

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**“DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS COMPÓSITAS  
ULTRAFINAS DE POLICAPROLACTONA, PECTINA E  
ZEÓLITA FAUJASITA PARA ACONDICIONAMENTO DE  
CLOXACILINA”**

**Bárbara Bernardi Pedreira Rivas\***

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
MESTRE EM QUÍMICA. Área de  
concentração: FÍSICO-QUÍMICA

**Orientadora: Dra Elaine Cristina Paris**

**\* bolsista CAPES**

**São Carlos - SP  
2020**



---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Bárbara Alves Bernardi Pedreira, realizada em 27/03/2020:

---

Profa. Dra. Elaine Cristina Paris  
EMBRAPA

---

Profa. Dra. Sandra Andrea Cruz  
UFSCar

---

Prof. Dr. Vagner Romito de Mendonça  
IFSP

Certifico que a defesa realizou-se com a participação à distância do(s) membro(s) Sandra Andrea Cruz, Vagner Romito de Mendonça e, depois das arguições e deliberações realizadas, o(s) participante(s) à distância está(ão) de acordo com o conteúdo do parecer da banca examinadora redigido neste relatório de defesa.

---

Profa. Dra. Elaine Cristina Paris

## Dedicatória

Dedico este trabalho:  
Aos meus pais Ilma e Romário,  
À minha família,  
e aos meus amigos.

"Eu não falhei. Só descobri 10 mil  
caminhos que não eram o certo"

Thomas Edison

## **Agradecimentos**

A Deus por me dar forças para superar as dificuldades.

À Dra. Elaine Cristina Paris pela orientação, paciência, ensinamentos e confiança, que me proporcionou muito crescimento e amadurecimento.

Aos Drs Francys Kley Vieira Moreira, Júlio César Sczancoski pelas ótimas sugestões, críticas construtivas e elogios que possibilitaram uma melhor elaboração no seguinte trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos (PPGQ-UFSCar), pela oportunidade de cursar o mestrado.

Aos integrantes do grupo de pesquisa o qual pertenço, que sempre unido, proporcionou um ambiente descontraído e agradável, além do auxílio sempre que necessário: João, Camila, Laiza, Angela, Ana, Mariana, Bruna e Marcelo.

Aos amigos João e Camila que me ajudaram no desenvolvimento do projeto e no meu crescimento profissional.

Aos meus pais, Ilma Maria Alves Bernardi e Romário Moreira Pedreira de Freitas, por todo amor, suporte, confiança e estímulo a seguir meus meus sonhos.

À minha avó, Iranilda, por todo amor e compreensão.

Aos meus primos e tios, Artur, Luciano, Pedro, Rodrigo, Waleska, Carlos, Nélio e Rosa por todo amor, incentivo e suporte.

Às minhas cunhadas Géssica e Thamy e ao meu cunhado Thalles, por todo carinho.

Aos meus amigos Tuany, Camila, João, Laiza, Angela, Shayene e Carol por me darem suporte, força e incentivo em todos os momentos.

Ao meu namorado, Bernardo, por compreender a minha ausência nesse período de fundamental importância em minha vida e pelo amor e companhia durante essa jornada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>ATR</b>	<i>Attenuated Total Reflectance</i> (Reflectância total atenuada)
<b>BET</b>	Fisissorção e dessorção de N <sub>2</sub>
<b>CF</b>	Clorofórmio
<b>CLOX</b>	Cloxacilina
<b>DMA</b>	<i>Dynamic Mechanical Analysis</i> (Análise DinâmicoMecânica)
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DRX</b>	Difratometria de Raios X
<b>EDS</b>	<i>Energy Dispersive Spectroscopy</i> (Espectroscopia de Energia Dispersiva)
<b>FAU</b>	Faujasita
<b>FTIR</b>	<i>Fourier Transformed Infrared</i> (Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier)
<b>GIS</b>	Gismondina
<b>JCPDS</b>	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>PCL</b>	Policaprolactona
<b>PEC</b>	Pectina
<b>PIB</b>	Produto Interno Bruto
<b>TGA</b>	<i>Thermogravimetric Analysis</i> (Análise termogravimétrica)

## Lista de Tabelas

TABELA 3.1 - Reagentes com pureza e marca que foram empregados no procedimento experimental. ....	16
TABELA 3.2 - Condições utilizadas na eletrofiação para obtenção de fibras de com 10% de PCL e 1% de PEC.....	20
TABELA 4.1 - Apresentação dos valores de área específica obtida pelo método BET e potencial zeta para a zeólita com 3 h de tratamento hidrotermal. ....	31
TABELA 4.2 - Valores de tensão média na fratura e deformação máxima obtidos no ensaio mecânico para as fibras de PCL, PCL:PEC e PCL:PEC:FAU. ....	49

## Lista de Figuras

FIGURA 1.1 – Esquema representando como as afecções de casco são contraídas. Adaptado de Auer e Stick (2012) <sup>11</sup> .....	1
FIGURA 1.2 – Esquema representando como a mastite é adquirida. Adaptado de Viguier et al. (2009) <sup>17</sup> . .....	2
FIGURA 1.3 - Estrutura molecular da (a) cloxacilina e da (b) cloxacilina sódica.....	3
FIGURA 1.4 – Esquema de um biofilme. Adaptado de Aiyer et al. (2018) <sup>42</sup> . .....	5
FIGURA 1.5 - Esquema do sistema da eletrofiação utilizado para obter fibras poliméricas. Adaptado de Elahi et al. (2013) <sup>48</sup> . .....	6
FIGURA 1.6 - Estrutura química da policaprolactona.....	7
FIGURA 1.7 - Estrutura química da pectina <sup>85</sup> . .....	9
FIGURA 1.8 – Representação esquemática dos (a) tetraedros <sup>112</sup> e das (b) cavidades <sup>113</sup> da estrutura da zeólita Faujasita estudada neste trabalho. ....	12
FIGURA 3.1 - Esquema do procedimento experimental utilizado neste trabalho.....	15
FIGURA 3.2 - Esquema simplificado da metodologia utilizada para obtenção da zeólita.....	17
FIGURA 3.3 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das fibras de PCL puro. ....	19
FIGURA 3.4 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das fibras de PCL:PEC. ....	20
FIGURA 3.5 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das fibras compósitas. ....	22
FIGURA 3.6 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das soluções poliméricas e compósitas com fármaco. ....	23
FIGURA 4.1 - Difractogramas do SiO <sub>2</sub> aerosil em (a) e das amostras sintetizadas a partir desse precursor variando o tempo de tratamento hidrotermal: (b) 2 h, (c) 3 h, (d) 4 h e (e) 6 h.....	27
FIGURA 4.2 - Esquemas da estrutura da zeólita FAU (a) e da zeólita GIS (b). Adaptado de Maldonado et al. (2013) <sup>130</sup> . .....	28
FIGURA 4.3 - Espectro de infravermelho das amostras sintetizadas com SiO <sub>2</sub> variando o tempo de tratamento hidrotermal entre (a) 2 h, (b) 3 h, (c) 4 h e (d) 6 h..	28
FIGURA 4.4 - Imagens de MEV das zeólitas obtidas com (a) 2 h, (b) 3 h, (c) 4h e (d) 6 h de tratamento hidrotérmico.....	30

FIGURA 4.5 - Imagens da MEV e distribuição da espessura das fibras variando a concentração de PCL entre 9 e 15% (m/v) e mantendo fixados a concentração de PEC em 1% e as condições de eletrofiação em 20 kV, 10 cm e 0,7 mL h <sup>-1</sup> .....	33
FIGURA 4.6 - Imagens da MEV e distribuição da espessura das fibras variando a vazão da solução entre (a) 0,7; (b) 1,0 e (c) 1,2 mL h <sup>-1</sup> enquanto mantém-se fixados a concentração de PCL (10%), a concentração de PEC (1%) e as condições de eletrofiação em 20 kV e 1,2 mL h <sup>-1</sup> ; e variando a distância de trabalho entre (c) 10 e (d) 8 cm enquanto mantém-se fixados a concentração de PCL (10%), a concentração de PEC (1%) e as condições de eletrofiação em 20 kV e 1,2 mL h <sup>-1</sup> ..	35
FIGURA 4.7 - Imagens da MEV e distribuição da espessura das fibras variando a concentração de PEC entre (a) 10%, (b) 20%, (c) 30% e (d) 50%, enquanto mantém-se fixados a concentração de PCL (10%) e as condições de eletrofiação em 20 kV, 10 cm e 1,2 mL h <sup>-1</sup> . .....	37
FIGURA 4.8 - Imagens da seringa contendo uma solução polimérica com 50% de PEC antes e depois da eletrofiação. ....	38
FIGURA 4.9 - Espectros de FTIR das fibras com diferentes porcentagens de pectina: (a) 0, (b) 1, (c) 10, (d) 20, (e) 30 e (f) 50% de PEC e (g) dos pós da pectina.....	39
FIGURA 4.10 - Curvas de TGA do pó da pectina e das fibras com 0 a 30% de PEC. ....	41
FIGURA 4.11 - Curvas de dTG do pó da pectina e das fibras com 0 a 30% de PEC. ....	41
FIGURA 4.12 - Imagens de ângulo de contato para as fibras obtidas variando a quantidade de PEC entre (a) 0%, (b) 1%, (c) 10%, (d) 20%, (e) 30% e (f) 50%. ....	43
FIGURA 4.13 - Gráfico com a massa final das fibras de 0, 10%, 20%, 30% e 50% de PEC após o ensaio de degradação de 15, 30 e 60 dias. ....	44
FIGURA 4.14 - Imagens de microscopia das fibras de PCL puro (a) antes e (b) depois de 60 dias de degradação e das fibras com 10% de PEC (c) antes e (d) depois do mesmo tempo de ensaio.....	45
FIGURA 4.15 - Imagens de (a) MEV e distribuição da espessura e (b) EDS das fibras compósitas com 10% de PCL, 10% de PEC e 2,5% de FAU.....	47
FIGURA 4.16 - Espectro de FTIR da fibra de PCL:PEC:FAU, contendo 2,5% da zeólita.....	48
FIGURA 4.17 - Imagem de ângulo de contato da fibra de PCL:PEC:FAU, com 2,5% de zeólita.....	48



FIGURA 4.18 - Resultados do ensaio mecânico de tração, realizado utilizando o DMA, para as fibras de PCL, PCL:PEC e PCL:PEC:FAU. ....	50
FIGURA 4.19 - Imagens de MEV e distribuição de espessura das fibras com 20% de cloxacilina (a) PCL, (b) PCL:PEC e (c) PCL:PEC:FAU. ....	52
FIGURA 4.20 - Espectro de FTIR da (a) cloxacilina e das fibras com 20% cloxacilina de (b) PCL, (c) PCL:PEC e (d) PCL:PEC:FAU.....	53
FIGURA 4.21 - Zona de inibição de crescimento da bactéria <i>S. aureus</i> no meio contendo (a) FAU, (b) PCL, (c) PCL:PEC:FAU, (d) Cloxacilina, (e) PCL+Clox, (g) PCL:PEC:FAU+Clox.....	54
FIGURA 4.22 - Espectros da fibra de PCL com cloxacilina (a) antes e (b) após 72 h de imersão em tampão fosfato pH 5,5 à 36°C e 150 rpm. ....	55
FIGURA 4.23 - Esquema do mecanismo sugerido de atuação da fibra bactericida. .	57

## RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS COMPÓSITAS ULTRAFINAS DE POLICAPROLACTONA, PECTINA E ZEÓLITA FAUJASITA PARA ACONDICIONAMENTO DE CLOXACILINA. A mastite bovina e as doenças de casco são infecções responsáveis por grandes perdas econômicas no setor da agropecuária brasileira. Tais prejuízos estão associados à redução na produção de leite e carne levando a casos extremos de perdas prematuras dos animais infectados. As aplicações convencionais de medicamentos para tratamento dessas infecções apresentam dificuldades de aplicação, ocasionando dor e estresse no animal. Neste sentido, o uso de curativos à base de fibras torna-se atrativo por ser menos invasivo e propiciar melhores condições de recuperação. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo a obtenção de fibras biopoliméricas de policaprolactona (PCL) e pectina (PEC) reforçadas com zeólita faujasita (FAU) para imobilização do antibiótico cloxacilina. Para obtenção da zeólita FAU utilizou-se o método sol-gel seguido por tratamento hidrotérmico de 2 a 6 h. As fibras de PCL:PEC foram obtidas a partir do método de eletrofiação, sendo avaliada a morfologia obtida diante a variação das concentrações dos polímeros e dos parâmetros empregados. A partir da melhor combinação da blenda PCL:PEC foi adicionada a FAU (2,5% m/m) a fim de possibilitar o melhor reforço cerâmico encontrado às fibras. Foi realizado ao final, o ensaio bactericida das fibras diante da incorporação do fármaco (20% m/m) à membrana para a bactéria do tipo *Staphylococcus aureus*. As análises estruturais confirmaram que 3 h de tratamento formou a fase da FAU sem contaminações, com tamanho de partículas na faixa de 100 a 2000 nm e elevada área superficial específica de 347 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. O potencial zeta indicou que as partículas são estáveis em dispersão, apresentando um valor de - 48 mV. Assim, as partículas de FAU apresentam características passíveis de elevada área superficial específica e dispersabilidade desejável para reforçar a membrana com homogeneidade. As imagens de microscopia eletrônica mostraram que as fibras de PCL:PEC mais homogêneas e com menor diâmetro (240 nm) foram aquelas com 10% (m/v) de PCL, fluxo de 1,2 mL h<sup>-1</sup> e 10 cm de distância entre a agulha e o coletor. Para a blenda PCL:PEC, a análise termogravimétrica indicou que o teor máximo de pectina capaz de ser inserido na fibra é 10% (m/m). A partir do ângulo de contato e das imagens de microscopia das fibras após o ensaio de degradação em meio tampão fosfato pH 5,5, foi possível notar que a fibra com 10% de PEC proporcionou o aumento da hidrofiliabilidade da membrana, variando o ângulo de 126° para 104° e acelerando o processo de degradação do material. Para as fibras de PCL:PEC:FAU foi possível verificar que a FAU, aumentou a hidrofiliabilidade, resultando em um ângulo de 81°, e a resistência da tensão de ruptura, de 0,5 para 3 MPa. Nas fibras contendo cloxacilina foi verificado um halo de inibição para o ensaio bactericida com *Staphylococcus aureus* indicando a atividade antimicrobiana por meio da difusão do antibiótico. Dessa forma, o compósito na forma de fibras de PCL:PEC:FAU possui características desejáveis para aplicação como membranas transdérmicas para feridas, como maior hidrofiliabilidade, resistência à tração e atividade bactericida.

## ABSTRACT

DEVELOPMENT OF ULTRAFINE COMPOSITE FIBERS OF POLYCAPROLACTONE, PECTIN AND FAUJASITE ZEOLITE FOR CLOXACILLIN LOADING. Bovine mastitis and hoof diseases are infections responsible for great economic losses in the Brazilian agricultural sector. Such losses are associated with a reduction in milk and meat production leading to extreme cases of premature loss of infected animals. Conventional drug applications to treat these infections offer difficulties in application, causing pain and stress to the animal. In this sense, the use of fiber-based dressings is attractive because it is less invasive and provides better recovery conditions. Thus, the present study aimed to obtain biopolymeric fibers of polycaprolactone (PCL) and pectin (PEC) reinforced with faujasite zeolite (FAU) designed for cloxacillin loading. The FAU phase was optimized using the sol-gel method, with hydrothermal treatment varying between 2 and 6 h. Electrospinning parameters and polymers concentrations were varied in order to achieve PCL:PEC fibers with best properties. The optimal combination of the PCL: PEC blend was used to immobilize FAU (2.5% w/w) in order to improve ceramic reinforcement in the fibers. Finally, fibers bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* were evaluated after loading 20% (w/w) cloxacillin. The X ray diffraction and infrared spectroscopy analyzes confirmed that 3 h of treatment formed the FAU phase without contamination, with polydispersed sizes in the range of 100 to 2000 nm and a high specific surface area of 347 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Zeta potential indicated that the particles are stable in dispersion, presenting a value of - 48 mV. Thus, FAU particles have high specific surface area and desirable dispersibility to reinforce the membrane with homogeneity. Scanning electron microscopy images showed that 10% (m/v) of PCL, flow of 1,2 mL h<sup>-1</sup> and spinning distance of 10 cm yielded the most homogeneous fibers with the smallest diameter (240 nm). PCL:PEC thermogravimetric analysis profiles indicated that 10% (m/m) is the maximum pectin content capable of being inserted into the fiber. Fibers contact angle and microscopy images after degradation essay, in phosphate buffer medium (pH 5,5), showed that 10% PEC increased the membrane hydrophilicity, from 126° to 104°, accelerating the fiber degradation process. For PCL:PEC:FAU fibers it was possible to verify that the presence of FAU contributed to the increase in hydrophilicity, resulting in an angle of 81°, and also improved the material tensile strength, increasing from 0.5 to 3 MPa. The fibers loaded with cloxacillin presented an inhibition halo for the bactericidal assay with *Staphylococcus aureus*, indicating the antimicrobial activity through the diffusion of the antibiotic. In this way, PCL:PEC:FAU composite fibers presented desirable properties such as greater hydrophilicity, resistance to traction and bactericidal activity, suggesting its potential as transdermal membranes for wounds.

## Sumário

1. Introdução .....	1
1.1. Curativo bactericida .....	4
1.2. Membranas compósitas .....	10
2. Objetivos .....	14
2.1. Objetivos gerais .....	14
2.2. Objetivos específicos .....	14
3. Materiais e Métodos .....	15
3.1 Obtenção da FAU .....	16
3.2 Otimização de Fibras PCL:PEC:FAU .....	19
3.2.1 Fibras de PCL .....	19
3.2.2 Fibras de PCL:PEC .....	19
3.3 Fibras compósitas de PCL:PEC:FAU .....	22
3.4 Incorporação da cloxacilina nas fibras .....	23
3.4.1 Incorporação da cloxacilina nas membranas na forma de fibras .....	23
4. Resultados e discussão .....	26
4.1 Obtenção da zeólita FAU .....	26
4.2. Obtenção de fibras poliméricas de PCL: PEC .....	32
4.3. Obtenção de fibras compósitas de PCL:PEC:FAU .....	46
4.4. Imobilização da cloxacilina nas fibras .....	51
5. Conclusão .....	59
6. Etapas futuras .....	60
7. Referências .....	61

## 1. Introdução

O agronegócio pode ser considerado um dos setores mais relevantes da economia brasileira, tendo em vista que em 2019 esse setor representou 20% do Produto Interno Bruto (PIB), empregando 18,37 milhões de pessoas<sup>1,2</sup>. Nesse contexto, a pecuária se destaca na economia brasileira, pois nesse mesmo ano houve o crescimento acumulado do ramo pecuário em 17,19%<sup>3</sup>. Em 2020 estima-se que no Brasil serão produzidos 12,38 milhões de toneladas de carne bovina além de um crescimento de 2,5% na produção de leite brasileiro, sendo esta a melhor tendência nos últimos seis anos<sup>4,5</sup>. Considerando a importância desse setor na economia, é relevante atentar-se às doenças que podem causar prejuízos na bovinocultura, como a mastite e as afecções de casco<sup>6,7</sup>.

