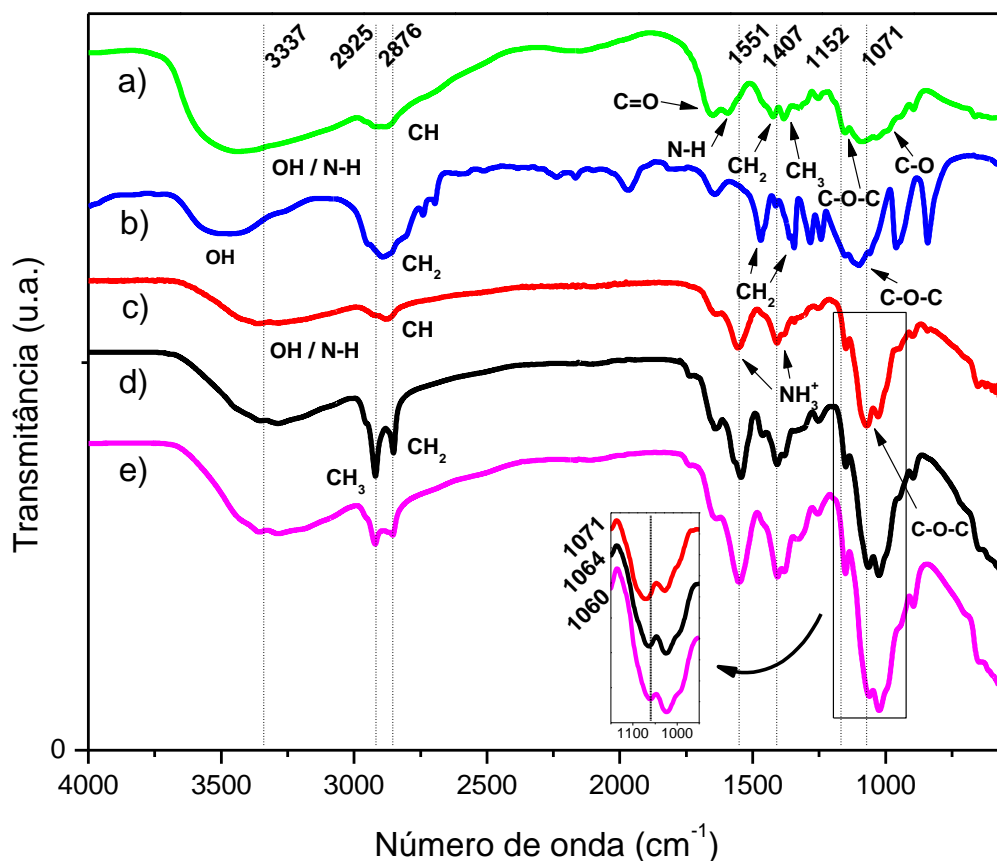


Figura 5.19: Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) obtidos utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) para as amostras em pó de quitosana (a) e PEO (b) e reflexão total atenuada (ATR) para os filmes produzidos por eletrofiação (c), *casting* quitosana e PEO (d) e *casting* quitosana (e).

Na comparação com os filmes obtidos por *casting* (FIG. 5.20), houveram mudanças na intensidade das bandas em 2925 cm^{-1} e 2876 cm^{-1} (FIG. 5.19d/e), atribuídas às vibrações de estiramento do C–H simétrico e assimétrico dos grupamentos metila existentes nos grupos não desacetilados da quitosana e as unidades metilênicas ligadas ao carbono 6 deste biopolímero [65], mudanças essas que indicam alterações na estrutura conformacional do polímero durante o processo de eletrofiação. Segundo Aluigi et al. [71] o estiramento do polímero na eletrofiação promove a orientação das cadeias poliméricas que leva a essa alteração na conformação, o que não ocorre no método de *casting* e por isso foram observadas diferenças nos espectros de vibração.

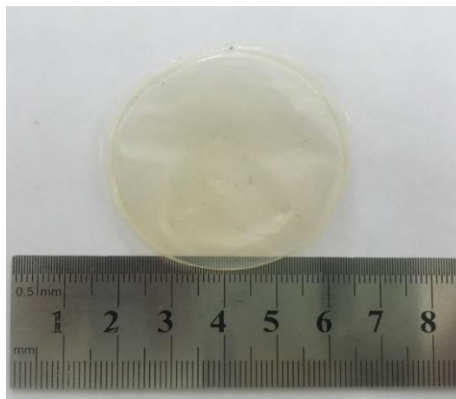


Figura 5.20: Fotografia do filme obtido pelo método de *casting* da solução de quitosana e PEO a 2% m/v e proporção 90:10% m/m.

A inibição das bandas em 1551 cm^{-1} e 1407 cm^{-1} (FIG. 5.21), atribuídas ao grupo NH_3^+ é efeito da incorporação dos corantes nos filmes eletrofiados. Este fato indica que a maior interação dos corantes com os polímeros ocorreu com o grupamento amina da quitosana. Como a proporção dos polímeros na solução é de 90:10%, para quitosana e PEO, respectivamente, tem-se a probabilidade de haver vários grupamentos livres na quitosana que podem interagir com os corantes, prova disso é a coloração dos filmes e os espectros de refletância e fluorescência.

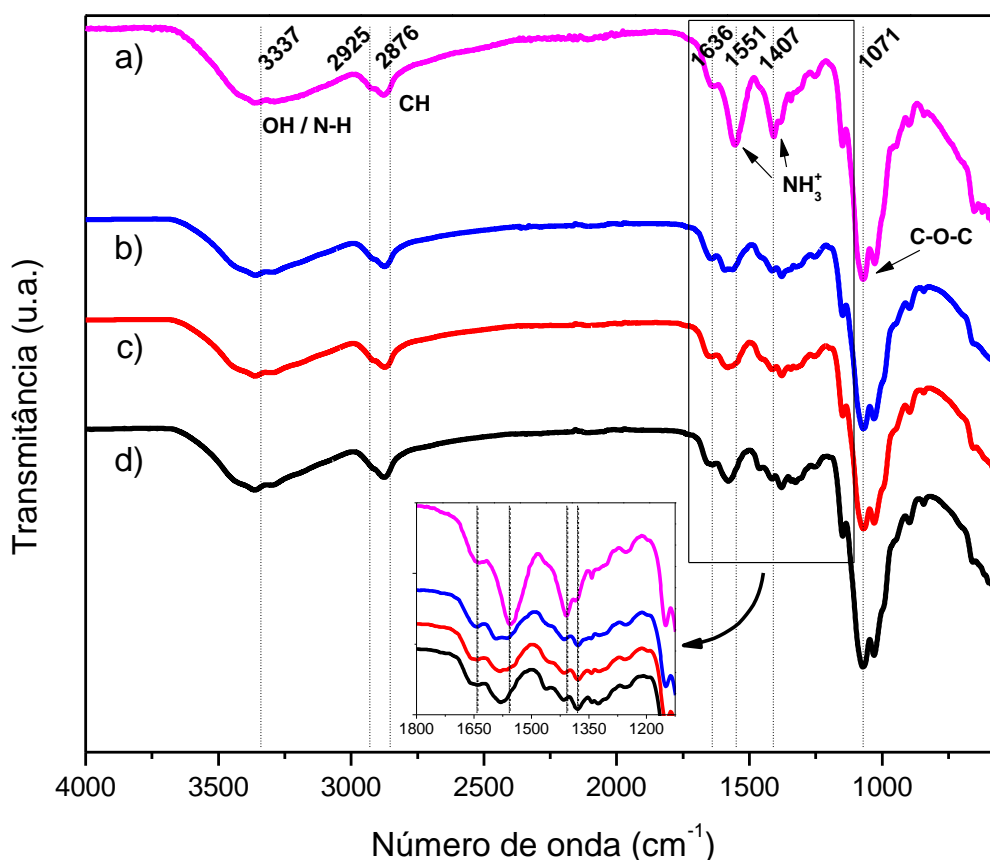


Figura 5.21: Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), obtidos utilizando a técnica de reflexão total atenuada (ATR), dos filmes eletrofiados sem (a) e com a incorporação dos corantes alaranjado de acridina (b), eritrosina (c) e fluoresceína sódica (d).