As afecções de casco são inflamações nas paredes dos cascos e resultam na deficiência na locomoção do animal, podendo causar danos permanentes. Os microorganismos causadores dessa doença são capazes de penetrar os cascos que possuem machucados ou rachaduras como apresentado na Figura 1.1<sup>8</sup>. Alguns fatores podem facilitar a contração das afecções, como por exemplo ambientes molhados, pisos irregulares, alimentação não adequada e condições de higiene insalubres<sup>9</sup>. Dentre os prejuízos ocasionados por essa doença, se destaca a queda na produção de leite devido ao estresse e também a dificuldade de alimentação e reprodução do animal em função da dor associada à locomoção<sup>10</sup>.

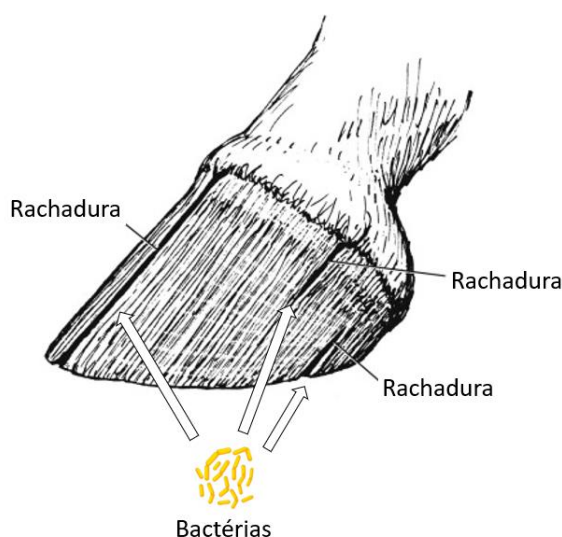


FIGURA 1.1 – Esquema representando como as afecções de casco são contraídas. Adaptado de Auer e Stick (2012)<sup>11</sup>.

Já mastite bovina é uma infecção das glândulas mamárias que é adquirida por meio da entrada de microorganismos no canal da mama e consequente fixação e formação de colônias nas paredes do órgão mamário, como apresentado na Figura 1.2<sup>12</sup>. Alguns fatores podem contribuir para que o animal contraia a doença, seja por facilitar a proliferação de bactérias, ou por diminuir a imunidade do animal. Dentre eles se destacam habitat sujo, método de ordenha inadequado, falta de higienização das tetas e elementos causadores de estresse<sup>13</sup>. A mastite causa dor ao animal durante a ordenha, consequentemente aumentando seu nível de estresse e diminuindo a produção do leite em até 45%. Além disso, a tentativa do sistema imunológico em combater a doença, associado à presença de microorganismos no corpo do animal, resulta na contaminação do leite produzido e o torna impróprio para consumo<sup>14-16</sup>.

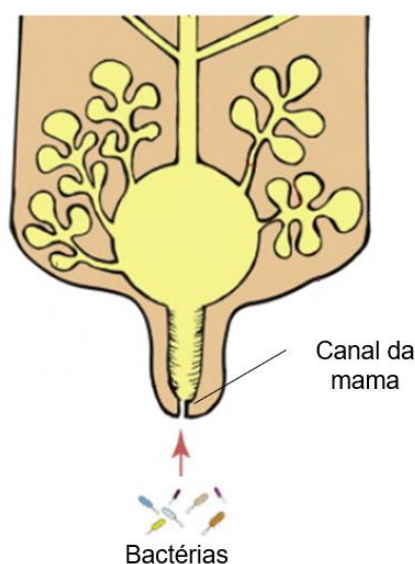


FIGURA 1.2 – Esquema representando como a mastite é adquirida. Adaptado de Viguier *et al.* (2009)<sup>17</sup>.

Os maiores prejuízos estão associados às perdas na produção, reprodução, abate precoce e gastos com a saúde do animal. A medicação pode resultar em contaminação do leite e da carne, fazendo com que a produção do animal doente, ou em tratamento, seja descartada. Além disso, o animal adoentado não se reproduz por conta de dores e desconfortos, causando a diminuição do rebanho e, por conseguinte, da produção. Outro prejuízo associado às doenças mencionadas é a morte precoce do animal e como resultado a não produção de leite e carne, que poderiam ser produzidos se o animal continuasse vivo. Além disso, também

consideram-se os gastos com remédios e tratamento do animal bastante elevados, nos casos de mastite chegam a R\$ 310,00 por vaca ao ano, o que representa cerca de 6% do lucro total no caso de uma vaca leiteira<sup>9,14,18</sup>. O tratamento mais eficaz é o uso de antibióticos, tais como cloxacilina, dicloxacilina, cefalexina e oxitetraciclina<sup>19,20</sup>, voltados para controlar a proliferação de bactérias causadoras dessas doenças, principalmente as cepas de *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e *Mycoplasma* spp.<sup>7,10,15,16</sup>.

A cloxacilina, cuja estrutura está apresentada na Figura 1.3(a), é um antibiótico que possui um anel beta-lactâmico, e por isso é derivado da penicilina<sup>21-23</sup>. O mecanismo de ação desse medicamento consiste em interferir na produção de peptidoglicanos, estruturas responsáveis por conferir estabilidade mecânica à parede celular da bactéria, levando à ruptura da célula<sup>23,24</sup>. A cloxacilina sódica apresentada na Figura 1.3(b), possui uma ligação iônica com o íon  $\text{Na}^+$ , enquanto a cloxacilina é um ácido carboxílico que possui uma ligação covalente com o hidrogênio. Ela é amplamente utilizada no tratamento de infecções causadas por estafilococos produtores de penicilina, como no caso da mastite e das doenças de casco<sup>21,23-25</sup>. Esse fármaco é comumente administrado em animais na forma oral, intravenosa ou intramuscular<sup>24</sup>.

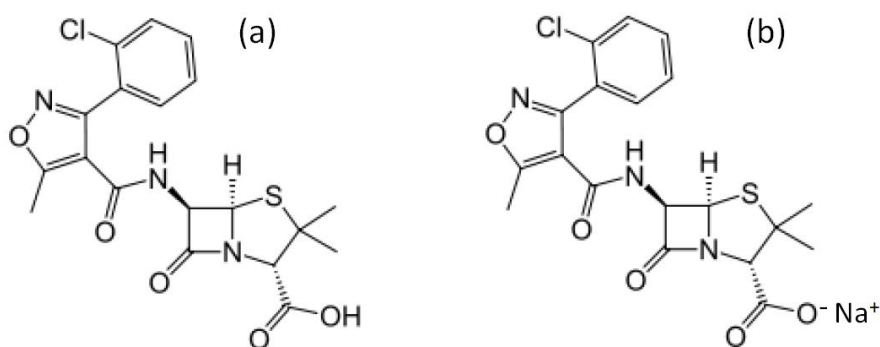


FIGURA 1.3 - Estrutura molecular da (a) cloxacilina e da (b) cloxacilina sódica.

Apesar dos métodos de administração desse fármaco ser na forma oral ou injetável, esses procedimentos não são muito eficientes. A administração oral não utiliza todo o potencial da droga, já que parte do medicamento é destruído na presença do suco gástrico, enquanto a fração que atinge a corrente sanguínea é direcionada primeiramente para o fígado<sup>26</sup>. Já a administração injetável resulta em uma alta concentração do remédio na corrente sanguínea aumentando

concomitantemente a toxicidade do medicamento, além da dor associada à injeção da droga e dos problemas de descarte de agulhas contaminadas<sup>26</sup>. Em ambos os casos, a alta concentração do medicamento na corrente sanguínea faz com que uma fração do remédio seja excretada, diminuindo a janela terapêutica e ocasionando a contaminação de águas<sup>27-29</sup>. Com isso em mente, essas formas de dosagem de medicamentos não se apresentam tão eficientes, além de causar estresse no animal, considerando que para realizar o tratamento é necessário inserir agulhas na pele ou forçar comprimidos pela garganta. Nesse cenário, uma das alternativas que se mostra promissora é a utilização de um curativo bactericida<sup>30-32</sup>. Desta forma possibilita a maior eficiência da atividade de antibióticos e menor invasibilidade por meio da administração transdêrmica.

### **1.1. Curativo bactericida**

O uso de curativo bactericida para administração de antibiótico traz vantagens associadas ao bem estar animal, pois possibilita realizar um tratamento menos invasivo além de evitar o incômodo associado às outras formas de administração da droga. Em casos de feridas abertas, como as doenças de casco, é necessário um curativo que preencha a ferida para evitar a perda de sangue e auxiliar na cicatrização<sup>32</sup>. O curativo com propriedades bactericida também pode proteger contra fatores externos, evitando a entrada de bactérias, e não necessita da presença de veterinários para as aplicações<sup>33</sup>.

Estudos mostram que curativos convencionais com uma distribuição topográfica não uniforme tem se mostrado propícios ao crescimento de bactérias e na formação de biofilmes<sup>34</sup>. Biofilmes microbianos são agregados tridimensionais de bactérias que estão envoltos por uma matriz de exopolímero que elas mesmas produzem, como mostrado na Figura 1.4<sup>35-37</sup>. Esses biofilmes representam um dificultador para própria atuação do organismo do indivíduo, tendo em vista que a matriz protege o biofilme dos processos anti-inflamatórios do corpo e dificultam a penetração e movimentação dos leucócitos, células responsáveis pela proteção do animal<sup>30,36,38</sup>. Além disso, o biofilme é menos suscetível a ação dos antibióticos, por diversos mecanismos. Sendo eles a limitação da difusão do fármaco pelo exopolímero, a possibilidade de compartilhamento de genes resistentes ao antibiótico entre as bactérias pertencentes ao biofilme e também a presença de



células dormentes que permitem que ele seja repopulado após o tratamento<sup>39-41</sup>. Esses fatores fazem com que bactérias capazes de regular a formação do biofilme sejam mais resistentes ao tratamento com antibióticos, sendo a *Staphylococcus aureus* uma delas<sup>36</sup>.

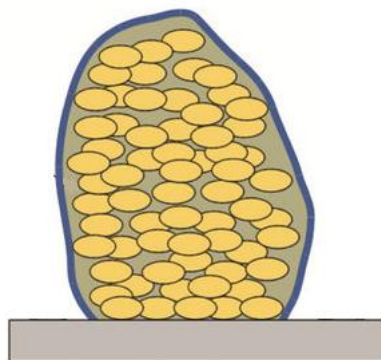


FIGURA 1.4 – Esquema de um biofilme. Adaptado de Aiyer *et al.* (2018)<sup>42</sup>.

Dessa forma, são necessários curativos com flexibilidade, eficiência em encapsular a droga e elevada área superficial específica. Neste sentido, fibras de materiais poliméricos tornam-se cada vez mais atrativas por poderem ser moduladas, a fim de permitirem maior contato com a área infectada, tornando esses materiais eficientes<sup>43,44</sup>. Uma forma de obter fibras com essas propriedades é por meio da metodologia de eletrofiação. Essa tecnologia tem se mostrado atrativa na produção de materiais que melhoram o tratamento de feridas, mantendo o ambiente propício para a regeneração do sistema biológico<sup>30</sup>. Além disso, a eletrofiação permite transformar um grande leque de polímeros em fibras, como álcool polivinílico, poliácido lático e policaprolactona, sendo também capaz de aumentar o encapsulamento de fármacos<sup>31,32,45</sup>. As fibras obtidas por meio dessa técnica podem ter sua morfologia controlada, resultando em fibras com diâmetros micro/nanométricos e pequenas porosidades entre as malhas<sup>30,46</sup>.

O sistema da eletrofiação, o qual se encontra esquematizado na Figura 1.5, é constituído por uma fonte de alta tensão associada a uma seringa, na qual se coloca a solução polimérica. Uma bomba ejetora controla a vazão de saída da solução através de uma agulha metálica localizada na extremidade da seringa. Para que ocorra a formação das fibras, aplica-se alta tensão sobre a gotícula presente na ponta da agulha, resultando na deformação da gota e formando do cone de Taylor. Quando a tensão aplicada se torna maior que a tensão superficial, ocorre a ejeção

de um jato fino da solução polimérica. Durante o percurso até atingir o coletor (objeto aterrado), o solvente é evaporado enquanto o jato sofre estiramentos e alongação causados pelas forças de elétricas aplicadas<sup>46,47</sup>.

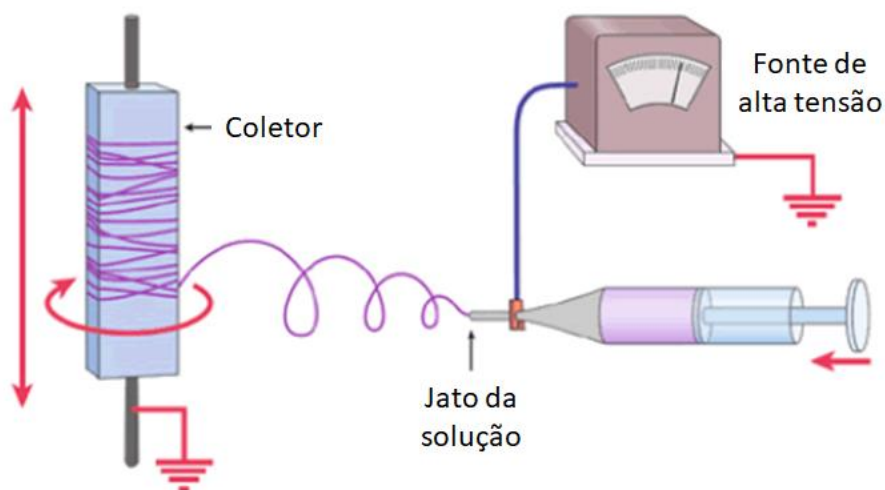


FIGURA 1.5 - Esquema do sistema da eletrofiação utilizado para obter fibras poliméricas. Adaptado de Elahi *et al.* (2013)<sup>48</sup>.

Diferentes condições são capazes de modificar a fibra, como a tensão aplicada, a distância entre a agulha e o coletor, a vazão da solução, interações entre o solvente e o polímero e a concentração do polímero. Esse último parâmetro se destaca por ser capaz de influenciar na forma das fibras, pois ele está relacionado diretamente com a viscosidade da solução<sup>49</sup>. Dessa forma, soluções com maior viscosidade possuem maior resistência ao alongamento e por consequência produzem fibras de diâmetros maiores<sup>50</sup>.

Considerando que essa aplicação está associada ao uso em seres vivos, faz-se necessário o uso de polímeros compatíveis com o meio biológico, biodegradáveis e com baixa citotoxicidade<sup>32,44,51</sup>. No trabalho de Passos *et al.*<sup>52</sup> imobilizou-se metronidazol ou ciprofloxacina em fibras biodegradáveis de polidioxanona obtidas por eletrofiação, com o intuito de tratar infecções bacterianas como a doença periodontal, causada por *Treponema denticola* e *Porphyromonas gingivalis*. Nessa pesquisa foi observado que o uso de polímeros biocompatíveis carregados com antibióticos não promove danos ao tecido infectado, além de se mostrar promissor para o tratamento da infecção de interesse. Li *et al.*<sup>53</sup> também avaliaram a atividade bactericida de fibras de polivinilpirrolidona e etilcelulose, obtidas por eletrofiação e acondicionadas com o antibiótico ciprofloxacino. Os autores verificaram que células de fibroblastos podem crescer nesses materiais,

indicando sua biocompatibilidade, e que eles apresentam atividade bactericida frente colônias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Dessa forma, a eletrofiação se mostra eficiente na obtenção de fibras para aplicações biomédicas.

Um desses polímeros que merece destaque é a policaprolactona devido as características de biodegradabilidade e biocompatibilidade, além de ter alta disponibilidade e baixo custo.

A policaprolactona (PCL), cuja estrutura está apresentada na Figura 1.6, é um poliéster sintético, elástico, biodegradável e aprovado pelo FDA<sup>54-56</sup>. Sua estrutura, obtida abertura do anel da  $\epsilon$ -caprolactona, confere hidrofobicidade e cristalinidade a esse material, dificultando a aderência das células e ocasionando uma lenta degradabilidade<sup>54,57,58</sup>. A consequência da degradação inclui a perda de massa, diminuição da massa molar do polímero e alteração das propriedades mecânicas. Em meio aquoso, esse processo ocorre por meio da hidrólise das ligações ésteres, resultando em monômeros e oligômeros solúveis e não tóxicos<sup>59-61</sup>. Além disso, diversos fatores do meio, como a temperatura, solventes e aditivos podem alterar a velocidade desse processo<sup>62</sup>.

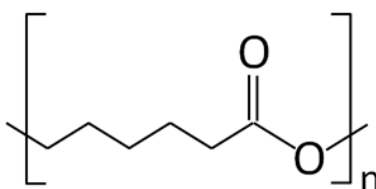


FIGURA 1.6 - Estrutura química da policaprolactona.

Na aplicação biomédica, o PCL tem mostrado resultados positivos em diferentes plataformas para distintas aplicações como tratamento para infecções, úlcera e doenças cancerígenas<sup>63-65</sup>. Para fibras de curativos, resultados de PCL na presença de anti-inflamatórios e antibióticos tem promovido a diminuição de dores e tratamento contra diferentes bactérias<sup>30,63,66,67</sup>. No trabalho de Mauro *et al.*<sup>30</sup> foram produzidas fibras compósitas de PCL e óxido de grafeno aplicada como curativo para liberação do antibiótico vancomicina e dos anti-inflamatórios ibuprofeno e cetoprofeno. O material obtido liberou cerca de 25 a 30% dos anti-inflamatórios e 50% do antibiótico incorporados, enquanto o restante permaneceu retido nas fibras que não sofreram degradação. Nesse caso, o sistema mostrou-se eficiente como curativo para o tratamento de lesões na pele com concomitante amenização dos efeitos. Em outro trabalho, os pesquisadores Mabrouk *et al.*<sup>67</sup> produziram um

curativo acondicionado com ciprofloxacina composto por três camadas de fibras dos polímeros: ácido poliacrílico, polivinilpirrolidona e policaprolactona voltado para o tratamento de úlceras. Observou-se que mais de 90% do fármaco acondicionado no material foi liberado ao longo de dois dias, indicando a eficiência do curativo em tratar infecções bactericidas quando utilizado em doses apropriadas. Assim, o artigo mostrou resultados de que o dispositivo desenvolvido é apropriado para o tratamento de úlceras podais ocasionadas por diabetes.