No caso da incorporação do acetato de itérbio III (FIG. 5.22) não houve mudanças detectáveis no espectro do filme eletrofiado com este material.

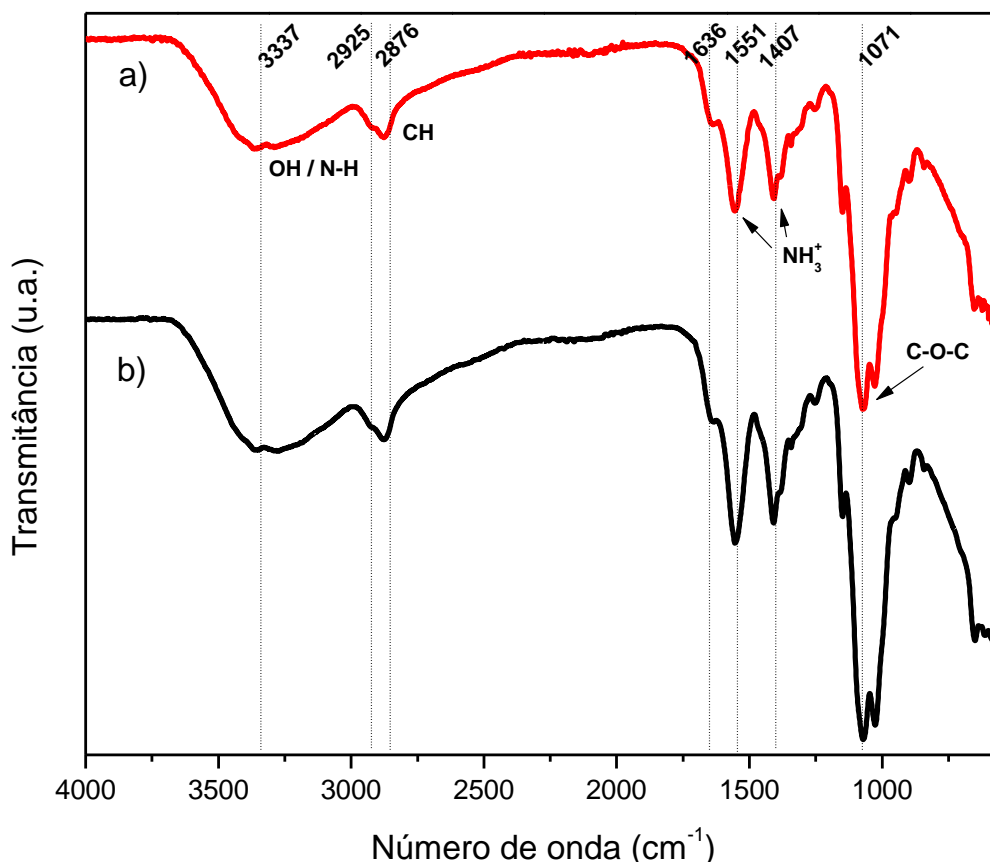


Figura 5.22: Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), obtidos utilizando a técnica de reflexão total atenuada (ATR), dos filmes eletrofiados sem (a) e com a incorporação de acetato de itérbio III (b).

Na análise de estabilidade térmica, realizada por termogravimetria, a curva da quitosana (FIG. 5.23a) apresenta dois eventos térmicos distintos de perda de massa. O primeiro que corresponde a perda de massa de 11%, ocorreu entre as temperaturas de 30°C e 100°C, foi atribuído à evaporação da água presente neste biopolímero. O segundo que começa em 289°C e continua até 375°C, e apresentou velocidade de degradação máxima em 305°C com perda de 43% é relativo a quitosana [1], a qual não apresenta perda total de massa e deixa material residual ao termino da análise que corresponde ao material inorgânico [72].

No caso do PEO em pó (FIG. 5.23b), a curva termogravimetrica apresenta apenas um evento de perda de massa, correspondente a sua degradação, que se inicia em aproximadamente 373°C, possui máxima em 399°C e continua até 425 °C com diminuição da intensidade até a perda total de massa em 569°C [1].

No termograma do filme eletrofiado (FIG. 5.23c) é possível observar os três eventos térmicos distintos de perda de massa característicos dos polímeros. O primeiro é

a evaporação da água que corresponde a 15% da massa. O segundo é a degradação da quitosana, que se inicia em 264°C com máxima em 283°C, sendo consecutivo ao terceiro que corresponde a degradação do PEO em 312°C com máxima em 389°C. Segundo Bonardd et al. [73] a diferença no início dos eventos em comparação com os polímeros em pó é devida às interações intermoleculares entre os componentes da mistura, que assim modificam a estabilidade térmica dos polímeros, o que corrobora com os resultados obtidos pela análise FTIR [63]. A solubilização dos polímeros pode levar a alteração do comportamento térmico. Este processo altera a conformação do polímero devido ao intumescimento e quebra de algumas interações, que podem mudar a estabilidade térmica desse material.

A forma de obtenção dos filmes poliméricos alterou a temperatura de degradação de ambos os polímeros (Quitosana e PEO). No caso do filme obtido por *casting* da solução de quitosana e PEO (FIG. 5.23d) a quantidade de água e de solvente se apresentou menor e a estabilidade térmica da quitosana diminuiu enquanto que a do PEO aumentou.

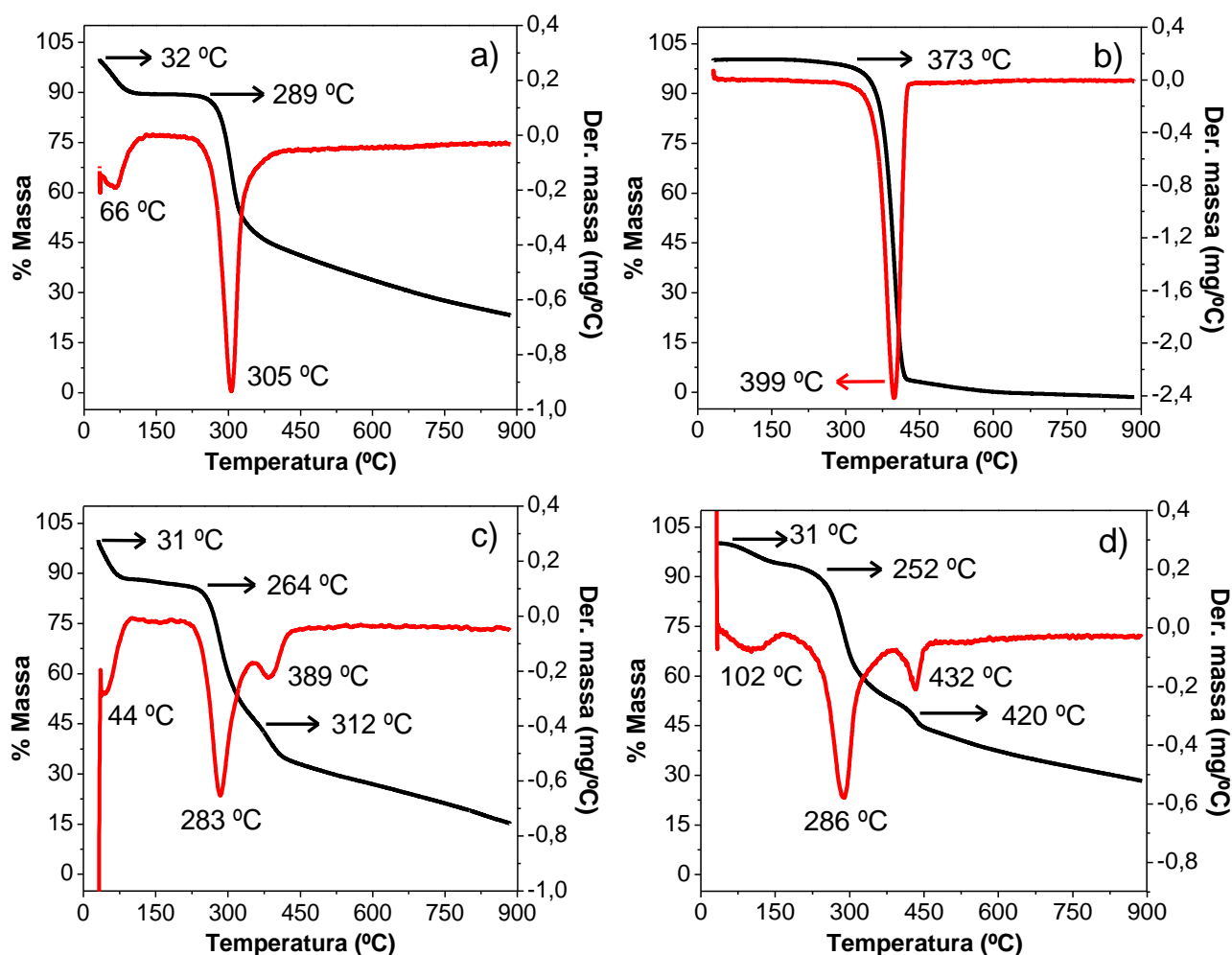


Figura 5.23: Curvas termogravimétricas — (TGA) e derivada das curvas de degradação — (DTG) das amostras em pó de quitosana (a) e PEO (b) e dos filmes produzidos por eletrofiado (c) e *casting* quitosana e PEO (d).

No caso dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes (FIG. 5.24), houve diminuição na temperatura de degradação da quitosana e ganho na estabilidade térmica do PEO quando comparado com o filme eletrofiado, indicando interações dos polímeros com os corantes. Especificamente no filme com eritrosina (FIG. 5.24b), a quantidade de solvente e água presentes é menor tanto em comparação com os filmes contendo os outros corantes quanto com o filme eletrofiado sem corante, isso certamente é devido as interações dos componentes da mistura com a eritrosina.

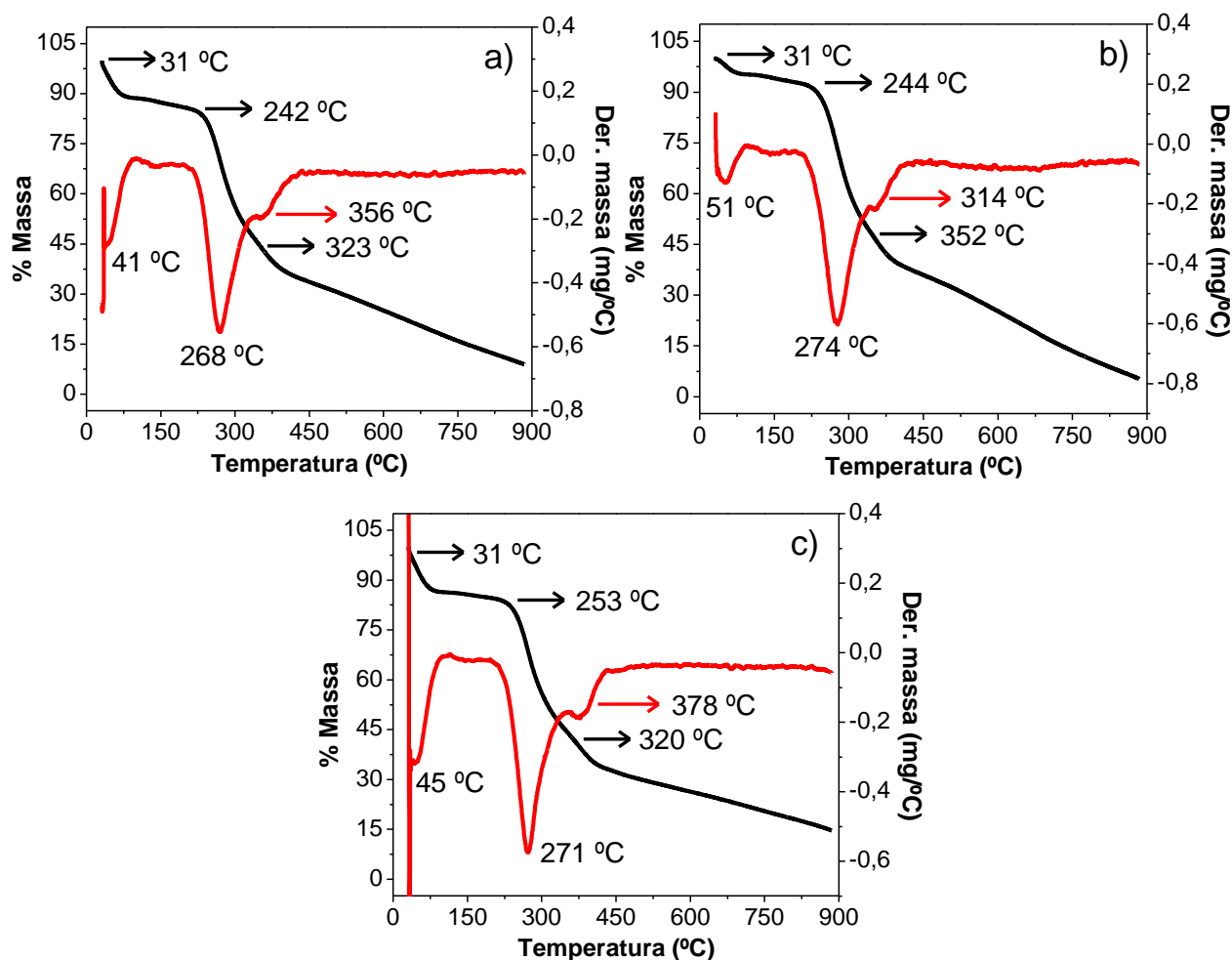


Figura 5.24: Curvas termogravimétricas — (TGA) e derivada das curvas de degradação — (DTG) dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) e fluoresceína sódica (c).