Contudo, a lenta degradação e a falta de aderência para proliferação das células na estrutura do PCL são fatores que dificultam a aplicação desse polímero no campo biomédico<sup>54,68</sup>. Para superar esse problema, a produção de uma blenda deste material com polímeros hidrofílicos no intuito de obter uma propriedade sinérgica, pode ser uma excelente alternativa<sup>57,68,69</sup>. Rosa *et al.*<sup>70</sup> estudaram degradação de polímeros compostos por PCL e amido em diferentes proporções, frente a ação da proteinase K. A degradação do PCL nesse meio foi inferior a 2% da sua massa em 144 h, enquanto na blenda com 75% de amido o tempo de degradação completa foi reduzido a até 96 h. Já no trabalho de Gupta *et al.*<sup>71</sup> foram obtidas fibras de PCL e gelatina e estudou-se a proliferação de células do tecido nervoso. Os pesquisadores verificaram que após 6 dias de cultura, houve um maior crescimento de células nas fibras de PCL:Gelatina quando comparado às fibras de PCL puro. Os autores relacionaram a maior biocompatibilidade das fibras de PCL:Gelatina com o maior caráter hidrofílico desse material.

Um biopolímero que pode ser utilizado para promover a maior hidrofilição da membrana de PCL é a pectina (PEC), além disso é de baixo custo, fonte renovável, biocompatibilidade e alta disponibilidade. Esse polímero pode ser utilizado para compor uma blenda juntamente com o PCL, de forma a aumentar a degradabilidade do material final e conseqüentemente disponibilizar o fármaco para a região infectada de maneira mais rápida e efetiva.

Não foi encontrado na plataforma *Web of Science* artigos de blendas de PCL:PEC. Fares *et al.*<sup>54</sup> publicaram em 2018 um copolímero de PEC-g-PCL para ser incorporado ao hidrogel de gelatina *methacryloyl* voltado para engenharia de tecidos e aplicações biomédicas. Além disso, Hamzah *et al.*<sup>72</sup>, publicaram em 2019 fibras de PCL recobertas com PEC e polianilina para liberação de fármacos. Em contrapartida, pode-se relacionar a blenda de PCL:PEC com blendas de PCL e amido termoplástico (TPS)<sup>73-76</sup>. A comparação desses compostos é aplicável tendo

em vista que ambos são polissacarídeos que possuem estruturas muito similares, com relação à polaridade, solubilidade e velocidade de degradação<sup>77</sup>. Com isso, uma das contribuições desse trabalho é avaliar a interação da PEC com o PCL e as características da fibra composta por uma blenda desses materiais.

Blendas poliméricas são misturas macroscopicamente miscíveis compostas por mais de um polímero, ou pelo mesmo polímero com mais de uma distribuição de massa molar. Blendas podem ser classificadas como miscíveis (homogêneas) ou imiscíveis (heterogêneas) dependendo se a mistura resultante é microscopicamente homogênea ou heterogênea ao longo de um intervalo de temperatura, pressão e composição. Nesse caso, as blendas homogêneas não necessariamente precisam apresentar uma única temperatura de transição vítrea<sup>78</sup>.

A pectina, apresentada na Figura 1.7, é um dos polissacarídeos mais abundantes da natureza, podendo ser encontrada na parede celular das plantas<sup>79-82</sup>. O fato de que esse polímero está presente na casca de frutas cítricas, faz com que ele seja um subproduto da indústria de sucos, o que conseqüentemente resulta no baixo custo desse material<sup>82-84</sup>.

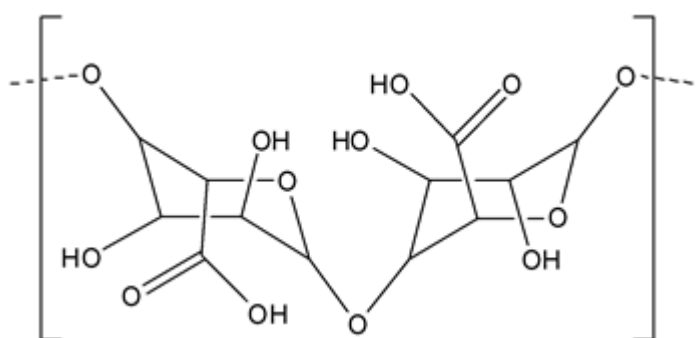


FIGURA 1.7 - Estrutura química da pectina<sup>85</sup>.

A estrutura da pectina é composta por monômeros interligados por ligações glicosídicas, possuindo uma grande quantidade de ramificações e grupos hidroxilas<sup>86,87</sup>. Essas últimas características conferem aos polissacarídeos um caráter hidrofílico e propriedades de hidrocolóides, ou seja, a capacidade de formar dispersões viscosas quando em meio aquoso, fazendo com que a pectina seja bastante utilizada no ramo industrial como espessante<sup>82,83,86,88-90</sup>.

Levando em conta o caráter hidrofílico, biocompatibilidade e biodegradabilidade da pectina, esse material pode ser utilizado em diversas aplicações. Dentre estas se destaca o uso no campo biomédico, como carreador de

fármacos e para acelerar a degradação de materiais<sup>87,88,91</sup>. Como exemplo dessa aplicação, Lin *et al.*<sup>92</sup> sintetizaram fibras de quitosana e álcool polivinílico com e sem PEC para aplicações em engenharia de tecidos. Como resultado, observaram que a adição de PEC na fibra aumentava a velocidade de degradação da matriz polimérica, sendo cada vez mais rápida com o aumento da porcentagem de PEC. Em outro trabalho, Ye *et al.*<sup>93</sup> incorporaram a argila rectorita em fibras de álcool polivinílico e PEC e avaliaram a citotoxicidade do compósito. Foram obtidas fibras uniformes que não se apresentaram tóxicas quando expostas a células animais.

Alguns artigos relatam que soluções aquosas de pectina não são facilmente eletrofiadas, tendo em vista que esse polímero não possui emaranhamento suficiente ao longo de suas cadeias. Isso ocorre, pois a pectina possui muitos anéis em sua estrutura, o que diminui a flexibilidade e dificulta a ocorrência de enroscos entre as cadeias. Por conta dessa característica, não há viscosidade suficiente para suportar os estiramentos necessários para a formação de fibras<sup>94-96</sup>. Dessa forma, fibras contendo esse polissacarídeo só foram obtidas ao formar blendas desse material com outros polímeros como polietileno glicol, álcool polivinílico e acetato e polivinila<sup>86,92</sup>. No trabalho de Alborzi *et al.*<sup>97</sup> os autores relataram que não foi possível obter fibras de alginato de sódio:pectina (70:30) contendo 0,01% de ácido fólico. Porém, a adição de polietileno glicol permitiu a obtenção de fibras pelo método de eletrofiação.

Considerando que a aplicação proposta neste trabalho é como um curativo tópico, e que se deseja um material resistente para evitar o rompimento durante o uso, as propriedades mecânicas de filmes de pectina com reforço cerâmico tem sido alvo de estudo<sup>98</sup>.

## **1.2. Membranas compósitas**

Fibras voltadas para uso como curativos necessitam de propriedades mecânicas adequadas para manterem sua estrutura frente ao manuseio, aplicação e uso desse sistema<sup>52</sup>. Para isso precisam ser flexíveis e suportar tensões de forma a permitir a movimentação do animal sem serem rompidas. Uma das formas de melhorar as propriedades mecânicas de polímeros, tornando-as mais propícias para o ambiente fisiológico, é por meio da inserção de um material cerâmico<sup>99</sup>. No trabalho de Doyle *et al.*<sup>100</sup> foi avaliado o módulo de Young e a tensão máxima do

polihidroxitirato e do compósito desse polímero com hidroxiapatita. Os pesquisadores verificaram que na presença de 10% da cerâmica o módulo de Young passou de 400 MPa para 500 MPa, enquanto o estresse máximo aumentou de 21,6 para 29,9 MPa. No trabalho de Terzopoulou *et al.*<sup>101</sup> foram produzidos filmes de PCL e *bioglass* por *spin coating*, com aplicação voltada para liberação de fármacos. Os autores verificaram que o compósito apresentou um módulo de Young de 5784 MPa enquanto o valor obtido para o PCL puro foi de 797 MPa.

Nesse contexto, o material compósito terá uma melhora na propriedade mecânica quando houver uma boa interação entre o polímero e a cerâmica. Quando essa interação é efetiva, o material polimérico transfere a tensão aplicada para a cerâmica. Como as partículas cerâmicas são capazes de suportar maiores tensões, o material compósito como um todo resiste a tensões muito maiores do que o material polimérico puro. Considerando que a transferência de tensão ocorre pela interface dos materiais, tal transferência pode ser melhorada quando há uma maior área de contato entre a fase dispersa e a matriz, permitindo maior interação<sup>102,103</sup>. Nesse cenário uma cerâmica que merece destaque é a classe das zeólitas por apresentar uma elevada área superficial específica, reatividade e dispersabilidade, possibilitando uma maior eficiência de distribuição e permitindo uma melhor eficiência nas propriedades de reforço<sup>104,105</sup>.

Classificadas como mesoporosas, as zeólitas são aluminossilicatos cristalinos com arranjos tetraédricos de  $\text{SiO}_4$  e  $\text{AlO}_4$ <sup>-106</sup>, como apresentado na Figura 1.8(a). Esses tetraedros podem se agrupar de diferentes maneiras, originando unidades secundárias de construção e posteriormente unidades terciárias. A estrutura tridimensional da zeólita pode apresentar diferentes características de área de superfície e diâmetros de poros, dependendo da forma com que as unidades terciárias se organizam. As aplicações industriais desses materiais têm sido numerosas, se destacando o uso nas áreas de troca iônica, catálise, separação de gases e adsorção<sup>107-110</sup>. Além disso, as zeólitas tem se mostrado muito eficientes como fase dispersa para melhora das propriedades mecânicas de polímeros, como polietileno e ácido polilático<sup>104,111</sup>. Yuzay *et al.*<sup>104</sup> avaliaram as propriedades mecânicas de compósitos de ácido polilático com zeólita 4W em diferentes porcentagens. Os autores observaram que 3% (m/m) da cerâmica no compósito aumentou o módulo de Young do material de 1221 para 1465 MPa. Verificaram também a maior resistência à tração que passou de 62,2 para 67,9 MPa, as custas

de uma pequena diminuição da deformação da fratura, a qual foi de 10,9 para 6,9%. Além disso, alguns trabalhos relatam que a zeólita 5A também aumentou a miscibilidade entre polímeros. Isso foi observado no caso do trabalho de Thipmanee *et al.*<sup>105</sup>, no qual foi verificado que o uso da zeólita na blenda de amido termoplástico e polietileno de baixa densidade, melhorou as propriedades mecânicas e a compatibilidade entre os polímeros.

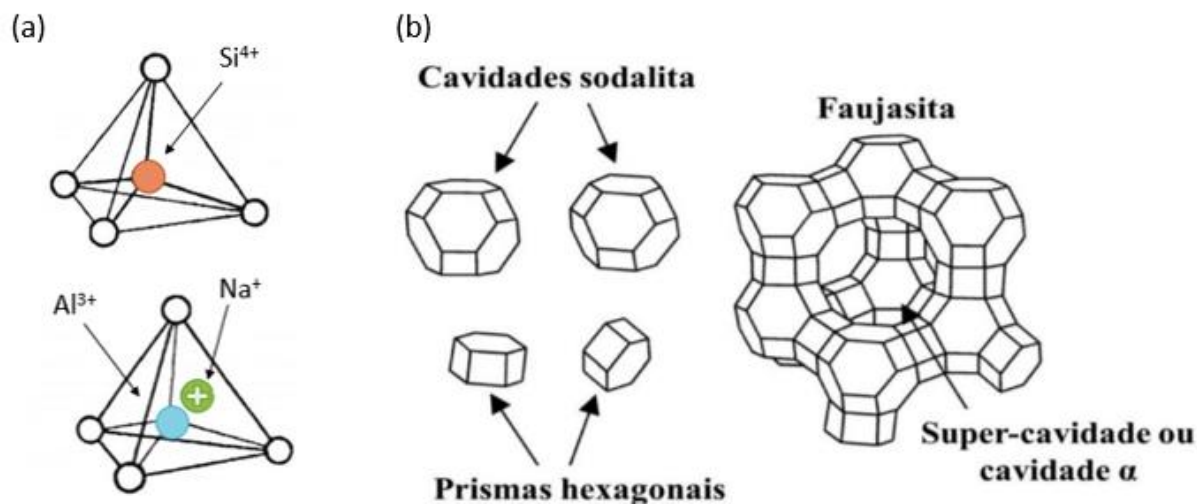


FIGURA 1.8 – Representação esquemática dos (a) tetraedros<sup>112</sup> e das (b) cavidades<sup>113</sup> da estrutura da zeólita Faujasita estudada neste trabalho.

Nesse contexto, a zeólita é um excelente candidato como reforço de fibras poliméricas. Já que a elevada área superficial específica associada a esse material pode ser um fator significativo para melhorar as propriedades mecânicas da membrana.

### 1.3 Zeólita faujasita (FAU)

Os compartimentos porosos formados são utilizados como critério de classificação das zeólitas em diferentes famílias, sendo as zeólitas com poros grandes aquelas cujas cavidades medem de 6 Å a 8 Å de diâmetro<sup>114,115</sup>. Dentre elas, destacam-se as pertencentes à família faujasita (FAU), cujo diâmetro do poro é cerca de 7,4 Å<sup>115</sup>. As zeólitas dessa família são classificadas quanto à razão Si/Al presente na estrutura. Dessa forma, são chamadas zeólitas X aquelas cuja razão é inferior a 1,5, e Y as que possuem razão superior a 1,5<sup>116</sup>.



A estrutura da FAU é composta por duas bases estruturais que podem ser descritas como prisma hexagonal e sodalita. A união das faces desses dois poliedros resulta na formação de uma supercavidade, com 0,74 nm de entrada e 1,24 nm de poro<sup>113,115</sup>. O resultado da associação de todas essas formas é a estrutura da zeólita FAU, representada na Figura 1.8(b).

Associado a essas características, a biocompatibilidade e a estabilidade em meio biológico, fazem da zeólita FAU um material de interesse para aplicações biológicas<sup>117-120</sup>. Filmes de pectina com zeólita faujasita com cátions de cobre, como contra íons da estrutura da FAU, foram utilizados no trabalho de Ninan *et al.*<sup>117</sup> para aplicações como membrana bactericida. O material obtido apresentou atividade antimicrobiana frente aos organismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e viabilidade celular de 89%. No trabalho de Belkhair *et al.*<sup>121</sup>, foi fabricado um filme compósito de silicone com zeólita com cátions de prata como contraíon para ser aplicado como dispositivo antimicrobiano. Nesse trabalho, foi verificada a atividade bactericida em colônias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus epidermidis*, mostrando a efetividade desse material na aplicação proposta.

Assim, o presente projeto visou a obtenção de uma fibra compósito de PCL:PEC:FAU e o aprimoramento da resistência mecânica, degradabilidade e biocompatibilidade para aplicação como curativo antimicrobiano em doenças como mastite e afecção de casco.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivos gerais

Esse trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma membrana compósita biodegradável de PCL:PEC:FAU na forma de fibras, visando características mecânicas e hidrofílicas adequadas para ser utilizada como curativo com propriedade antimicrobiana.

### 2.2. Objetivos específicos

- Síntese da zeólita faujasita com contra íons  $\text{Na}^+$  pelo método sol-gel com tratamento hidrotermal.
- Obtenção de fibras biopoliméricas de de PCL:PEC por meio da eletrofiação variando os parâmetros da eletrofiação, assim como estudar as características da forma das fibras obtidas.
- Estudo de como a concentração dos polímeros influencia a forma das fibras, assim como as propriedades térmicas e de degradação da blenda.
- Obtenção de fibras compósitas de PCL:PEC:FAU por meio da eletrofiação.
- Imobilização do antibiótico nas membranas compósitas de PCL:PEC:FAU.
- Avaliação da atividade bacterida das fibras frente colônias de bactérias *Staphylococcus aureus*.

### 3. Materiais e métodos

A sequência metodológica seguida neste trabalho está apresentada esquematicamente na Figura 3.1. Dessa forma, a zeólita faujasita (FAU) foi obtida pelo método hidrotérmico. As partículas de FAU foram incorporadas nas fibras de policaprolactona (PCL) e pectina (PEC), as quais foram preparadas utilizando a eletrofiação. O compósito obtido foi aplicado como uma membrana bactericida.

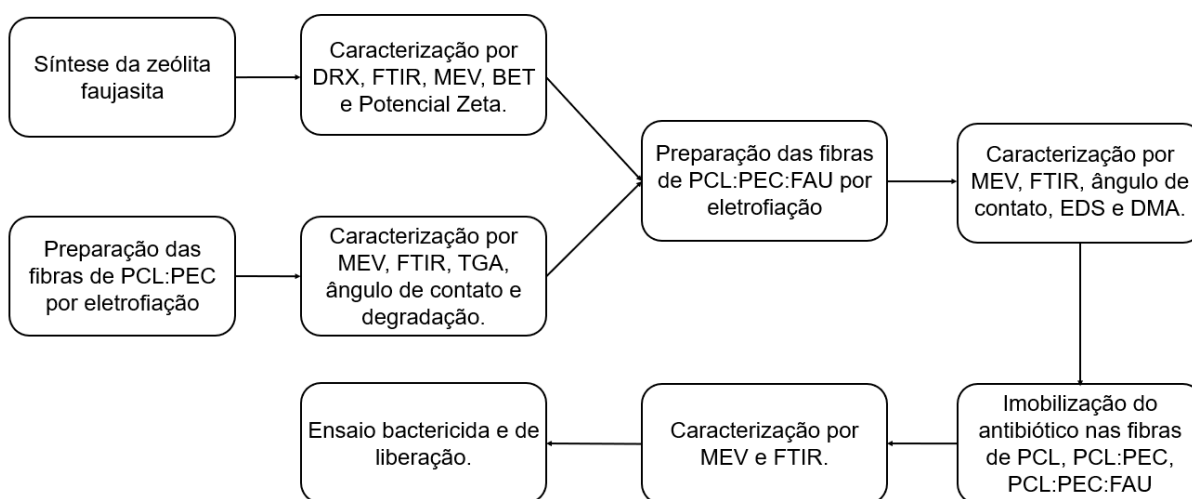


FIGURA 3.1 - Esquema do procedimento experimental utilizado neste trabalho.