Por fim, os quatro eventos térmicos visíveis nas curvas de TGA do filme eletrofiado com a incorporação do itérbio (FIG. 5.25) correspondem, primeiro à evaporação da água, segundo a evaporação do ácido acético remanescente, o qual possui ponto de ebulição em 118°C, terceiro a degradação da quitosana com ligeira diminuição da estabilidade térmica em comparação com o material em pó e quarto a perda de massa do PEO, que se mantém na mesma temperatura do polímero em pó, sugerindo interação do mesmo com o itérbio.

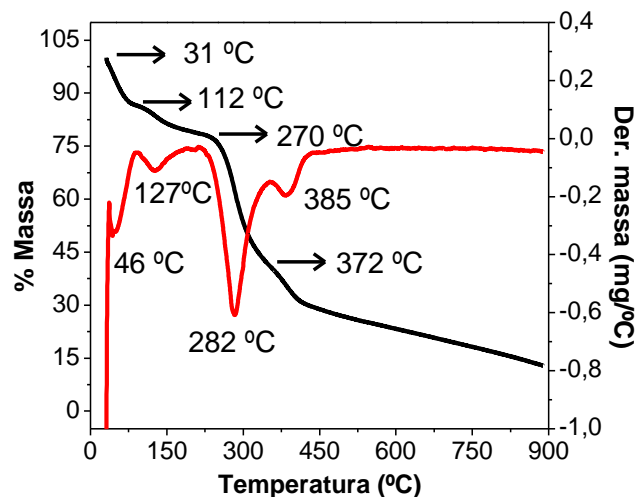


Figura 5.25: Curvas termogravimétricas — (TGA) e derivada das curvas de degradação — (DTG) do filme eletrofiado com incorporação de acetato de itérbio III.

Na análise das propriedades térmicas realizada por DSC, a curva da quitosana em pó (FIG. 5.26a) exibe apenas um pico endotérmico, em aproximadamente 100°C, atribuído à evaporação da água [1,68], que é confirmada pela perda de massa detectada no primeiro evento térmico das curvas de TGA e DTG, discutido anteriormente. De acordo com a literatura [25,67,73] a quitosana, assim como outros polissacarídeos, quando submetidos a temperaturas elevadas degradam antes que a temperatura de fusão seja atingida, devido às ligações de hidrogênio. No caso do PEO em pó (FIG. 5.26b), a curva de DSC mostra um pico endotérmico agudo em torno de 75°C ($F_{PEO(1)}$), que corresponde a fusão deste polímero e outro pico exotérmicos por volta de 50°C ($C_{PEO(2)}$), que se refere a sua cristalização [1,74].

Diante disso, na análise do filme eletrofiado (FIG. 5.26c) a presença do pico endotérmico em torno de 50°C ($F_{PEO(3)}$), corresponde a fusão do PEO [67], que na presença da quitosana ocorre em temperaturas mais baixas [1] devido a interação dos polímeros [25] confirmada na análise de infravermelho. Por sua vez, o pico endotérmico presente em aproximadamente 80°C refere-se à evaporação da água [63,67]. Logo, o pico exotérmico visível na curva de resfriamento em torno de 43°C ($C_{PEO(4)}$), corresponde a cristalização do PEO, que também ocorre em temperatura inferior devido a influência da quitosana [1].

No caso do filme obtido por *casting* (FIG. 5.26d) os picos de fusão e cristalização do PEO não são observados, indicando interação mais efetiva deste polímero com a quitosana, o que corrobora com a análise de TGA em relação ao aumento da estabilidade térmica do PEO.

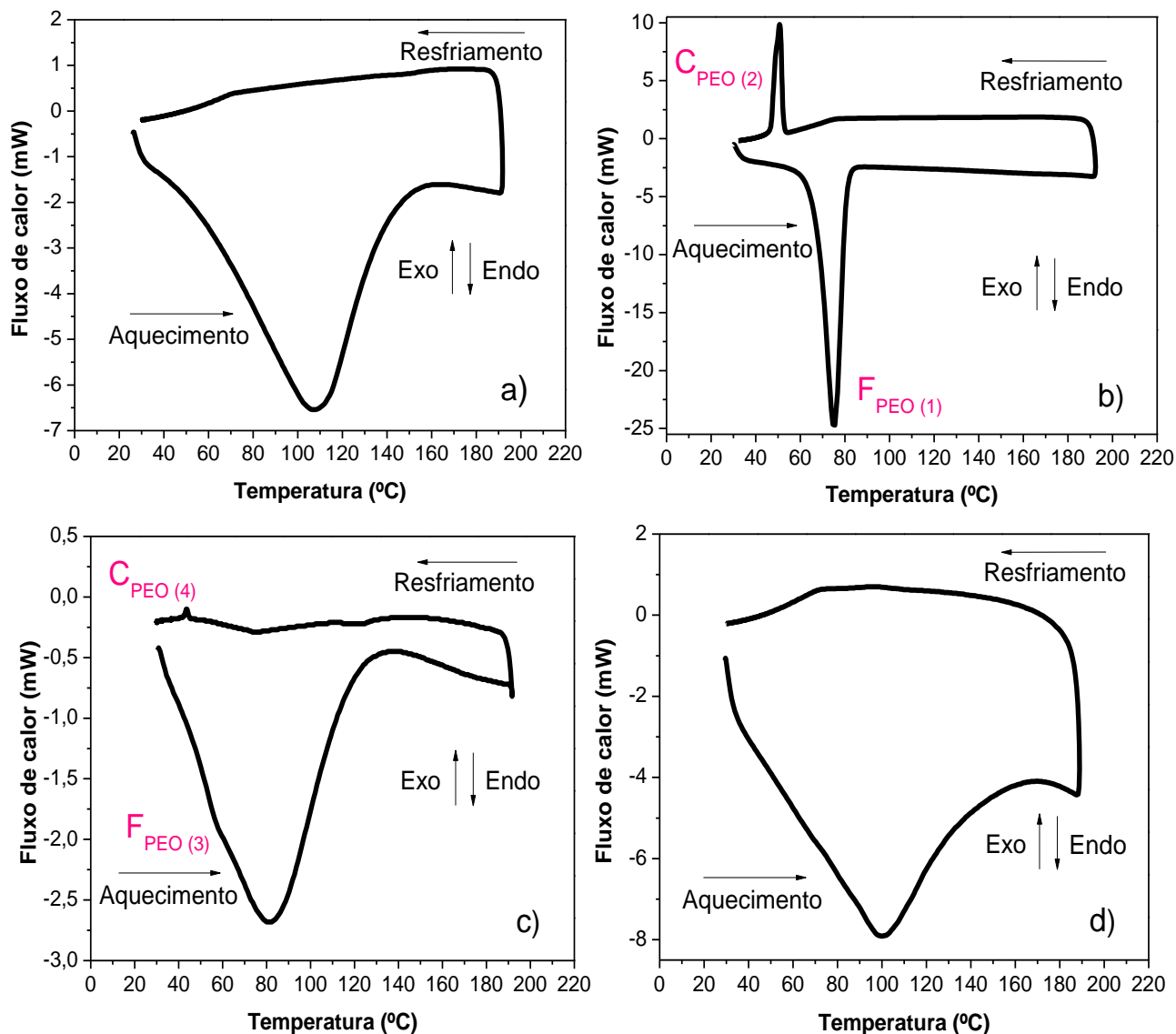


Figura 5.26: Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) das amostras em pó de quitosana (a) e PEO (b), e dos filmes produzidos por eletrofiado (c) e *casting* quitosana e PEO (d).