A obtenção da FAU foi otimizada usando as técnicas de difratometria de raios X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e potencial Zeta. Além disso foi realizado o cálculo da área superficial específica utilizando o método de Brunauer, Emmett e Teller (BET) para tratar os dados das isotermas obtidas no ensaio de fisissorção e dessorção de N<sub>2</sub>. O material escolhido foi aquele que apresentou os melhores resultados frente às análises realizadas.

As fibras poliméricas foram otimizadas por meio do estudo do resultado das seguintes análises: MEV, FTIR, ângulo de contato, termogravimetria (TGA) e ensaio de degradação. O material escolhido foi aquele que apresentou características mais promissoras junto às técnicas realizadas.

As fibras compósitas foram analisadas por MEV, espectroscopia de energia dispersiva (EDS), FTIR, ângulo de contato e análise dinâmico mecânica (DMA), com o intuito de identificar a presença e influência da FAU nas propriedades da membrana.

As fibras poliméricas e compósitas contendo o fármaco cloxacilina foram analisadas utilizando o FTIR e o MEV. A atividade bactericida da fibra foi estudada utilizando o ensaio bactericida e o mecanismo de atuação foi investigado por meio da liberação do fármaco.

A tabela 3.1 apresenta os reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

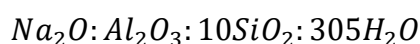
TABELA 3.1 - Reagentes com pureza e marca que foram empregados no procedimento experimental.

Reagente	Pureza (%)	Marca
<b>Aerosil 380 (SiO<sub>2</sub>)</b>	-	Evonik
<b>Aluminato de sódio</b>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (50-56%) Na <sub>2</sub> O (37-45%)	Sigma-Aldrich
<b>Clorofórmio</b>	99,8	Synth
<b>Cloxacilina sódica</b>	-	INLAB
<b>Dimetilsufóxido</b>	99	Synth
<b>Hidróxido de sódio</b>	97	Synth
<b>Pectina Genu USP B</b>	-	CPKelco
<b>Policaprolactona (50.000 MW)</b>	-	Perstorp

Dessa forma, o desenvolvimento das fibras de PCL:PEC:FAU com acondicionamento de cloxacilina foram passíveis de obtenção laboratorial.

### 3.1 Obtenção da FAU

A síntese da FAU a partir da sílica foi adaptada de trabalhos prévios na literatura<sup>122</sup>, resultando na seguinte estequiometria de reagentes:



Na FIGURA 3.2 é possível observar o esquema do procedimento experimental utilizado para a síntese da zeólita.

Inicialmente, preparou-se uma solução com 3,52 g de aluminato de sódio da Sigma-Aldrich e 25 mL de água deionizada, agitando até total solubilização. Em seguida, gotejou-se 25 mL de solução de hidróxido de sódio (10,85 mol L<sup>-1</sup>), mantendo a agitação magnética por 5 minutos após o término da adição da base. Depois dessa etapa, verteu-se 50 mL de água deionizada no meio reacional e em

seguida iniciou-se a adição do 16,22 g de SiO<sub>2</sub> Aerosil aos poucos, agitando constantemente com um bastão de vidro. Ao finalizar esse processo, o gel foi envelhecido em bancada por 24 horas seguido do tratamento hidrotérmal. Tal tratamento foi realizado sem agitação, com taxa de aquecimento de 3°C min<sup>-1</sup> até 100°C, mantendo o meio reacional nesta temperatura por diferentes períodos de tempo (2, 3, 4 e 6 horas).

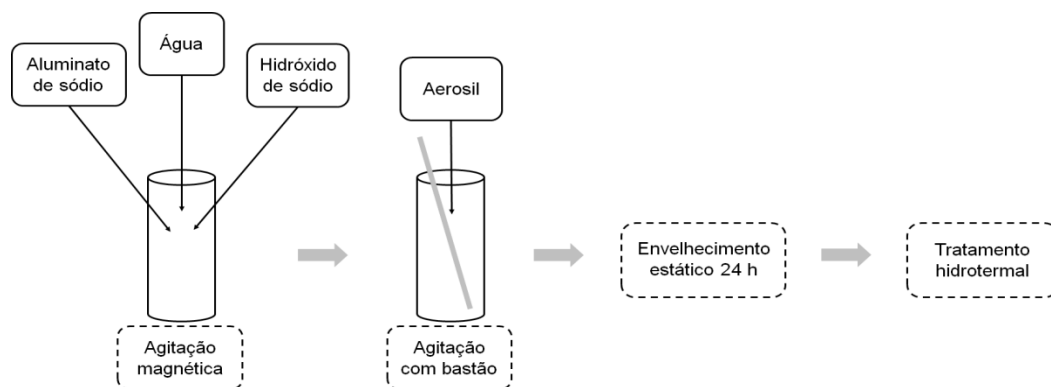


FIGURA 3.2 - Esquema simplificado da metodologia utilizada para obtenção da zeólita.

Para caracterização da zeólita obtida foram realizadas as seguintes caracterizações:

#### - Difratometria de raios X (DRX)

As análises de difratometria de raios X foi realizada em um equipamento Shimadzu®, modelo LabX XRD-6000, utilizando radiação Cu-K $\alpha$  de  $\lambda=1,5406$  Å. A varredura foi feita de forma contínua a 1° min<sup>-1</sup> com 2 $\theta$  variando de 5 a 50°.

#### - Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR (*Fourier Transformed Infrared*) foram feitas em um equipamento Bruker (Vertex 70) utilizando o modo ATR (*Attenuated Total*

*Reflectance*). Os espectros foram gerados com 32 varreduras de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### - **Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

As fibras e as partículas foram analisadas em um microscópio JEOL 6510. Para as fibras, quadrados de aproximadamente 5  $\text{mm}^2$  de área foram aplicados sobre uma fita carbono em um *stub* metálico. Em seguida, as amostras foram recobertas com ouro usando um metalizador Leica SCD 050. A espessura das fibras foi calculada utilizando o *software* Image J, realizando a contagem de pelo menos 100 diâmetros. Já as partículas de zeólita foram depositadas sobre a fita carbono em um *stub* metálico, utilizando em seguida um fluxo de ar para remover as partículas soltas, sem necessidade de recobrimento metálico.

#### - **Fisissorção e dessorção de $\text{N}_2$ (BET)**

A análise de BET foi realizada no equipamento ASAP 2020 (Micrometrics). Inicialmente, aproximadamente de 100 mg de material foi aquecido a 100°C, até uma pressão de 10  $\mu\text{m Hg}$ . Esse pré-tratamento foi realizado para evitar possíveis erros nas medidas, pois é nessa etapa que os gases e moléculas de água que encontram-se adsorvidas na superfície da amostra são liberadas. A leitura foi feita a pressões relativas selecionadas pelo *software* do equipamento, o qual determinou o valor da área específica utilizando o método de BET.

#### - **Potencial zeta**

O Potencial Zeta das suspensões foi obtido por meio do equipamento Malvern Instruments - Zetasizer Nano ZS90. Para a realizar tais medidas, 1 mg de zeólita foi dispersa em 15 mL de água deionizada e sonicada em ultrassom de ponta por 20 s, em intervalos de 5 s, com amplitude de 20%. As medidas foram feitas em triplicata, sendo utilizado a média dos três valores.

## 3.2 Otimização de Fibras PCL:PEC:FAU

### 3.2.1 Fibras de PCL

Com o intuito de produzir fibras de PCL puro solubilizou-se 10% (m/v) de PCL na fração de clorofórmio (CF), mantendo a agitação magnética por 30 min e adicionou-se posteriormente o dimetilsulfóxido (DMSO), agitando por mais 30 min. A seleção dos solventes e suas proporções foram baseadas na literatura<sup>123</sup>. Após o preparo da solução, as fibras de PCL foram obtidas por meio da eletrofiação, fixando a voltagem em 20 kV, distância de trabalho em 10 cm e a vazão em 1,2 mL h<sup>-1</sup>. Um esquema simplificado da metodologia está apresentado na Figura 3.3. O sistema de eletrofiação utilizado é formado por uma fonte de alta tensão da marca Glassman High Voltage modelo PS/FC60P02.0-22, uma bomba ejetora KVS modelo 100, uma seringa de vidro da Art Glass de 20 mL e agulha de 40 x 1,2 mm. O coletor utilizado consiste em um cilindro rotativo metálico coberto com uma folha de papel alumínio.

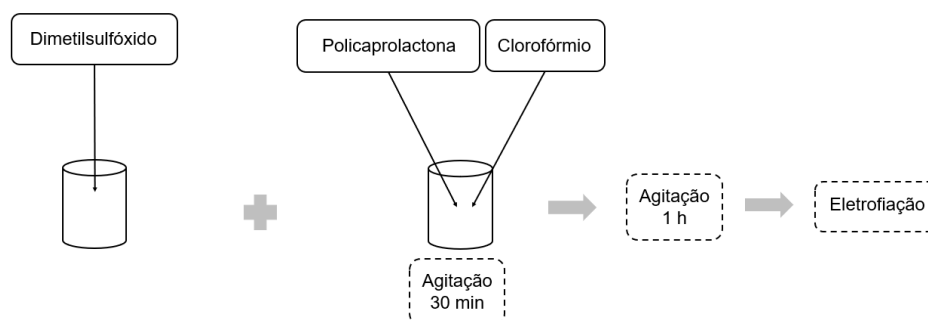


FIGURA 3.3 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das fibras de PCL puro.

As fibras de PCL puro foram produzidas apenas para serem utilizadas como referência, e assim permitirem avaliar a influência da PEC e da FAU nas propriedades das fibras obtidas.

### 3.2.2 Fibras de PCL:PEC

Para compor a solução polimérica utilizada na eletrofiação foram selecionadas as seguintes proporções de solventes: 80% (v/v) de CF e 20% (v/v) de DMSO. Assim, adicionou-se PEC na fração de DMSO e PCL na fração de CF, mantendo a agitação magnética por 30 min. Em seguida, misturou-se as duas

soluções e manteve-se a agitação por 30 min. O esquema da metodologia utilizada nessa etapa está apresentado na Figura 3.4.

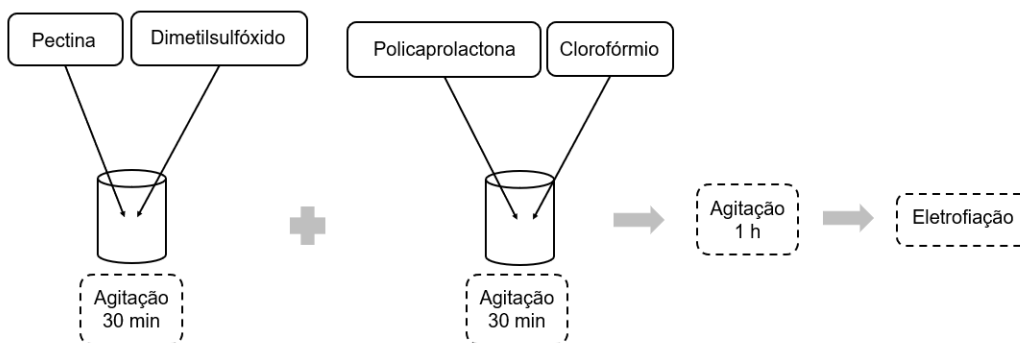


FIGURA 3.4 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das fibras de PCL:PEC.

Para obter selecionar a melhor composição da fibra, variou-se a concentração de PCL entre 15%; 12,5%; 10% e 9%, utilizando para cada caso a proporção de 1% de PEC (massa PEC:massa PCL) que foi ajustada conforme a quantidade de PCL. Após preparar a solução, as fibras de PCL:PEC foram obtidas por meio da eletrofição, fixando a voltagem em 20 kV, a distância de trabalho em 10 cm e a vazão em 0,7 mL h<sup>-1</sup>. Em seguida, utilizando 10% de PCL (massa de PCL:volume total de solução), variou-se a distância de trabalho e a vazão da solução polimérica conforme a Tabela 3.2. Utilizando a porcentagem de PCL e os parâmetros de eletrofição que resultaram nas fibras com melhores características, variou-se também as concentrações de PEC entre 1% e 50% (m/m) com o intuito de selecionar fibras com maior degradabilidade.

TABELA 3.2 - Condições utilizadas na eletrofição para obtenção de fibras de com 10% de PCL e 1% de PEC.

Distância (cm)	Vazão (mL h <sup>-1</sup> )
8	0,5
8	0,7
8	1
8	1,5
10	0,7
10	1,2
10	1,5



Assim, as fibras de PCL e PCL:PEC foram caracterizadas além das técnicas de FTIR e MEV supracitadas no tópico 3.1, por meio das seguintes análises.

#### - **Termogravimetria (TGA)**

Realizou-se a análise termogravimétrica em um instrumento TA (Q500-Series). Para isso, pesou-se de 6 a 10 mg da amostra e secou-a previamente em estufa. A análise foi efetuada em fluxo de 40 mL min<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub> e 60 mL min<sup>-1</sup> de ar sintético, taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup> em um intervalo de temperatura entre 40 e 700 °C.

#### - **Ângulo de contato**

Os valores de ângulo de contato foram medidos no equipamento KSV Instruments (CAM 101). Para isso, utilizou-se gotas com 3-5 µL de volume de água, e mediu-se o ângulo durante 60 s de deposição da gota sobre a fibra. O valor do ângulo utilizado foi uma média entre o ângulo após 10 e 50 s de deposição.

#### - **Ensaio de degradação**

O ensaio de degradação foi realizado em condições que mimetizam o ambiente fisiológico. Para isso, cortou-se as membranas em dimensões 2x2 cm e pesou-se cada uma delas. Em seguida, cada amostra foi colocada em um tubo tipo Falcon de 50 mL, vertendo-se em seguida 20 mL do tampão fosfato com pH 5,5. O pH foi selecionado utilizando como parâmetro o pH da pele<sup>124</sup>. Esses sistemas foram colocados em uma estufa *shaker* com rotação de 150 rpm e sob 36°C por 15, 30 e 60 dias. Após esse período, retirou-se as fibras da solução, retirou-se o excesso de água com um papel toalha, deixou-as secando em placa de Petri durante 24 h e realizou-se a pesagem após esse período. Cada ensaio de degradação foi feito em triplicata para cada composição da fibra, sendo avaliada a perda de massa média entre as três medidas.

### 3.3 Fibras compósitas de PCL:PEC:FAU

As fibras de PCL:PEC:FAU foram obtidas conforme as metodologias descritas abaixo. A seleção dos tipos e proporções dos solventes, proporções dos polímeros e as condições de eletrofiação foram baseados nos resultados obtidos para as fibras obtidas na etapa 3.2. Um esquema simplificado da metodologia está disponível na Figura 3.5.

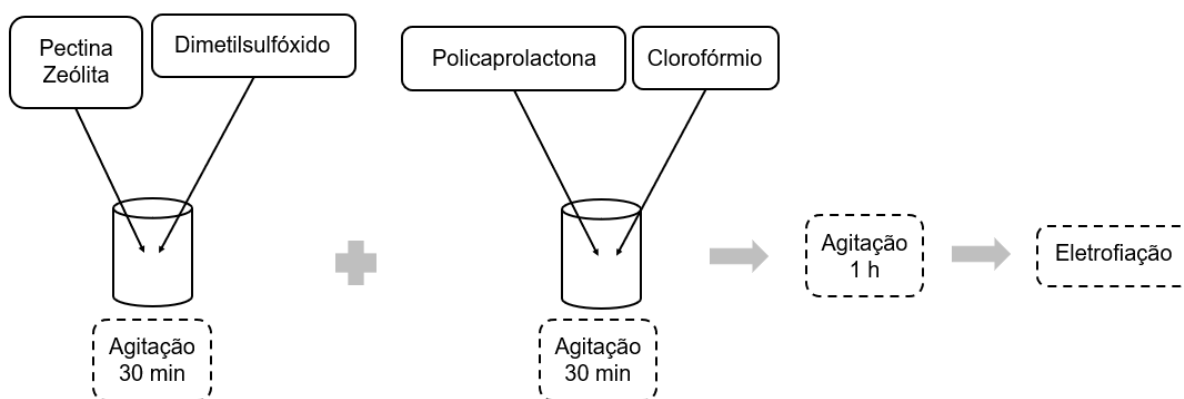


FIGURA 3.5 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das fibras compósitas.

Para obter as fibras compósitas, adaptou-se a metodologia descrita no item 3.2. Nesse caso, preparou-se as soluções de 10 % (m/m) de PEC e 2,5% (m/m)<sup>31</sup> de FAU em DMSO e 10% (m/v) de PCL em CF. Após o período de agitação, misturou-se as duas soluções e manteve-se a agitação por 1 h. Em seguida, realizou-se a eletrofiação na voltagem de 20 kV, 10 cm de distância do coletor e vazão de 1,2 mL h<sup>-1</sup>.

Além das técnicas de FTIR, MEV, ângulo de contato supracitadas no tópico 3.1 foram realizadas as seguintes análises.

#### - Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

As fibras foram analisadas em um microscópio JEOL 6510. Para as fibras, quadrados de aproximadamente 5 mm<sup>2</sup> foram aplicados sobre uma fita carbono em um *stub* metálico. Em seguida, as amostras foram recobertas com carbono usando um metalizador Leica SCD 050.

## - Ensaio dinâmico mecânico (DMA)

Para o ensaio mecânico de tração foi utilizado o equipamento DMA Q800 V21.3 Build 96, utilizando o módulo de garra e variando a força de tração na taxa de  $1 \text{ N s}^{-1}$  até o rompimento da membrana. As medidas foram realizadas em quintuplicata sendo que para a análise foram utilizados corpos de prova retangulares com  $6,32 \times 18,48 \text{ mm}$ , variando a espessura de acordo com a deposição das fibras durante o processo da eletrofição.