A incorporação dos corantes e do itérbio (FIG. 5.27) não levou a grandes mudanças nas temperaturas de fusão e cristalização do PEO em comparação com o filme eletrofiado sem estes materiais (TAB. 5.8). No entanto, com a incorporação dos mesmos, houve alteração dos calores envolvidos em cada processo e aumento da porcentagem de cristalinidade dos filmes, indicando interação dos materiais com o PEO, fato este que corrobora com os dados obtidos nas análises de FTIR e/ou TGA.

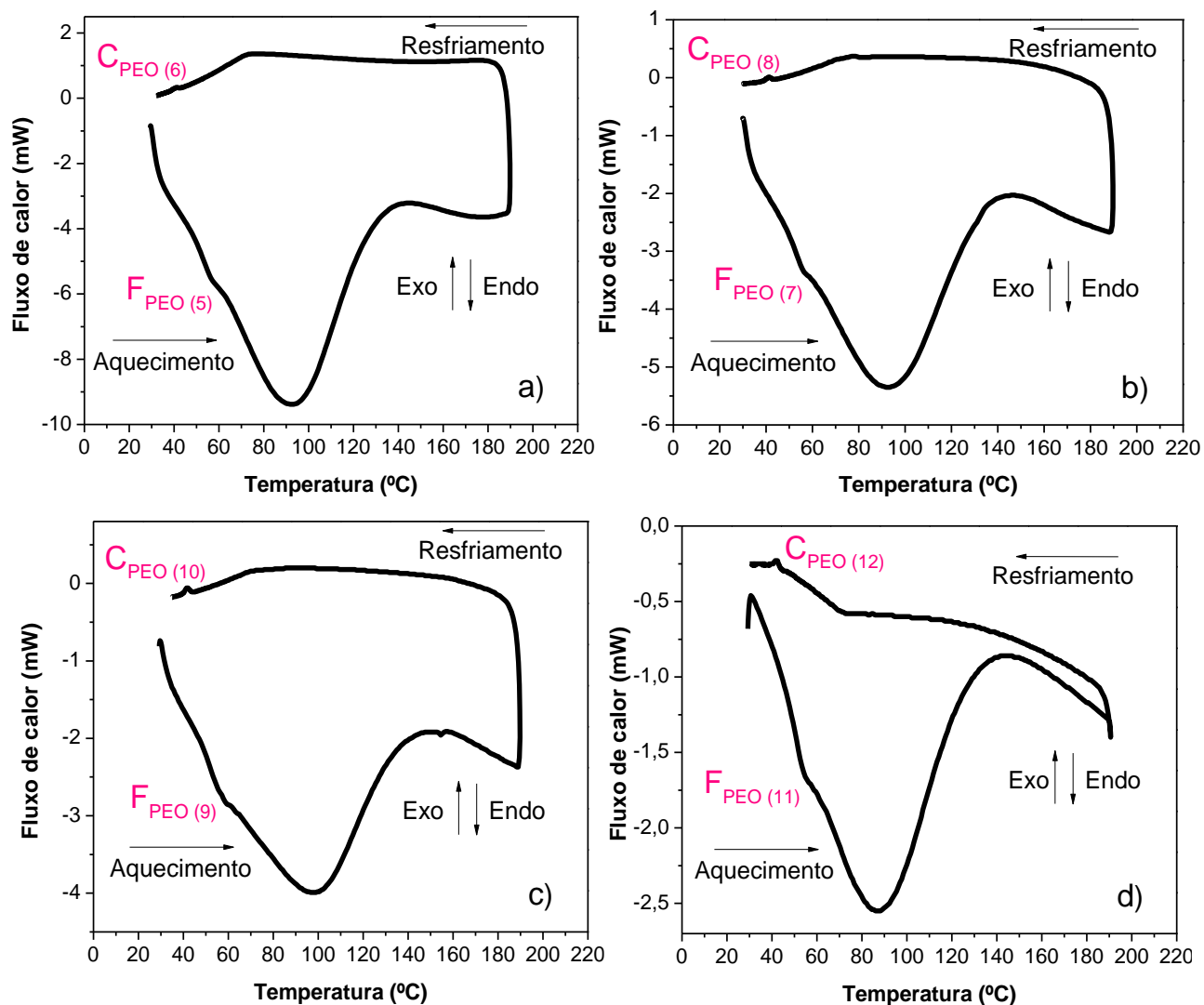


Figura 5.27: Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes alaranjado de acridina (a), eritrosina (b) fluoresceína sódica (c) e acetato de itérbio III (d).

Para o cálculo da porcentagem de cristalinidade das amostras, que neste caso se refere ao PEO, os valores dos calores envolvidos nos processos de fusão e cristalização estão apresentados na (TAB. 5.8). No caso da entalpia de fusão teórica do PEO 100% cristalino o valor é de 213 J g^{-1} [18].

Tabela 5.8: Temperaturas e entalpias de fusão e cristalização e porcentagem de cristalinidade das amostras.

Amostra	Picos		Picos		X _c (%)
	1, 3, 5, 7, 9 e 11		2, 4, 6, 8, 10 e 12		
	T _f (°C)	ΔH _f (J g ⁻¹)	T _c (°C)	ΔH _c (J g ⁻¹)	
PEO	75,49	158,92	50,71	-108,77	23,54
Filme quitosana e PEO eletrofiado	50,94	3,00	43,55	-1,95	0,49
Filme quitosana e PEO + alaranjado de acridina	51,78	2,75	43,72	-0,67	0,97
Filme quitosana e PEO + eritrosina	50,99	2,58	41,27	-0,75	0,85
Filme quitosana e PEO + fluoresceína sódica	51,70	3,21	41,72	-1,09	0,99
Filme quitosana e PEO + itérbio	50,18	3,61	41,95	-1,75	0,87
Filme quitosana e PEO <i>casting</i>	-	-	-	-	-
Quitosana	-	-	-	-	-

T_f – temperatura de fusão; ΔH_f – entalpia de fusão; T_c – temperatura de cristalização; ΔH_c – entalpia de cristalização; X_c – porcentagem de cristalinidade.

Na avaliação do grau de cristalinidade por difração de raios X (FIG. 5.28), é possível observar que o PEO é um polímero com alta cristalinidade e a quitosana um biopolímero semicristalino [22,68]. No caso do difratograma do material eletrofiado, tem-se apenas um pico de baixa intensidade por volta de 29° e, portanto, comportamento amorfo do filme, que corrobora com a análise de DSC. Segundo Kuntzler et al. [68] tal resultado pode estar relacionado a organização dos cristais de PEO pela aplicação da alta tensão durante o processo de eletrofiação, que pode também explicar a diferença nos difratogramas dos filmes eletrofiado e obtido por *casting*. Além disso, a baixa cristalinidade do PEO em ambos os filmes pode ser justificada pela interação deste polímero com a quitosana via ligações de hidrogênio [75], o que corrobora com os resultados encontrados nas análises anteriores.

Na incorporação dos corantes e do itérbio, apesar dos filmes continuarem apresentando propriedade predominantemente amorfa, os mesmos demonstram maior cristalinidade quando comparada com o filme apenas eletrofiado. Tal resultado corrobora com a análise de DSC que também indicou este aumento.

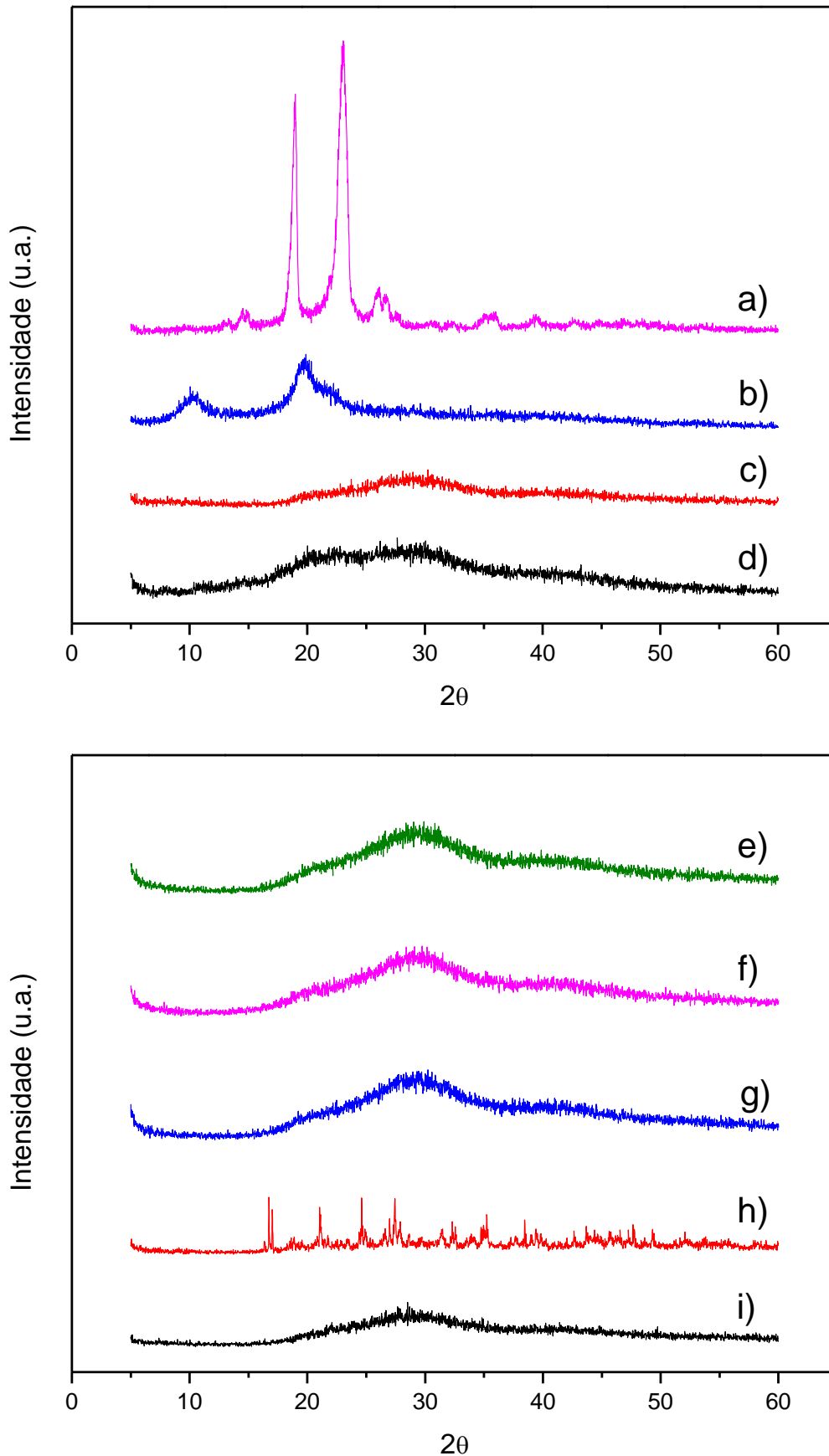


Figura 5.28: Difratogramas de raios X das amostras em pó de PEO (a) e quitosana (b), dos filmes produzidos por eletrofiação (c) e *casting* quitosana e PEO (d), dos filmes eletrofiados com incorporação dos corantes alaranjado de acridina (e), eritrosina (f) e fluoresceína sódica (g), da amostra pura de acetato de itérbio III (h) e do filme eletrofiado com incorporação do acetato de itérbio III (i), obtidos na varredura do ângulo 2θ de 5° a 60° , com incremento de $0,02^\circ$.

6 - CONCLUSÃO

Apesar da eletrofiação de soluções de quitosana se mostrar desafiadora, neste trabalho foi possível obter, a partir da otimização dos parâmetros, filmes eletrofiados de quitosana e PEO com alta proporção do biopolímero. A quitosana como componente biodegradável, biocompatível e assim como o PEO não tóxico, possibilita que esse filme produzido possa ser um bom candidato a biomaterial para aplicações biomédicas, alimentícias e farmacêuticas.

Ademais, a capacidade do filme eletrofiado ser trabalhado tornou possível a incorporação dos corantes fluorescentes, o que faz do material produzido útil para aplicações como sensores flexíveis e sondas fluorescentes para espécies químicas.

Além disso, a utilização do ácido acético como solvente proporciona aos filmes maior aplicabilidade, como também causa menor impacto ao ambiente, colaborando assim com os princípios da Química Verde.

Aliado a estes resultados está o êxito na incorporação do itérbio nos filmes eletrofiados e a produção de fibras livre de *beads* e com diâmetro médio de $0,2855 \pm 0,0508$ μm .

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Bizarria MTM, D'ávila MA, Mei LHI. Non-woven nanofiber chitosan/PEO membranes obtained by electrospinning. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2014;31(1):57-68.
- [2] Pakravan M, Heuzey M, Aji A. A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. *Polymer*. 2011;52(21):4813-4824.
- [3] Homayoni H, Ravandi SAH, Valizadeh M. Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. *Carbohydrate Polymers*. 2009;77 (3):656-661.
- [4] Lemma SM, Bossard F, Rinaudo M. Preparation of pure and stable chitosan nanofibers by electrospinning in the presence of poly(ethylene oxide). *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(11):1790-1805.
- [5] Corradini E, Curti PS, Gonzalez RSG, Pereira AGB, Dragunski DC, Martins AF, Muniz EC. Preparation of polymeric mats through electrospinning for technological uses. *Recent advances in complex functional materials*. Springer International Publishing; 2017.
- [6] Vrieze S, Westbroek P, Camp TV, Langenhove LV. Electrospinning of chitosan nanofibrous structures: feasibility study. *Journal of Materials Science*. 2007;42(19):8029-8034.
- [7] Ohkawa k, Cha D, Kim H, Nishida A, Yamamoto H. Electrospinning of Chitosan. *Macromolecular Rapid Communications*. 2004;25(18):1600-1605.
- [8] Geng X, Kwon O, Jang J. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*. 2005;26(27):5427-5432.
- [9] Su P, Wang C, Yang X, Chen X, Gao C, Feng X, Chen J, Ye J, Gou Z. Electrospinning of chitosan nanofibers: The favorable effect of metal ions. *Carbohydrate Polymers*. 2011;84(1):239-246.
- [10] Li L, Hsieh Y. Chitosan bicomponent nanofibers and nanoporous fibers. *Carbohydrate Research*. 2006;341(3):374-381.
- [11] Sencadas V, Correia DM, Areias A, Botelho G, Fonseca AM, Neves IC, Gomez Ribelles JL, Lanceros Mendez S. Determination of the parameters affecting electrospun chitosan fiber size distribution and morphology. *Carbohydrate Polymers*. 2012;87(2):1295-1301.
- [12] Desai K, Kit K, Li J, Zivanovic S. Morphological and surface properties of electrospun chitosan nanofibers. *Biomacromolecules*. 2008;9(3):1000-1006.