### 3.4 Incorporação do fármaco cloxacilina nas fibras

O preparo das fibras com o fármaco cloxacilina foi realizado conforme descrito abaixo. A escolha dos tipos e proporções do solvente, as condições de eletrofição, a concentração do PCL e da FAU foram baseadas nos resultados para as fibras obtidas nas etapas 3.2 e 3.3. Um esquema geral do procedimento está apresentado na Figura 3.6.

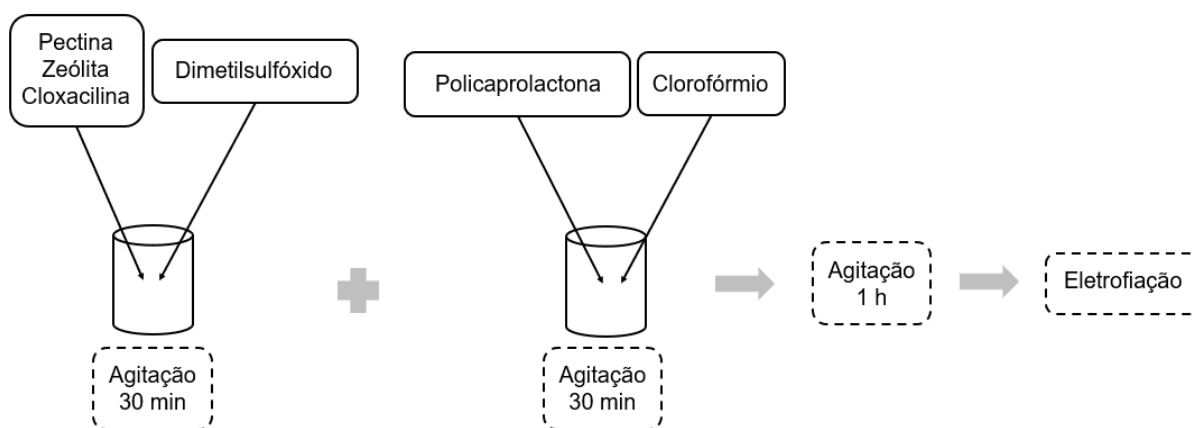


FIGURA 3.6 - Esquema geral do procedimento experimental utilizado no preparo das soluções poliméricas e compósitas com fármaco.

#### 3.4.1 Incorporação da cloxacilina nas membranas na forma de fibras

Para obter fibras de PCL com o antibiótico cloxacilina, realizou-se uma adaptação do procedimento descrito anteriormente em 3.2.1. Nesse caso, solubilizou-se 10% (m/v) de PCL em CF e em seguida adicionou-se o DMSO,

mantendo agitação por 30 min. Após esse período o fármaco foi adicionado, agitando o sistema por mais 1 h até solubilização. Em seguida, realizou-se a eletrofiação nos parâmetros otimizados. As concentrações de cloxacilina utilizadas foram de 20% (massa de fármaco:massa total de polímero)<sup>125</sup>.

Para obter fibras de PCL:PEC com o fármaco, adaptou-se o procedimento descrito em 3.2.2. Nesse caso, preparou-se as soluções de 10% (m/v) de PCL em CF e PEC em DMSO. Quando o PCL foi completamente solubilizado, misturou-se os dois sistemas e adicionou-se 20% (m/m) de fármaco, agitando por 1 h. Em seguida, realizou-se a eletrofiação nos parâmetros otimizados.

Para obter fibras de PCL:PEC:FAU com o fármaco, adaptou-se o procedimento descrito em 3.3. Nesse caso, preparou-se as soluções de 10% (m/v) de PCL em CF e 10% (m/m) de PEC, 2,5% (m/m) de FAU e 20% (m/m) de fármaco em DMSO. Quando o PCL solubilizou completamente, misturou-se os dois sistemas e agitou-se por mais 1 h. Em seguida, realizou-se a eletrofiação nos parâmetros otimizados.

Além das técnicas de FTIR e MEV supracitadas no tópico 3.1 foram realizadas as seguintes análises.

## - **Ensaio de disco-difusão**

O estudo da atividade bactericida das fibras pelo método de disco-difusão foi realizado para o microrganismo *Staphylococcus aureus* seguindo uma metodologia adaptada da norma NCCLS (M2-A8). Inicialmente inseriu-se as bactérias no meio de cultura e deixou-as crescendo em estufa a 36°C por 12 h. Após esse período preparou-se o inóculo de cada um desses microrganismos por meio do ajuste de concentração para 10<sup>6</sup> células utilizando a escala de McFarland. O inóculo foi então espalhado sobre uma placa de Petri contendo ágar e meio Müller-Hinton. Os discos das fibras previamente cortados, a FAU e o fármaco foram dispostos sobre a superfície de diferentes placas de ágar, em seguida as placas foram tampadas e incubadas em estufa a 36°C por 12 h. Após esse período mediu-se a zona de inibição do crescimento das bactérias utilizando um paquímetro.

## - **Ensaio de liberação**

O ensaio de liberação foi realizado em condições que mimetizam o ambiente fisiológico. Para isso, cortou-se e pesou-se cerca de 80 mg de cada membrana. Em seguida, a amostra foi colocada em um tubo tipo Falcon de 50 mL, vertendo-se em seguida 50 mL do tampão fosfato com pH 5,5. Esse sistema foi colocado em uma estufa shaker com rotação de 150 rpm e sob 36°C por 72 h. Após esse período, retirou-se a fibra da solução, removeu-se o excesso de água com um papel toalha e deixou-a secando em placa de Petri durante 24 h. Após esse período, analisou-se a amostra por FTIR.

## 4. Resultados e discussão

Nessa etapa serão analisados os resultados provenientes da síntese da zeólita FAU, a obtenção das fibras poliméricas compósitas e a incorporação da cloxacilina nestes materiais.

### 4.1 Obtenção da zeólita FAU

Com o intuito de determinar os produtos e identificar as fases obtidas da síntese da zeólita foi realizada a análise de DRX para o precursor de  $\text{SiO}_2$  e para as amostras de zeólita sintetizadas variando o tempo de tratamento hidrotermal entre 2 e 6 h. Os difratogramas desses materiais estão apresentados na Figura 4.1.

Por meio desse resultado, pode-se observar que o tempo de tratamento hidrotermal exerce uma grande influência na obtenção de fases da zeólita, as quais foram identificadas utilizando a ficha cristalográfica *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS), e que as sínteses de 3 a 6 h de tratamento resultaram em um material com alta cristalinidade. O difratograma do precursor (Figura 4.1(a))  $\text{SiO}_2$  serve como referência do material de partida, o qual apresenta uma estrutura amorfa que é indicada pela presença do sinal alargado, característico da sílica. A síntese com 2 h de tratamento hidrotérmico, Figura 4.1(b), mostra que o material obtido apresentou uma elevação da linha de base, indicando a presença de fase amorfa, além disso foi observado picos característicos da zeólita FAU (JCPDS 043-0168). O aumento do tempo de tratamento para 3 h resultou na melhora da definição dos picos referentes à fase cristalina da faujasita, de forma a obter um material com fase pura, como pode ser observado em 4.1(c). Com o contínuo aumento do tempo de tratamento hidrotermal houve o surgimento concomitante da fase concorrente gismondina (GIS) (JCPDS 39-1373) como apresentado em 4.1(d) para o tempo de 4 h, assim como para o tempo de 6 h, Figura 4.1(e). Ao alcançar 6 h de tratamento hidrotermal ainda é observado a presença da fase GIS mas com um maior teor de FAU quando comparado com a síntese de 4 h, como mostrado no difratograma da Figura 4.1(e). Tendo em vista que zeólitas são materiais termodinamicamente metaestáveis, a transição de fases desses materiais pode ser proporcionada apenas pela alteração de condições de cristalização, como o pH, a temperatura e o tempo<sup>126,127</sup>. Essa observação é um

indicativo de que a FAU volta a ser estável para maiores tempos de tratamento hidrotérmico<sup>128</sup>.

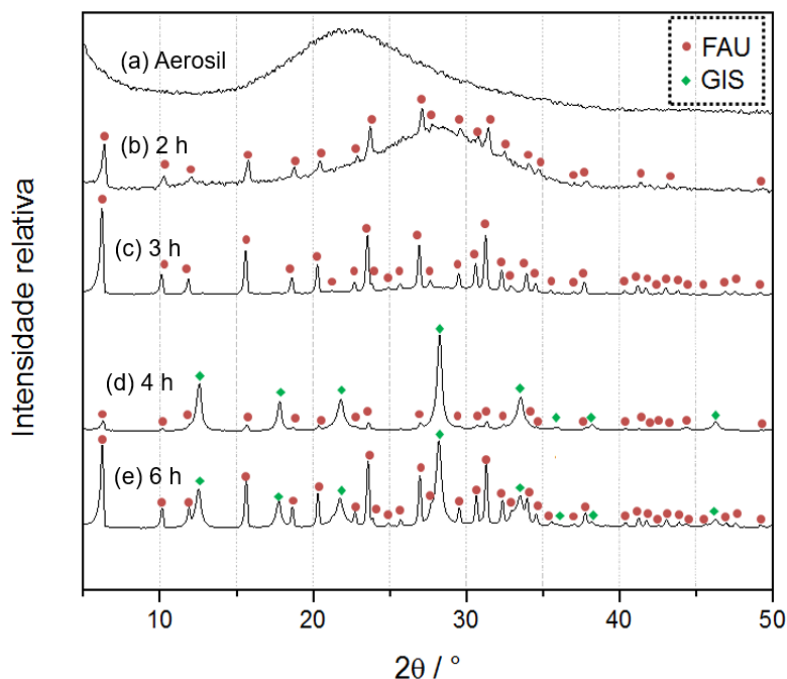


FIGURA 4.1 - Difratomogramas do SiO<sub>2</sub> aerosil em (a) e das amostras sintetizadas a partir desse precursor variando o tempo de tratamento hidrotérmico: (b) 2 h, (c) 3 h, (d) 4 h e (e) 6 h.

A estrutura da zeólita FAU (Figura 4.2(a)) é composta por unidades sodalita interligadas entre os anéis de 6 membros, resultando em super cavidades tridimensionais. Já a estrutura da zeólita GIS (Figura 4.2(b)), é formada por anéis de 8 membros interligados, resultando em anéis de 4 membros os quais dão forma a poros bidimensionais<sup>126</sup>. No trabalho de Osada *et al.*<sup>129</sup> foi avaliada a transição de fase entre a zeólita FAU e a GIS frente a variação do tempo de tratamento hidrotérmico. Nesse trabalho foi verificado que maiores tempos de reação promovem a formação da zeólita GIS, enquanto menores períodos aumentavam a razão FAU/GIS. Já no trabalho de Azizi *et al.*<sup>126</sup> foi verificado que variar cerca de 5°C na temperatura de hidrotermalização foi suficiente para transitar entre uma fase pura de GIS ou FAU para uma mistura dessas duas fases. Os autores também observaram que a síntese realizada a 100°C resultava na fase pura da GIS, a 90°C formava-se a fase pura da FAU e entre 95 a 97°C formava-se uma mistura dessas fases. Desta forma, os resultados encontrados neste trabalho nos difratogramas de raios X frente a variação do tempo de tratamento hidrotérmico, Figura 4.1(a-e), corroboram com o comportamento observado na literatura<sup>126,129</sup>.

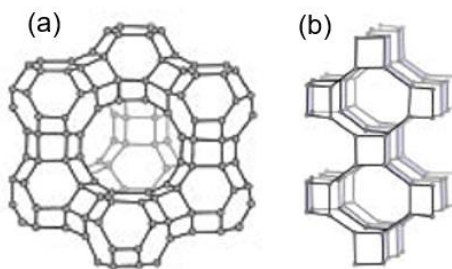


FIGURA 4.2 - Esquemas da estrutura da zeólita FAU (a) e da zeólita GIS (b). Adaptado de Maldonado *et al.* (2013)<sup>130</sup>.

Com o intuito de determinar possíveis contaminantes e complementar o estudo das características estruturais foi realizada a análise de FTIR-ATR para as amostras de zeólita sintetizadas variando o tempo de tratamento hidrotérmal entre 2 e 6 h. Os espectros desses materiais estão apresentados na Figura 4.3.

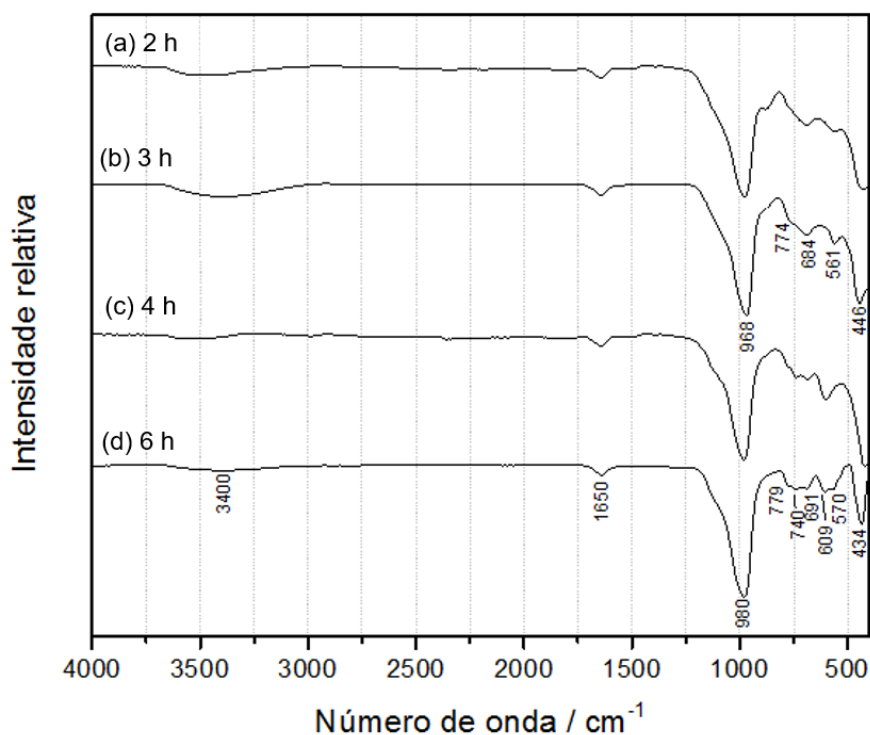


FIGURA 4.3 - Espectro de infravermelho das amostras sintetizadas com  $\text{SiO}_2$  variando o tempo de tratamento hidrotérmal entre (a) 2 h, (b) 3 h, (c) 4 h e (d) 6 h.

Em todos os espectros da Figura 4.3 há a presença de bandas na região de  $3700\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$  as quais são relativas à presença de ânions  $\text{OH}^-$  na estrutura e uma banda na região de  $1650\text{ cm}^{-1}$  associada com a vibração de moléculas de água de hidratação<sup>131</sup>. Em todos os espectros da Figura 4.3, os quais referem-se a amostras compostas total ou parcialmente pela fase FAU, é possível



observar a presença das bandas em 450-430  $\text{cm}^{-1}$  referente a flexões dos tetraedros internos de  $\text{TO}_4$  (T = Si, Al) e em 570-560  $\text{cm}^{-1}$  associada a ligação dos anéis duplos externos. Ainda nesses espectros há a presença de bandas em 690-680  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas ao estiramento simétrico das ligações externas, enquanto em 780-770  $\text{cm}^{-1}$  são associadas ao estiramento simétrico de anéis de 4 membros. As bandas em 990-970  $\text{cm}^{-1}$  são referentes ao estiramento assimétrico dos tetraedros internos. Já nos espectros em 4.3(c-d), das amostras com fases concorrentes de FAU e GIS, ocorre o aparecimento de algumas bandas da FAU já mencionadas e também de bandas em 620-610  $\text{cm}^{-1}$  referentes à vibração do anel de 8 membros e em 740  $\text{cm}^{-1}$  do estiramento simétrico de T-O. Nesses espectros a banda em 980  $\text{cm}^{-1}$  sofreram um deslocamento para maiores números de onda por conta da influência dos anéis de 4 membros da fase GIS, além disso houve também um deslocamento da banda em 430  $\text{cm}^{-1}$  para menores números de onda, o que é resultado da contribuição dos anéis de 8 membros da GIS. Essas frequências de vibração estão de acordo com a literatura, corroborando o que foi concluído com o DRX, ou seja, que a síntese de 3 h formou a fase pura da FAU sem contaminantes, e que as sínteses de 4 h e 6 h resultaram na mistura de fases de FAU e GIS<sup>126,132</sup>.

Com o intuito de fazer um estudo da forma e homogeneidade das partículas, foi realizada a análise de MEV para as amostras de zeólita sintetizadas. As imagens de MEV estão apresentadas na Figura 4.4.

Pode-se observar na Figura 4.4 que o aumento do tempo de hidrotermalização de 2 a 6 h resultou em um conseqüente aumento do tamanho de partículas, partindo de 100 nm e chegando a 2000 nm. Durante o processo de tratamento hidrotermal, por conta da temperatura e pressão, as partículas se solubilizam e podem se recristalizar em partículas maiores. Esse comportamento permite que o aumento do tempo de tratamento hidrotérmico contribua para o crescimento das partículas e também para a obtenção de amostras com diâmetros mais homogêneos. No trabalho de Hu *et al.*<sup>133</sup> ao diminuir o tempo de tratamento hidrotérmico de 60 para 20 min, o tamanho de partícula também diminuiu, mudando de 200 para 80 nm. Segundo os autores esse comportamento foi observado porque maiores períodos no reator hidrotermal permitem que as partículas cresçam por mais tempo e, portanto, se tornem maiores. A zeólita mostrada na Figura 4.4(a) apresenta partículas com tamanhos muito menores do que a amplificação do equipamento, dificultando o estudo da forma desse material. Já amostra na Figura 4.4(b) apresenta

partículas com tamanhos polidispersos, de 100 a 2500 nm, pois pode-se observar partículas pequenas, com baixa definição, espalhadas sobre a superfície de partículas maiores. A zeólita mostrada na imagem da Figura 4.4(c) apresenta forma aproximadamente esférica com tamanhos mais homogêneos quando comparada com a zeólita de 3 h, com cerca de 800 nm. Enquanto as partículas apresentadas na imagem da Figura 4.4(d) possuem diâmetros variados, de 1000 a 3500 nm e maiores do que as zeólitas já mencionadas.

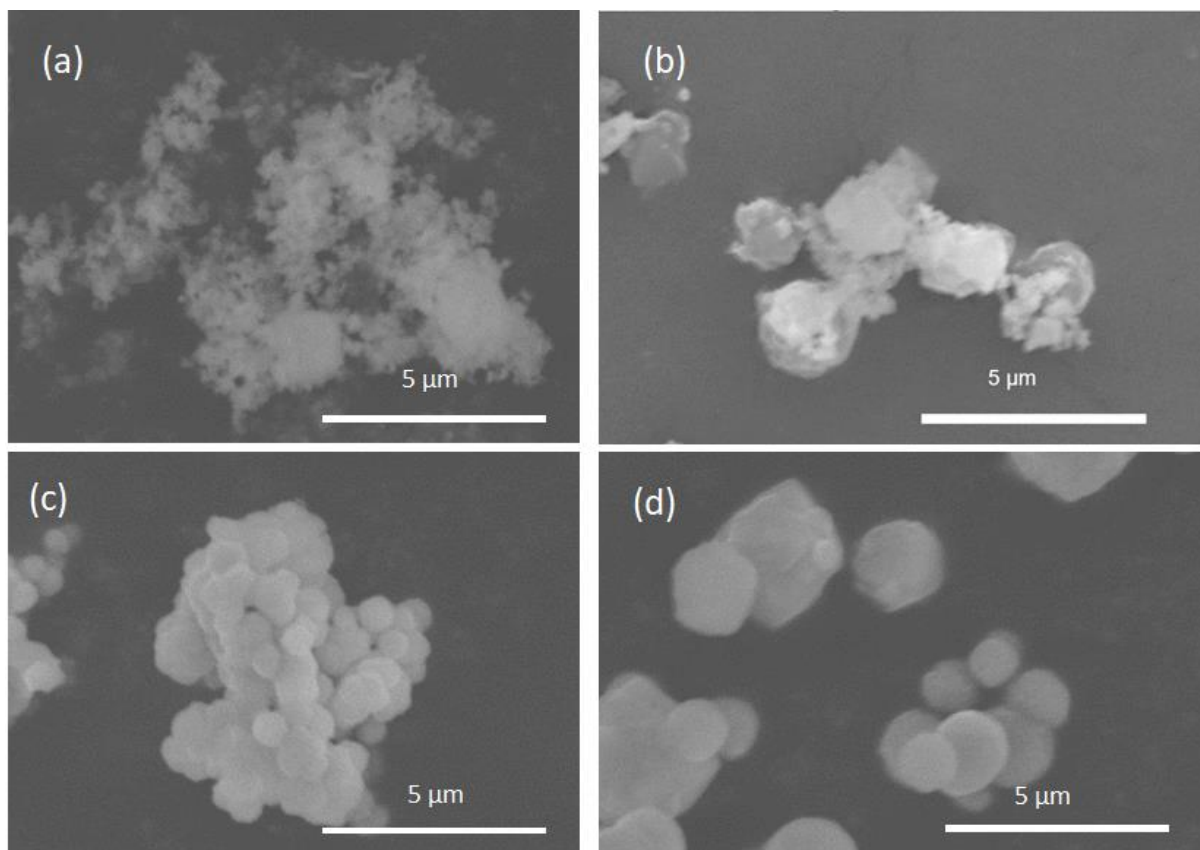


FIGURA 4.4 - Imagens de MEV das zeólitas obtidas com (a) 2 h, (b) 3 h, (c) 4h e (d) 6 h de tratamento hidrotérmico.

Considerando que apenas a zeólita sintetizada com 3 h de hidrotermal resultou na fase pura da zeólita FAU, como observado DRX, Figura 4.1, esse material foi escolhido para prosseguir os estudos, uma vez que possibilitará avaliar o efeito da zeólita FAU com fase homogênea nas fibras.

Posteriormente foi feita a análise das características da zeólita FAU encontrada, como a área superficial específica e de poros utilizando a análise de isotermas de adsorção/dessorção de  $N_2$  e valor do potencial Zeta. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 4.1.

TABELA 4.1 - Apresentação dos valores de área específica obtida pelo método BET e potencial zeta para a zeólita com 3 h de tratamento hidrotérmico.

Área total BET (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Área superficial específica (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Área de poros (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Potencial zeta (mV)
347 ± 8	29 ± 8	318 ± 8	- 48 ± 2

A partir desses resultados é possível notar que a FAU sintetizada com 3 h de tratamento hidrotérmico apresenta uma área total de 347 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Além disso, os resultados mostram que praticamente 92% desta área é relativa à superfície dos poros e apenas 6% refere-se à área superficial externa. Não foram encontradas metodologias similares à realizada neste trabalho para comparação dos valores obtidos, tendo em vista que os trabalhos encontrados utilizam diferentes precursores e condições de síntese. Entretanto, valores próximos aos obtidos nesse trabalho foram encontrados na literatura para partículas de tamanhos não homogêneos, como as apresentadas na Figura 4.4(b)<sup>134</sup>. Liu *et al.*<sup>134</sup> sugerem que um menor valor de superfície de poros pode ser obtido para partículas polidispersas de zeólita FAU, já que elas possuem poros menores entre as partículas. Essa hipótese é também corroborada pelos resultados apresentados no trabalho de Garcia *et al.*<sup>135</sup> Nesse trabalho, as partículas de FAU com tamanhos mais homogêneos, 850 nm com partículas variando 30% do diâmetro médio, apresentam uma área de 700 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, enquanto as partículas com tamanhos polidispersos, 250 nm com partículas variando 110% do diâmetro médio apresentaram uma área menor de 586 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Dessa forma, os dados obtidos mostraram uma área superficial específica desejável para o material obtido, que está de acordo com trabalho de Liu *et al.*<sup>134</sup> no qual foram obtidas partículas com área total de 401 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>.

Com o intuito de avaliar a estabilidade das partículas quando em suspensão e com isso a capacidade de se manterem dispersas, foi realizada a análise de potencial zeta. O valor de potencial zeta obtido para a zeólita FAU sintetizada com 3 h de tratamento hidrotérmico foi de - 48 mV (Tabela 4.1). Módulos de potencial zeta acima de 30 mV indicam a maior presença de cargas superficiais, ou seja, existe uma menor tendência a aglomerar e decantar<sup>136</sup>. O resultado obtido para a FAU sintetizada está um pouco acima dos resultados da literatura, os quais apresentaram valores de - 20 a - 40 mV, e indica uma elevada estabilidade das partículas em suspensão<sup>137-139</sup>. A carga negativa desse resultado está associada

com desprotonação das hidroxilas presentes na superfície do material zeolítico, resultando em uma carga negativa nos oxigênios terminais da estrutura<sup>140</sup>.

Assim, os valores encontrados para as áreas de superfície e de poros<sup>134</sup>, bem como, o potencial zeta elevado<sup>137-139</sup> corroboram com o obtido neste trabalho, apresentando características da FAU de boa estabilidade e alta área superficial específica, a fim de serem inseridas nas fibras a partir do processo de eletrofiação.

## 4.2. Obtenção de fibras poliméricas de PCL: PEC

A otimização do processamento das fibras de PCL:PEC foi realizado com o objetivo de obter o material mais homogêneo e com a menor distribuição de diâmetro médio possíveis dentro das condições de processamento empregadas, para então ser utilizado como membrana bactericida. Com esse propósito inicialmente verificou-se os efeitos na concentração de PCL, a vazão da solução polimérica, a distância de trabalho e a porcentagem de PEC, enquanto a tensão foi mantida em 20 kV em todos os experimentos.

Com o intuito de avaliar a influência da concentração de PCL 15%, 12,5%, 10% e 9% (m/v), na blenda de PCL:PEC mantendo-se constante a concentração de 1% PEC (massa de PEC:massa de PCL), quantidade máxima solúvel nesta composição de solventes, 4:1 (v/v) clorofórmio:DMSO. Os parâmetros de eletrofiação foram fixados em 0,7 mL h<sup>-1</sup> e 10 cm e 20 kV. Para fazer um estudo morfológico dessas fibras, realizou-se a análise de MEV. As imagens de microscopia das fibras obtidas, assim como a distribuição de espessura variando a porcentagem de PCL encontram-se na Figura 4.5.

De acordo com as microscopias e distribuição de diâmetros na Figura 4.5(b-d), o aumento da concentração do PCL de 10% para 15% implicou no aumento da espessura das fibras com tamanho de 350 nm para 8200 nm. Além disso, é observado um maior grau de heterogeneidade das fibras de concentrações maiores. Resultados similares foram obtidos por Sarabi-Mianeji *et al.*<sup>141</sup>, que produziram fibras de PCL variando a porcentagem de 20 a 35%. No trabalho em questão, os pesquisadores observaram que o aumento da porcentagem de PCL resultou no aumento do diâmetro das fibras com valores de 800 a 3000 nm. O aumento do diâmetro das fibras com o aumento da concentração de PCL pode estar

correlacionado com o maior emaranhamento das cadeias, o que promove a menor alongação das fibras ao sair, resultando em fibras mais grossas<sup>142</sup>.

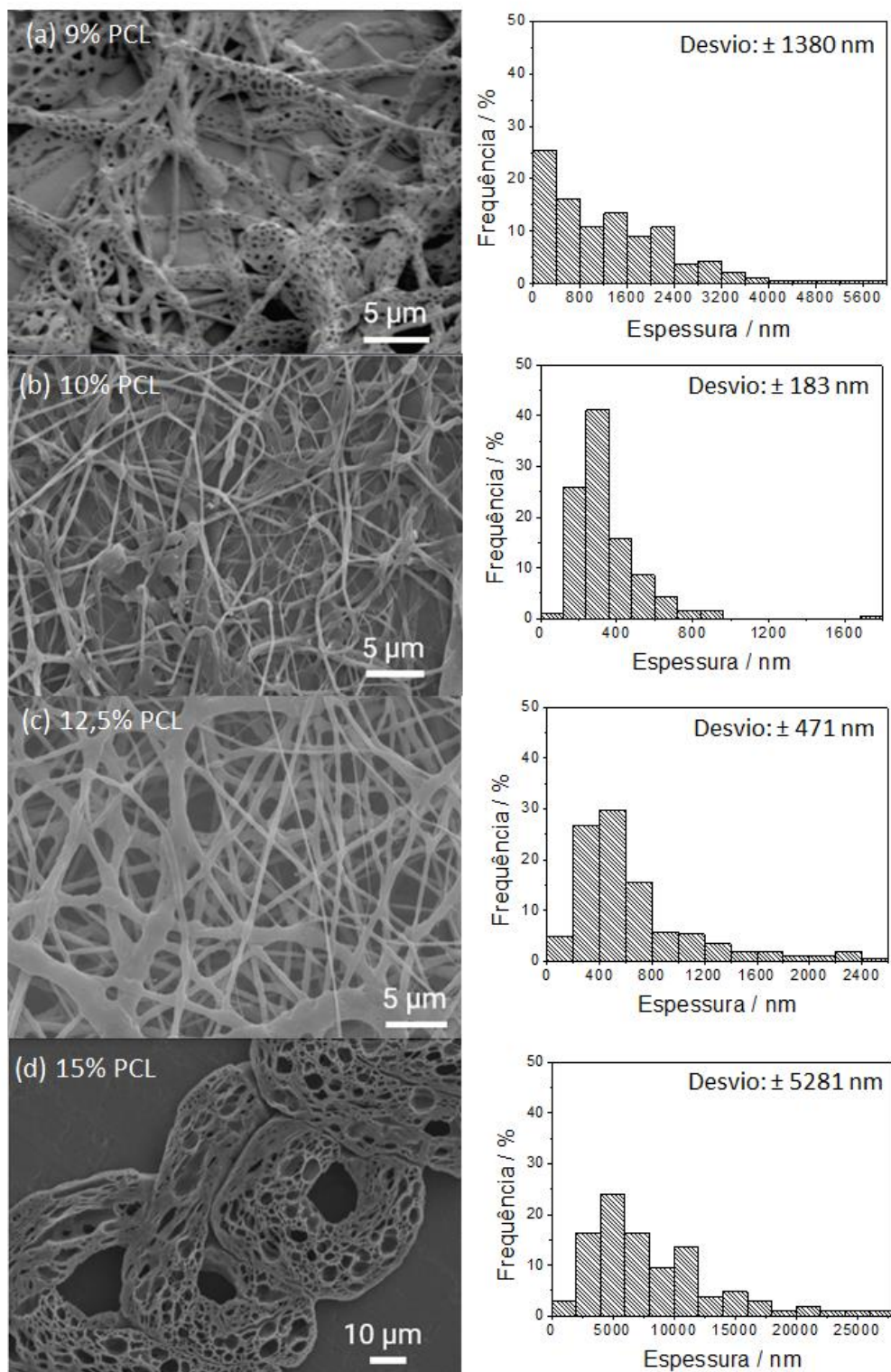


FIGURA 4.5 - Imagens da MEV e distribuição da espessura das fibras variando a concentração de PCL entre 9 e 15% (m/v) e mantendo fixados a concentração de PEC em 1% e as condições de eletrofiação em 20 kV, 10 cm e 0,7 mL h<sup>-1</sup>.

Já na fibra de 9% de PCL mostrada na Figura 4.5(a) aparenta ter ocorrido uma separação das fases de PCL e PEC. Tal hipótese tem como suporte a presença de uma camada de fibra porosa, que aparenta ser de PCL puro, por possuir características similares às apresentadas na literatura<sup>143</sup>, sobre um filme que seria possivelmente formado por pectina. A relação de concentração de PEC em relação a 9% de PCL é a maior sob todas concentrações avaliadas, tornando mais evidente a imiscibilidade dos polímeros. É conhecido que a pectina precisa da presença de outro polímero para ser transformada em fibras na eletrospinação<sup>97</sup>, dessa forma, sem a interação com o PCL a PEC pode ter formado um filme como o observado na imagem. Isso pode ser decorrente da estrutura da PEC ser formada por hidroxilas e ácidos carboxílicos enquanto o PCL possui apenas carbonilas em sua estrutura. Essas características resultam em uma diferença de hidrofobicidade entre os materiais, impedindo que haja uma interação efetiva entre os compostos quando em concentrações elevadas.

Após a análise das imagens de MEV, na Figura 4.5, e avaliando a distribuição de espessura, foi possível selecionar a concentração de 10% como a aquela que produziu fibras mais finas e homogêneas. Escolhida a concentração ótima, prosseguiu-se variando outros parâmetros como a vazão e a distância de trabalho.

Para verificar a influência da vazão da solução pela agulha durante a eletrospinação, foi escolhida a fibra de 10% PCL (m/v) e 1% PEC (m/m), nas condições de 20 kV e 10 cm, enquanto variou-se a vazão entre 0,7; 1,0 e 1,2 mL h<sup>-1</sup>. Para estudar a forma e espessura dessas fibras, realizou-se a análise de MEV. Tais imagens e distribuição de espessura das fibras obtidas variando a vazão encontram-se na Figura 4.6.

De acordo com as imagens de MEV das fibras obtidas variando a vazão, apresentadas na Figura 4.6(a-c), o menor fluxo de solução resulta em fibras com espessuras polidispersas, enquanto vazões maiores formam fibras com uma distribuição de diâmetro mais estreita. As vazões de 0,7; 1,0 e 1,2 mL h<sup>-1</sup> formaram fibras com diâmetros médios de respectivamente 500, 410 e 260 nm. Nesse caso, o aumento da vazão induziu uma força de ejeção que permitiu que os dois polímeros imiscíveis saíssem juntos da seringa, promovendo a formação de fibras mais homogêneas. Dessa forma, ao analisar as imagens e a distribuição de espessura,



selecionou-se a vazão de  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$  para prosseguir a otimização, já que tal vazão resultou nas fibras mais finas e homogêneas.

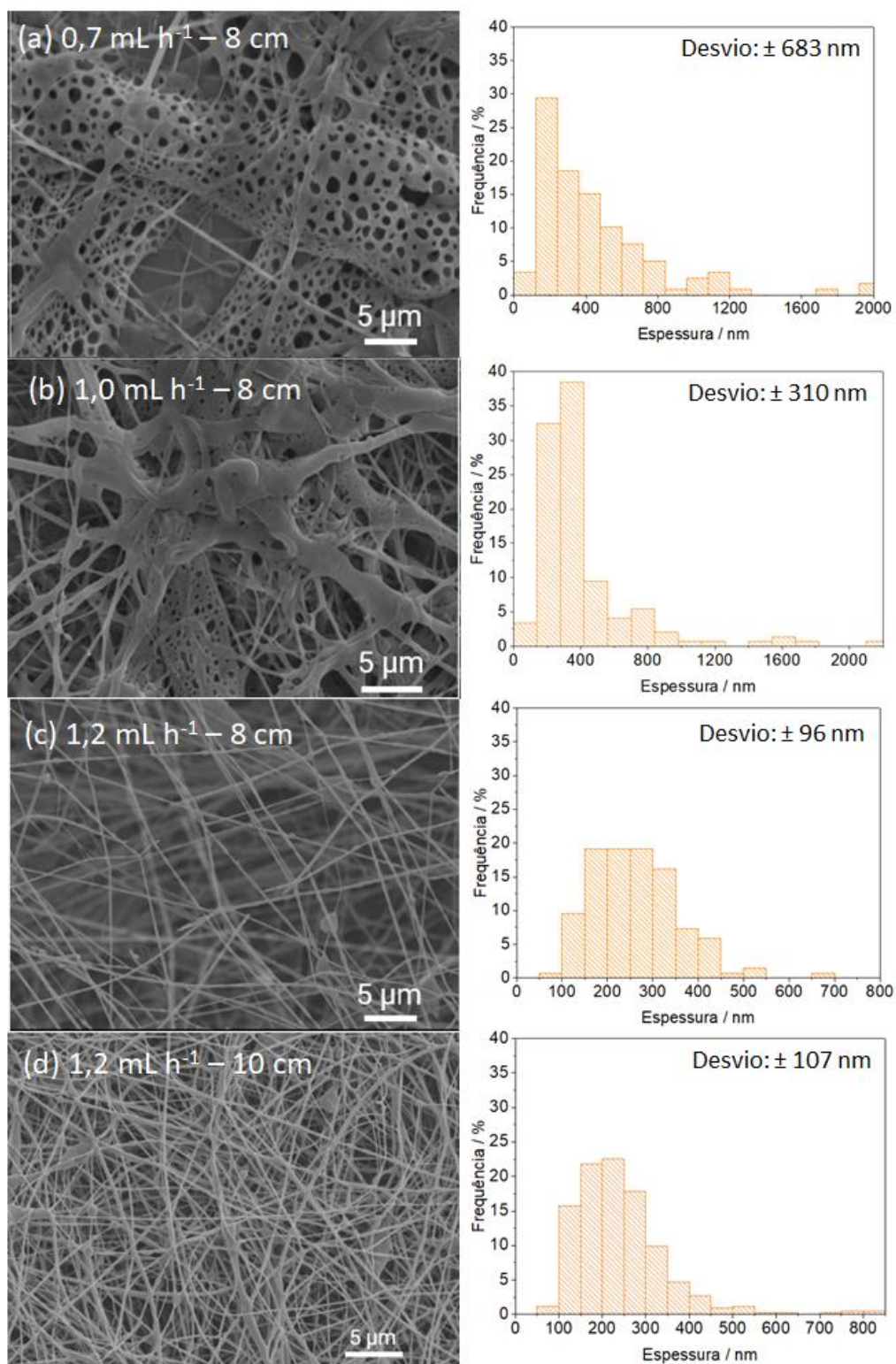


FIGURA 4.6 - Imagens da MEV e distribuição da espessura das fibras variando a vazão da solução entre (a)  $0,7$ ; (b)  $1,0$  e (c)  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$  enquanto mantém-se fixados a concentração de PCL (10%), a concentração de PEC (1%) e as condições de eletrofiação em  $20 \text{ kV}$  e  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$ ; e variando a distância de trabalho entre (c)  $10$  e (d)  $8 \text{ cm}$  enquanto mantém-se fixados a concentração de PCL (10%), a concentração de PEC (1%) e as condições de eletrofiação em  $20 \text{ kV}$  e  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$ .