- [13] Vrieze S, Camp TV, Nelvig A, Hagström B, Westbroek P, De Clerck K. The effect of temperature and humidity on electrospinning. *Journal of Materials Science*. 2009;44(5):1357-1362.
- [14] İçoğlu Hİ, loğulata RT. Effect of ambient parameters on morphology of electrospun poly(trimethylene terephthalate) (PTT) fibers. *Journal of Textile & Apparel/Tekstil ve Konfeksiyon*. 2017;27(3):215-223.
- [15] Bhattarai N, Edmondson D, Veisoh O, Matsen FA, Zhang M. Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*. 2005;26(31):6176-6184.
- [16] Torres-giner S, Ocio MJ, Lagaron JM. Development of active antimicrobial fiber-based chitosan polysaccharide nanostructures using electrospinning. *Engineering in Life Sciences*. 2008;8(3):303-314.
- [17] Veleirinho B, Rei MF, Lopes-Da-Silva JA. Solvent and concentration effects on the properties of electrospun poly(ethylene terephthalate) nanofiber mats. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2008;46(5):460-471.
- [18] Song Z, Chiang SW, Chu X, Du H, Li J, Gan L, Xu C, Yao Y, He Y, Li B, Kang F. Effects of solvent on structures and properties of electrospun poly(ethylene oxide) nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*. 2017;135(5):45787-45796.
- [19] Min B, Lee SW, Lim JN, You Y, Lee TS, Kang PH, Park WH. Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. *Polymer*. 2004;45(21):7137-7142.
- [20] Klossner RR, Queen HA, Coughlin AJ, Krause WE. Correlation of chitosan's rheological properties and its ability to electrospin. *Biomacromolecules*. 2008;9(10):2947-2953.
- [21] Zhang J, Yang D, Xu F, Zhang Z, Yin R, Nie J. Electrospun core-shell structure nanofibers from homogeneous solution of poly(ethylene oxide)/chitosan. *Macromolecules*. 2009;42(14):5278-5284.
- [22] Chen Q, Xin ZX, Saha P, Kim JK. Fabrication of chitosan/PEO nanofiber mats with mica by electrospinning. *Journal of Polymer Engineering*. 2016;37(5):1-10.
- [23] Martinová L, Lubasová D. Electrospun chitosan based nanofibers. *Research Journal of Textile and Apparel*. 2008;12(2):72-79.
- [24] Bailey, F.E.; Koleske, J.V. *Poly(Ethylene Oxide)*. New York: Academic Press; 1976.
- [25] Duan B, Dong C, Yuan X, Yao K. Electrospinning of chitosan solutions in acetic acid with poly(ethylene oxide). *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*. 2004;15(6):797-811.
- [26] Chatterjee S, Kumar GS. Binding of fluorescent acridine dyes acridine orange and 9-aminoacridine to hemoglobin: Elucidation of their molecular recognition by spectroscopy, calorimetry and molecular modeling techniques. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2016;159:169-178.
- [27] Kwizera R, Akampurira A, Williams D, Boulware DR, Meya DB. Acridine orange fluorescent microscopy is more sensitive than India ink light microscopy in the rapid detection of cryptococcosis among CrAg positive HIV patients. *Plos One*. 2017;12(7):1-9.

- [28] Karmakar A, Banerjee S, Singh B, Mandal NC. Study of hydrogen bonding interaction of acridine orange with different acceptor molecules by spectroscopic, theoretical, and antimicrobial studies. *Journal of Molecular Structure*. 2019;1177:418-429.
- [29] Houtman CJ, Kitin P, Houtman JCD, Hammel KE, Hunt CG. Acridine orange indicates early oxidation of wood cell walls by fungi. *Plos One*. 2016;11(7):1-19.
- [30] Iessi E, Logozzi M, Lugini L, Azzarito T, Federici C, Spugnini EP, Mizzoni D, Raimo R, Angelini DF, Battistini L, Cecchetti S, Fais S. Acridine orange/exosomes increase the delivery and the effectiveness of acridine orange in human melanoma cells: A new prototype for theranostics of tumors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2017;32(1):648-657.
- [31] Powless AJ, Conley RJ, Freeman KA, Muldoon TJ. Considerations for point-of-care diagnostics: evaluation of acridine orange staining and postprocessing methods for a three-part leukocyte differential test. *Journal of Biomedical Optics*. 2017;22(3):1-10.
- [32] Amado AM, Ramos AP, Silva ER, Borissevitch IE. Quenching of acridine orange fluorescence by salts in aqueous solutions: Effects of aggregation and charge transfer. *Journal of Luminescence*. 2016;178:288-294.
- [33] Aksoy Ö, Kurt B, Ermutlu CŞ, Çeçen K, Yayla S, Ekinci M, Özaydin I, Ünlüer SE. Fluorescein as a diagnostic marker of bladder ruptures: an experimental study on rabbit model. *Journal of Veterinary Research*. 2016;60(2):213-217.
- [34] Kyei S, France D, Asiedu K. Microbial contamination of multiple-use bottles of fluorescein ophthalmic solution. *Clinical and Experimental Optometry*. 2018;102(1):30-34.
- [35] Lozano-Torres B, Pascual L, Bernardos A, Marcos MD, Jeppesen JO, Salinas Y, Martínez-Mañez R, Sancenón F. Pseudorotaxane capped mesoporous silica nanoparticles for 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) detection in water. *Chemical Communications*. 2017;53(25):3559-3562.
- [36] Mahajan PG, Bhopate DP, Kolekar GB, Patil SR. FRET Sensor for erythrosine dye based on organic nanoparticles: application to analysis of food stuff. *Journal of Fluorescence*. 2016;26(4):1467-1478.
- [37] Pedro MFC, Kalck AS, Santos KF, Sousa MS, Romio KB, Souto PCS, Silva JR, Souza NC. Immobilization of triclosan and erythrosine in layer-by-layer films applied to inactivation of microorganisms. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2018;22:158-165.
- [38] Garapati C, Clarke B, Zadora S, Burney C, Cameron BD, Fournier R, Baugh RF, Boddu SHS. Development and characterization of erythrosine nanoparticles with potential for treating sinusitis using photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2015;12(1):9-18.
- [39] Yassunaka NN, Freitas CF, Rabello BR, Santo PR, Caetano W, Hioka N, Nakamura TU, Abreu Filho BA, Graton Mikcha JM. Photodynamic inactivation mediated by erythrosine and its derivatives on foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Current Microbiology*. 2015;71(2):243-251.
- [40] Hubenko KO, Yefimova SL, Tkacheva TN, Maksimchuk PO, Sedyh OO, Viagin OG, Sorokin AV, Malyukin YV. Excimer emission of acridine orange adsorbed on gadolinium-yttrium orthovanadate nanoparticles. *Journal of Fluorescence*. 2018;28(4):943-949.