Com o intuito de avaliar a influência da distância de trabalho na morfologia das fibras, manteve-se constante os outros parâmetros: 10% PCL (m/v), 1% PEC (m/m), e as condições de eletrospinação  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$  e 20 kV, enquanto variou-se a distância da agulha ao coletor entre 8 e 10 cm. Assim, as fibras resultantes foram analisadas por MEV para possibilitar o estudo da forma, as quais estão apresentadas na Figura 4.6(c-d).

Por meio da análise das imagens de MEV e distribuição de espessura apresentadas na Figura 5.6(c-d), foi possível observar que a diminuição da distância de trabalho de 10 para 8 cm aumentou a frequência de fibras com diâmetros menores. Esse fenômeno contribuiu para o estreitamento da distribuição de espessura das fibras, resultando em fibras mais homogêneas. Tal comportamento é esperado, pois maiores distâncias de trabalho permitem o maior alongamento das cadeias poliméricas durante o percurso até o coletor, resultando em fibras mais finas<sup>141,144</sup>. No trabalho de Matabola e Moutloali<sup>145</sup> foi avaliada a influência de parâmetros, como a distância de trabalho, na obtenção de fibras de fluoreto de polivinilideno. Os autores observaram que o aumento da distância entre a agulha e o coletor de 15 para 16 cm resultou em fibras com espessuras menores e mais uniformes. Eles atribuíram esse comportamento à completa evaporação do solvente durante o percurso, assim como ao estiramento das fibras no caminho até o coletor. Assim, após analisar as imagens de microscopia e a distribuição de espessuras, selecionou-se a distância de 10 cm para prosseguir a otimização, tendo em vista que esse valor resultou em fibras homogêneas e de menor espessura.

Para verificar a influência da concentração mais elevada de PEC com valores de 10, 20, 30 e 50% (m/m) nas fibras de PCL:PEC, manteve-se constante a concentração de 10% PCL (m/v), 20 kV,  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$  e 10 cm. Para estudar a forma dessas fibras, realizou-se a análise de MEV. Tais imagens obtidas variando a concentração de PEC encontram-se na Figura 4.7.

As imagens de MEV apresentadas na Figura 4.7 mostram que houve a formação de *beads* na faixa de 0 a 50% de PEC. Pode-se observar na Figura 4.7(a) que o PCL puro apresentou *beads* menores e distribuição com espessuras um pouco menores. Esse fenômeno é observado, pois a inserção de PEC na solução polimérica dificulta o estiramento das fibras, por conferir instabilidade ao sistema, formando membranas com espessuras ligeiramente maiores e facilitando a formação de *beads*.



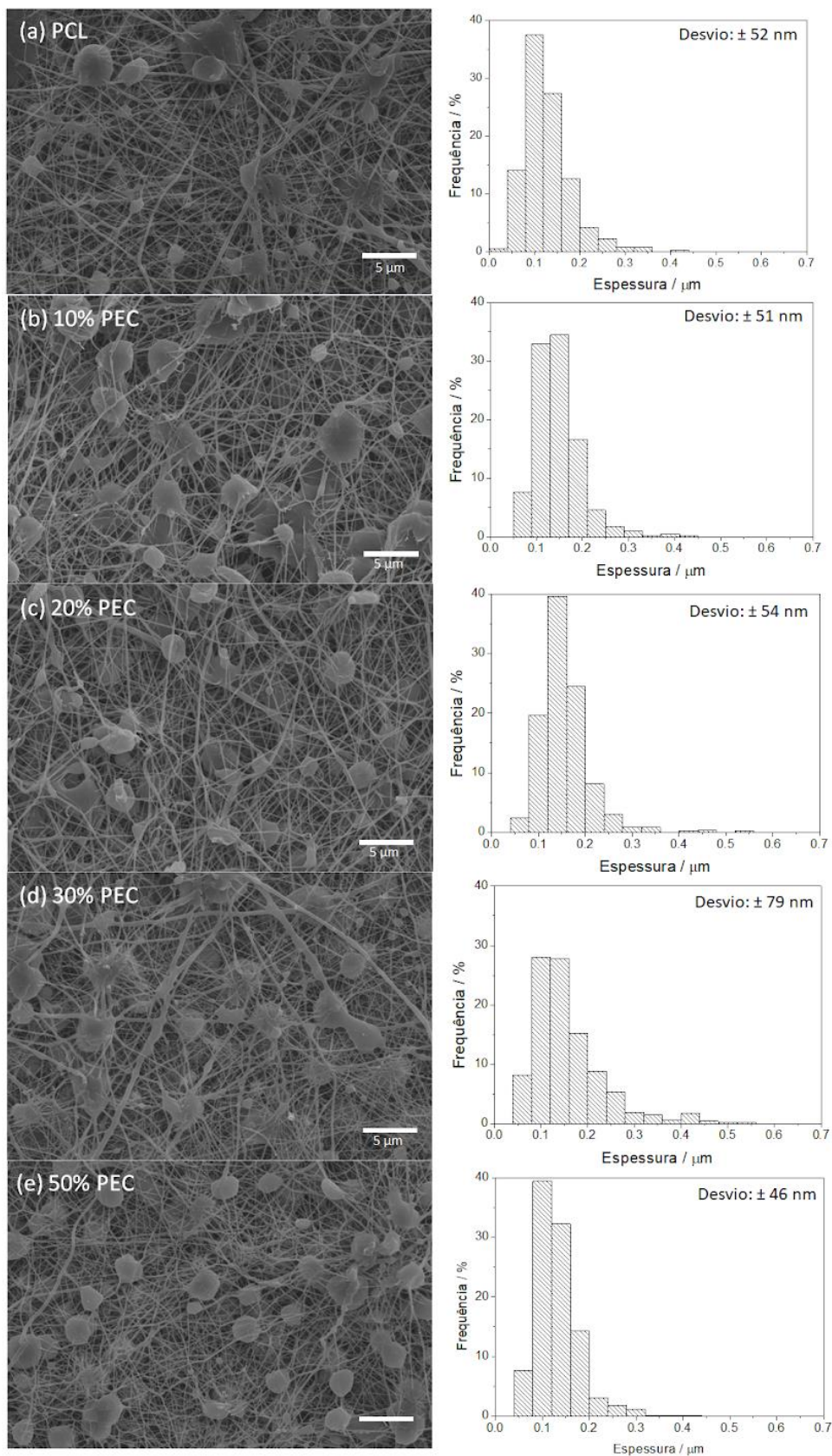


FIGURA 4.7 - Imagens da MEV e distribuição da espessura das fibras variando a concentração de PEC entre (a) 10%, (b) 20%, (c) 30% e (d) 50%, enquanto mantém-se fixados a concentração de PCL (10%) e as condições de eletrofiação em 20 kV, 10 cm e  $1,2 \text{ mL h}^{-1}$ .

Pelas imagens 4.7(b-e), o aumento da porcentagem de pectina na solução, de 10 para 50%, não alterou significativamente a forma e a quantidade de *beads* presentes na fibras, como pode ser observado nos histogramas ao lado de cada figura. Segundo o trabalho de Komur *et al.*<sup>146</sup>, no qual foram obtidas fibras de PCL e amido, o aumento da concentração de amido resultou no aumento de *beads*. Segundo os autores, o PCL tem maior tendência em formar fibras, enquanto o amido tende a originar *beads*. Apesar da semelhança estrutural entre o amido e a pectina, o resultado obtido nesse trabalho não se apresenta semelhante, já que ao aumentar a concentração de PEC não houve aumento concomitante da formação de *beads*. Entretanto, observou-se que devido à baixa solubilidade da pectina nos solventes utilizados nesse trabalho, ela precipita na seringa durante o período da eletrofiação. Esse fenômeno pode ser observado na Figura 4.8, a qual mostra o aspecto da seringa com uma solução com 50% de PEC antes e depois do período de eletrofiação.

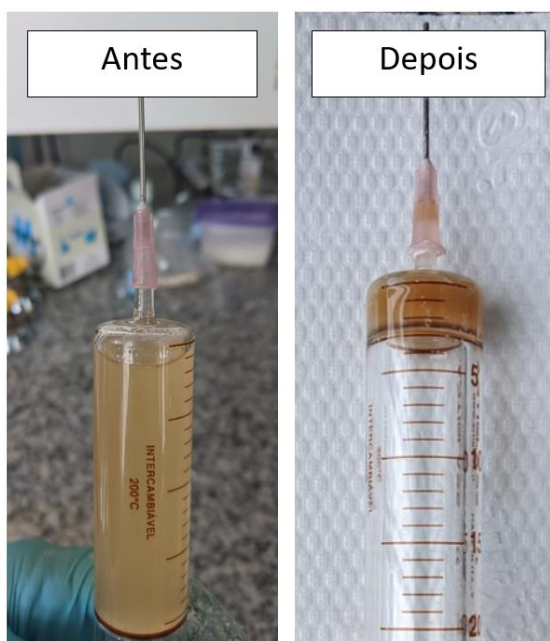


FIGURA 4.8 - Imagens da seringa contendo uma solução polimérica com 50% de PEC antes e depois da eletrofiação.

Assim, acredita-se que a forma das fibras apresentadas na Figura 4.7 (b-e) não é significativamente alterada, pois não há uma variação considerável na quantidade de pectina que de fato compõe a fibra, tendo em vista que grande parte desse componente permanece na seringa, Figura 4.8.

Com o objetivo de identificar a presença dos componentes das fibras e de possíveis contaminantes, realizou-se a análise de FTIR. Os espectros obtidos para as fibras com diferentes concentrações de PEC (0 a 50%) e dos pós da pectina estão apresentadas na Figura 4.9.

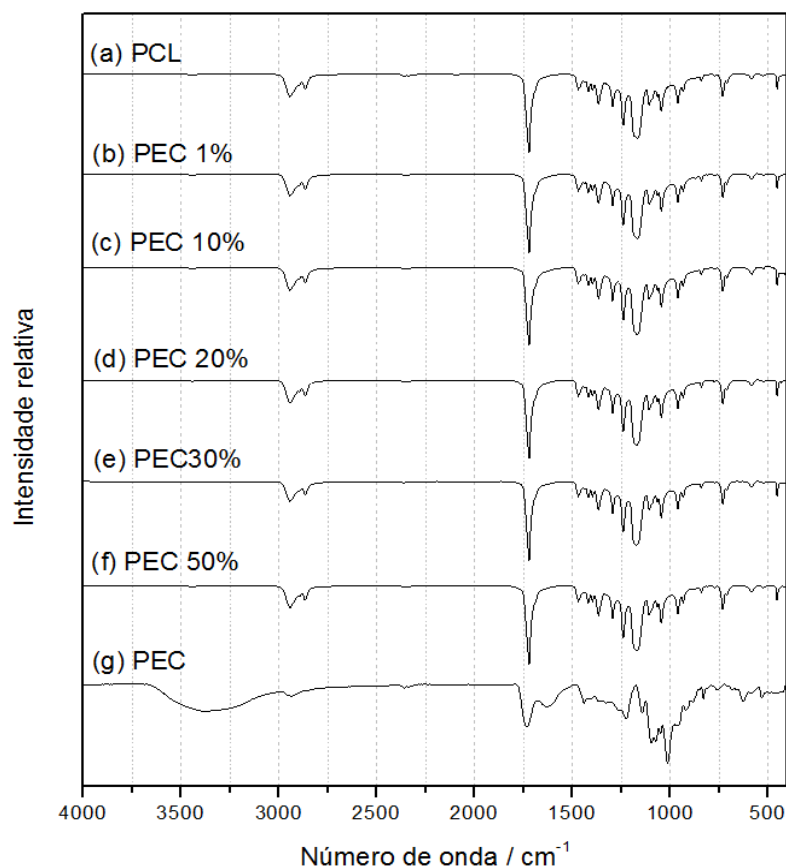


FIGURA 4.9 - Espectros de FTIR das fibras com diferentes porcentagens de pectina: (a) 0, (b) 1, (c) 10, (d) 20, (e) 30 e (f) 50% de PEC e (g) dos pós da pectina.

O espectro presente na Figura 4.9 (a) permite identificar apenas as bandas referentes aos grupos funcionais do PCL que estão de acordo com a literatura<sup>125,142,147-149</sup>. O duplete entre 2800 e 3000  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-H do grupo metileno. A banda em 1720  $\text{cm}^{-1}$  corresponde às vibrações da carbonila (C=O) presente na estrutura do PCL, enquanto as bandas 1238 e 1163  $\text{cm}^{-1}$  referem-se respectivamente ao estiramento assimétrico e simétrico da ligação C-O-C.

No espectro apresentado na Figura 4.9(g) pode-se identificar as bandas referentes aos grupos pertencentes à PEC, as quais também estão de acordo com a literatura<sup>81</sup>. A banda larga em 3370  $\text{cm}^{-1}$  refere-se ao estiramento de grupos OH e as bandas em 2934 e 1438  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à deformação de

grupos  $\text{CH}_2$ . O sinal em  $1730\text{ cm}^{-1}$  representa vibrações do grupo carbonílico presente na PEC, os presentes em  $1600$  e  $1410\text{ cm}^{-1}$  indicam respectivamente o estiramento assimétrico e simétrico do grupo  $\text{COO}^-$ , enquanto aqueles em  $1400$  e  $830\text{ cm}^{-1}$  referem-se às vibrações do anel. As vibrações do grupo C-O são apresentadas nas bandas  $1260$  e  $960\text{ cm}^{-1}$ , o estiramento assimétrico da ligação O-C-O aparece em  $1140\text{ cm}^{-1}$  e ambos os grupos C-C e C-O vibram nas regiões de  $1098$  e  $1014\text{ cm}^{-1}$ .

Após comparar os espectros da Figura 4.9(b-f) com os presentes em (a) e (g) é possível notar apenas a presença de bandas atribuídas ao PCL. Isso indica que a técnica do FTIR-ATR não foi capaz de identificar a pectina nas fibras com 1 a 50% de PEC. Isso pode ter ocorrido por dois motivos, a distribuição não homogênea da pectina na manta e o fato de que as bandas mais intensas do espectro da pectina são referentes a grupos que coexistem nas moléculas de PEC e PCL, como por exemplo as ligações C=O, C-O, C-C e C-H. Além disso, a técnica do FTIR mostrou que as fibras obtidas não possuem contaminantes em sua composição.

Para mensurar o teor de pectina nas fibras e comprovar se a quantidade PEC adicionada à solução polimérica é mantida após a eletrofiação, realizou-se a análise de TGA. Assim, a Figura 4.10 apresenta as curvas obtidas após a termogravimetria do pó da pectina, e das fibras com 0 a 30% de PEC enquanto a Figura 4.11 mostra as derivadas das curvas em questão.

As curvas apresentadas para a fibra de PCL na Figura 4.10 (a) e 4.11 (a) apresentam um único evento de degradação que é a quebra da cadeia polimérica por meio de uma pirólise em  $380^\circ\text{C}$  (#1), o qual está de acordo com a literatura<sup>75,149-151</sup>. Os perfis apresentados para a pectina em 4.10(f) e 4.11(f), possuem dois eventos, um a  $230^\circ\text{C}$  (#1) referente a depolimerização das cadeias e outro a  $450^\circ\text{C}$  (#2) que ainda não foi definida, estando também de acordo com a literatura<sup>88,152,153</sup>. Correlacionando as curvas nas Figuras 4.10 (b) e 4.11(b) referente a amostra com 1% de PEC, é possível notar que ela apresenta três eventos de degradação, o primeiro em  $320^\circ\text{C}$  (#1), o segundo em  $385^\circ\text{C}$  (#2) e o terceiro em  $440^\circ\text{C}$  (#3). Considerando que a perda de massa no primeiro evento é próxima de 20% do total, e que a fibra apenas possui 1% de PEC, pode-se inferir que nele não ocorre apenas a perda de pectina, mas também a degradação do PCL, comportamento semelhante foi observado em outros trabalhos da literatura<sup>154</sup>. Então provavelmente, para a fibra

com 1% de PEC, ocorreu uma diminuição da estabilidade térmica do PCL devido a interação com o polissacarídeo. Os outros dois eventos referem-se respectivamente a degradação da policaprolactona e da PEC.