- [41] Hillson PJ, Mckay RB. Aggregation of dye molecules in aqueous solution a polarographic study. *Transactions Of The Faraday Society*. 1965;61:374-382.
- [42] Muntean SG, SIMU GM, Kurunczi L, Szabadai Z. Experimental and mathematical of the aggregation of a green trisazo direct dye. *Revista de Chimie Bucharest*. 2008;59(8):894-897.
- [43] Hamlin JD, Whiting A. An insight into the mechanism of the cellulose dyeing process, part 2: Simulation of aggregation, solvent and additive effects upon azo-linked aromatics and dyes. *Molecular Simulation*. 2005;31(8):605-612.
- [44] Amado AM. Estudos da agregação de corantes ciânicos em soluções aquosas homogêneas e na presença de nanoestruturas [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2017.
- [45] Walker GM, Weatherley LR. Adsorption of dyes from aqueous solution - the effect of adsorbent pore size distribution and dye aggregation. *Chemical Engineering Journal*. 2001;83:201-206.
- [46] Coates E. Aggregation of dyes in aqueous solutions. *Journal of the Society of Dyers and Colourist*. 2008;85(8):355-368.
- [47] Valeur B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*. Weinheim: Wiley-VCH; 2001.
- [48] Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. *Princípios de Análise Instrumental*. 5ª edição. Porto Alegre: Bookman; 2002.
- [49] Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3ª edition. Springer; 2006.
- [50] Sotomayor MDPT, Dias ILT, Lanza MRV, Moreira AB, Kubota LT. Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas. *Química Nova*. 2008;31(7):1755-1774.
- [51] Rodrigues CED. Avaliação metrológica da resposta de sinais de fluorescência para medições de pigmentos em água [dissertação]. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro; 2007.
- [52] Pavoni JF, Neves-Junior WFP, Spiropulos MA, Araújo DB. Uma montagem experimental para a medida de fluorescência. *Revista Brasileira de Ensino de Física*. 2014;36(4):4501-4509.
- [53] Sarkar S, Roy S, Sikdar A, Saha RN, Panja SS. A pyrene-based simple but highly selective fluorescence sensor for Cu²⁺ ions via a static excimer mechanism. *The Analyst*. 2013; 138(23): 7119-7126.
- [54] Sorokin AV, Gnap BA, Bepalova II, Yefimova SL, Malyukin YV. Configuration of organic dye excimers in nanoporous SiO₂ matrices. *Journal Of Luminescence*. 2016;179:171-177.
- [55] Montgomery DC. *Introdução ao controle estatístico de qualidade*. 4ª edição. Livros Técnicos e Científicos; 2004.
- [56] Kong Y, Hay JN. The measurement of the crystallinity of polymers by DSC. *Polymer*. 2002;43(14):3873-3878.

- [57] Darbasizadeh B, Motasadizadeh H, Foroughi-Nia B, Farhadnejad H. Tripolyphosphate-crosslinked chitosan/poly (ethylene oxide) electrospun nanofibrous mats as a floating gastro-retentive delivery system for ranitidine hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical*. 2018;153:63-75.
- [58] Zhang C, Yuan X, Wu L, Han Y, Sheng J. Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats. *European polymer journal*. 2005;41(3):423-432.
- [59] Markarian AS, Shahinyan GA. The effect of dimethylsulfoxide on absorption and fluorescence spectra of aqueous solutions of acridine orange base. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015;151:662-666.
- [60] Xu Z, Zheng L, Yin Y, Wang J, Wang P, Ren L, Eremin SA, He X, Meng M, Xi R. A sensitive competitive enzyme immunoassay for detection of erythrosine in foodstuffs. *Food Control*. 2015;47:472-477.
- [61] Łukarska M, Jankowska A, Gapiński J, Valable S, Anfray C, Ménard B, Mintova S, Kowalak S. Encapsulation of fluorescein into nanozeolites L and Y. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2018;260:70-75.
- [62] Szabelski M, Ilijev D, Sarkar P, Luchowski R, Gryczynski Z, Kapusta P, Erdmann R, Gryczynski, I. Collisional quenching of erythrosine b as a potential reference dye for impulse response function evaluation. *Applied Spectroscopy*. 2009;63(3):363-368.
- [63] Farias BS, Vida EM, Ribeiro NT, Silveira Junior N, Vaz BS, Kuntzler SG, Morais MG, Cadaval Junior TRS, Pinto LAA. Electrospun chitosan/poly(ethylene oxide) nanofibers applied for the removal of glycerol impurities from biodiesel production by biosorption. *Journal of Molecular Liquids*. 2018; 268:365-370.
- [64] Kohsari I, Shariatinia Z, Pourmourtazavi SM, Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing ZIF-8 nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;91:778-788.
- [65] Lima RSC. Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos: quitosana/insulina [tese]. Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande; 2010.
- [66] Queiroz MF, Melo KR, Sabry DA, Sasaki GL, Rocha HA Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation? *Marine Drugs*. 2014;13(1):141-158.
- [67] Deng L, Taxipalati M, Zhang A, Que F, Wei H, Feng F, Zhang H. Electrospun chitosan/poly(ethylene oxide)/lauric arginate nanofibrous film with enhanced antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66(24):6219-6226.
- [68] Kuntzler SG, Costa JAV, Morais MG. Development of electrospun nanofibers containing chitosan/PEO blend and phenolic compounds with antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;117:800-806.
- [69] Branca C, D'Angelo G, Crupi C, Khouzami K, Rifici S, Ruello G, Wanderlingh U. Role of the OH and NH vibrational groups in polysaccharide-nanocomposite interactions: A FTIR-ATR study on chitosan and chitosan/clay films. *Polymer*. 2016;99:614-622.

- [70] Wang P, Wang L, Dong S, Zhang G, Shi X, Xiang C, Li L. Adsorption of hexavalent chromium by novel chitosan/poly(ethylene oxide)/permutit electrospun nanofibers. *New Journal of Chemistry*. 2018;42(21):17740-17749.
- [71] Aluigi A, Varesano A, Montarsolo A, Vineis C, Ferrero F, Mazzuchetti G, Tonin C. Electrospinning of keratin/poly(ethylene oxide) blend nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*. 2007;104(2):863-870.
- [72] Pereira Junior VA, Arruda IZQ, Stefani R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as time–temperature indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*. 2015;43:180-188.
- [73] Bonardd S, Schmidt M, Saavedra-Torres M, Leiva A, Radic D, Saldías C. Thermal and morphological behavior of chitosan/PEO blends containing gold nanoparticles. *Experimental and theoretical studies. Carbohydrate Polymers*. 2016;144:315-329.
- [74] Wei H, Zhang F, Zhang D, Liu Y, Leng J. Shape-memory behaviors of electrospun chitosan/poly(ethylene oxide) composite nanofibrous membranes. *Journal of Applied Polymer Science*. 2015;132(37):42532-42540.
- [75] Bostan MS, Mutlu EC, Kazak H, Keskin SS, Oner ET, Eroglu MS. Comprehensive characterization of chitosan/PEO/levan ternary blend films. *Carbohydrate Polymers*. 2014;102:993-1000.