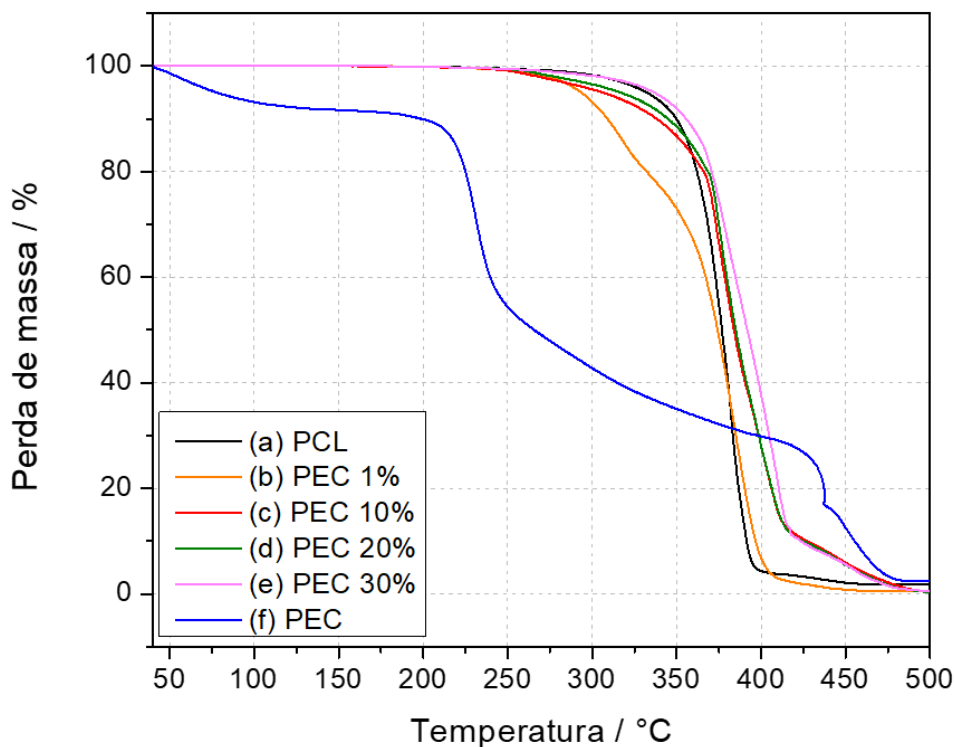


FIGURA 4.10 - Curvas de TGA do pó da pectina e das fibras com 0 a 30% de PEC.

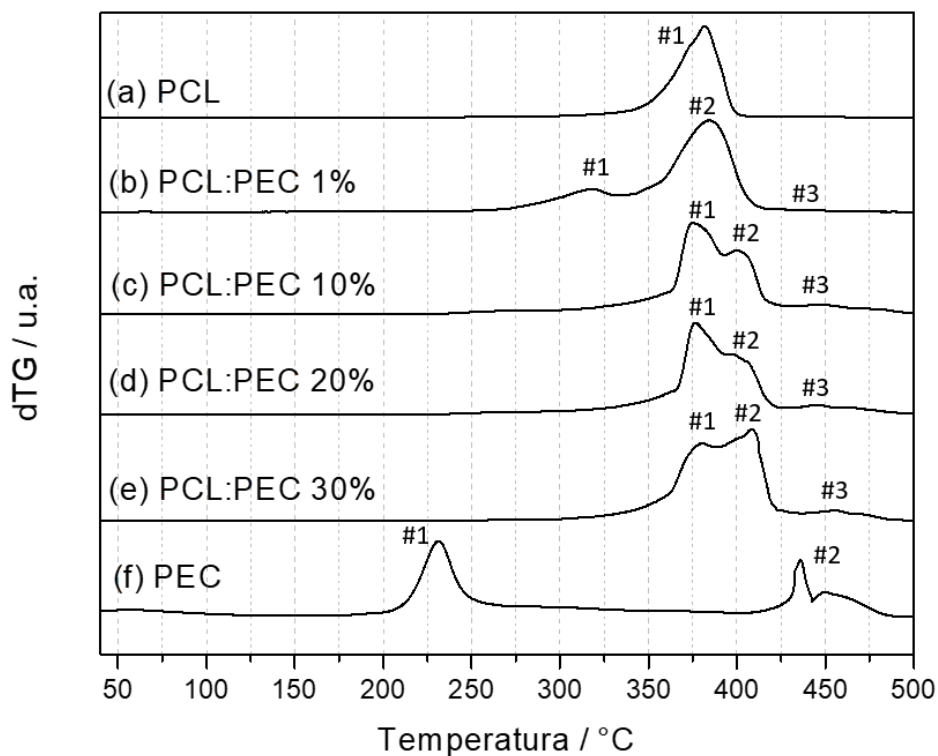


FIGURA 4.11 - Curvas de dTG do pó da pectina e das fibras com 0 a 30% de PEC.

Ao aumentar o teor de pectina para 10-30%, Figuras 4.10 (c-e) e 4.11 (c-e), são observadas duas etapas de degradação. O primeiro evento, entre 375°C (#1) e 410°C (#2), refere-se à degradação do PCL. Esse evento apresenta um desdobramento, o que indica uma miscibilidade parcial entre os polímeros, mas que não é homogênea por toda a fibra. Essa hipótese é corroborada pela diminuição na temperatura inicial de degradação do PCL ao inserir a PEC. O terceiro evento, em 440°C (#3), ocorre por conta da degradação da PEC, considerando que esse polissacarídeo degrada nessa mesma faixa de temperatura quando puro, Figuras 4.10 (f) e 4.11(f).

Ao observar a perda de massa no evento em 440°C, observa-se que ocorre maior perda de massa apenas ao aumentar a porcentagem de PEC de 1 para 10%. Enquanto ao prosseguir o aumento para 20 e 30% não há variações significativas. Esse resultado corrobora a hipótese de que 10% de PEC na solução polimérica é a concentração máxima de saturação de pectina fazendo com que a adição de mais moléculas desse polímero sejam aglomeradas e depositadas nas paredes da seringa, Figura 4.8.

Com o intuito de avaliar a influência do teor de PEC (0 a 50%) na hidrofobicidade da fibra, realizou-se a análise de ângulo de contato. As imagens desse experimento encontram-se na Figura 4.12.

De acordo com as imagens obtidas na Figura 4.12, é possível observar que o ângulo diminui ao passar de 0% (a) para 1% (b) e em seguida para 10% de PEC (c), indicando um aumento da hidrofiliabilidade nessa faixa de concentração. Esse resultado é esperado, tendo em vista que o PCL é um polímero hidrofóbico, enquanto a PEC possui um caráter mais hidrofílico por conta da presença de hidroxilas que podem interagir fortemente com as moléculas de água. Dessa forma, o aumento da concentração de pectina na fibra intensifica a hidrofiliabilidade desse material, conseqüentemente diminuindo o ângulo de contato<sup>74,83,142</sup>. Entretanto, ao aumentar ainda mais o teor de pectina para 20%, 30% e 50%, Figura 4.12 (d-f), ocorre uma diminuição da hidrofiliabilidade, com ângulos de respectivamente 121°, 119° e 123°. Esse efeito, indica que soluções com concentrações maiores que 10% de PEC ocasionaram uma maior deposição desse material na seringa, Figura 4.8, resultando em fibras com teores menores de pectina, corroborando o resultado do



TGA, Figura 4.10. Por conta disso, as fibras se tornaram mais hidrofóbicas ao atingir concentrações superiores a 10%.

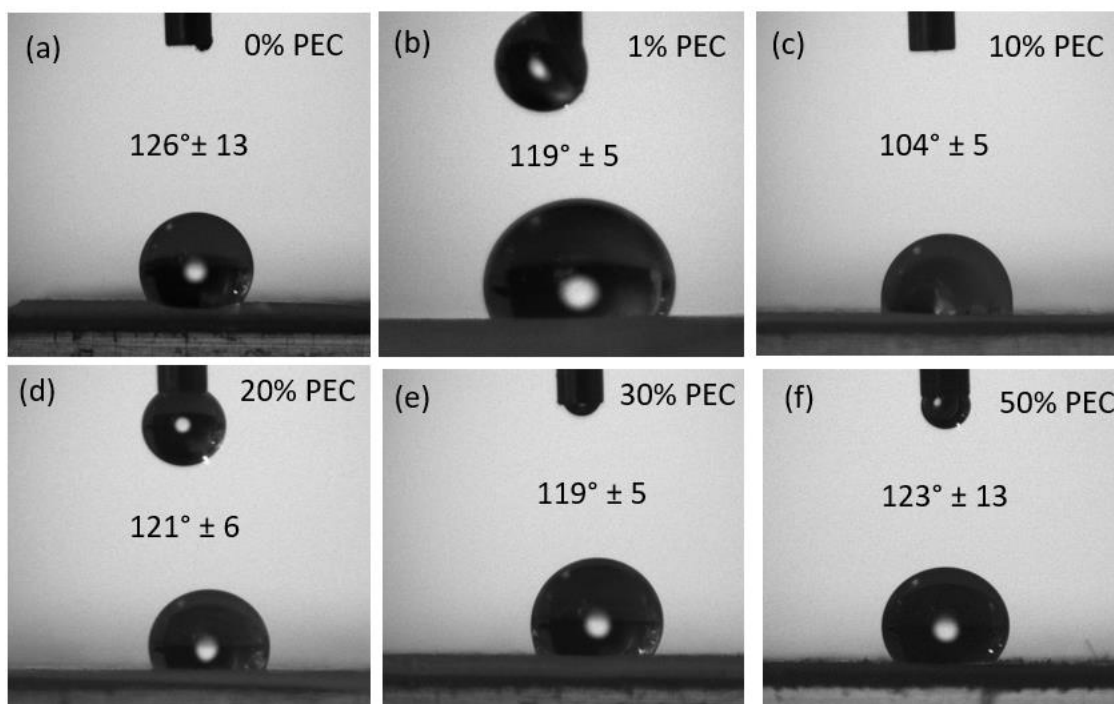


FIGURA 4.12 - Imagens de ângulo de contato para as fibras obtidas variando a quantidade de PEC entre (a) 0%, (b) 1%, (c) 10%, (d) 20%, (e) 30% e (f) 50%.

Foram realizados ensaios de degradação a fim de determinar a influência da pectina nesse processo e conseqüentemente na liberação do fármaco. Na Figura 4.13 está apresentado o gráfico com as variações de massa de cada fibra nos períodos analisados: 15, 30 e 60 dias em tampão fosfato pH 5,5.

Ao analisar os resultados do ensaio de degradação na Figura 4.12, é possível observar que não houve alteração significativa da massa das membranas ao longo de 60 dias. Entretanto, é notável que os materiais não perdem massa de forma linear, pois a porcentagem de massa perdida oscila com o tempo de degradação, como no caso das fibras de 10 e 30%. Esse erro pode estar associado à não homogeneidade das fibras e à capacidade de retenção de água da pectina<sup>155</sup>, resultando em um aumento do peso com relação ao inicial. No trabalho de Giri Dev *et al.*<sup>156</sup> foram fabricadas fibras de PCL puro e com amido. Os autores deixaram as fibras imersas em água por 30 minutos e observaram que as fibras de PCL puro incharam apenas 18,5% enquanto as fibras com amido incharam 248,5%. Os autores atribuíram esse fenômeno à presença de grupos hidroxilas presentes na estrutura do polissacarídeo. Devido às similaridades estruturais entre o amido e a

pectina, o trabalho citado corrobora com o inchaço das membranas que foi observado no ensaio de degradação.

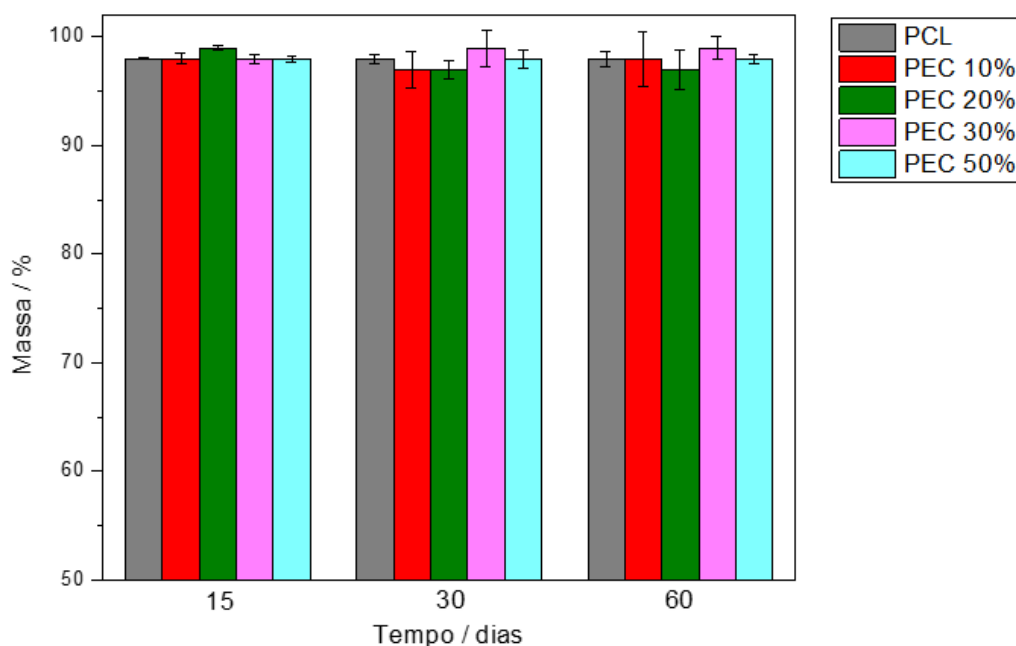


FIGURA 4.13 - Gráfico com a massa final das fibras de 0, 10%, 20%, 30% e 50% de PEC após o ensaio de degradação de 15, 30 e 60 dias.

Tendo em vista que a medida da perda de massa não foi o suficiente para concluir a influência da pectina na degradabilidade das fibras, foi realizada a análise de MEV antes e depois de 60 dias de degradação. Por conta da ambiguidade causada pela retenção de água na pectina durante a pesagem no ensaio de degradação, baseou-se na análise de ângulo de contato para selecionar as fibras que seriam analisadas microscopicamente. Foram escolhidas as membranas com 10% de PEC, por ser a com maior caráter hidrofílico, e a fibra de PCL puro por possuir maior caráter hidrofóbico. Dessa forma, a microscopia desses dois materiais mostraria o maior contraste após o experimento de degradação. As microscopias das fibras antes e depois do ensaio de 60 dias estão apresentadas na Figura 4.14. Após observar diferentes imagens da superfície da manta, selecionou-se aquelas que estão apresentadas na Figura 4.14 como representativas do resultado obtido.

Ao comparar as imagens de microscopia Figura 4.14 (a-b), é possível observar que houve uma pequena degradação da fibra de PCL após os 60 dias de ensaio, pois houve descontinuidade de algumas fibras. Já ao contrapor as Figuras



4.14 (c-d) observa-se uma degradação ainda maior do material com 10% de PEC, tendo em vista que há ainda mais pontos de descontinuidade e afinamento das fibras. Dessa forma, após a visualização do contraste entre a degradação da fibra na presença e na ausência de pectina, pode-se concluir que de fato, a PEC aumenta a degradabilidade do material.

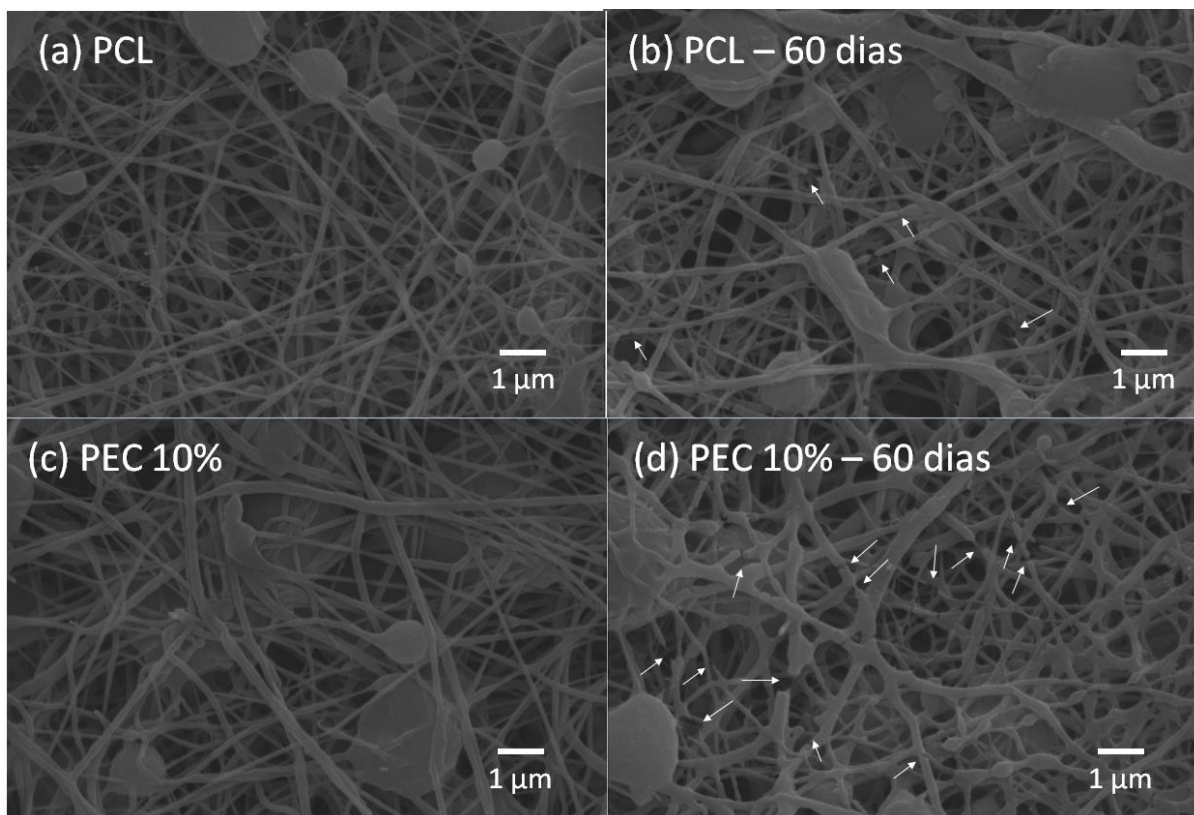


FIGURA 4.14 - Imagens de microscopia das fibras de PCL puro (a) antes e (b) depois de 60 dias de degradação e das fibras com 10% de PEC (c) antes e (d) depois do mesmo tempo de ensaio.

Esse resultado era esperado, considerando que um comportamento similar foi observado no trabalho de Chong *et al.*<sup>142</sup>. Esses pesquisadores avaliaram o aumento da degradação de fibras de PCL e gelatina, sendo observado em 14 dias uma perda de 16% da massa para a blenda e 0% para a fibra de PCL puro. Os efeitos observados nas fibras com pectina não foram tão significativos, o que pode ter sido uma contribuição da baixa compatibilidade entre o PCL e a PEC. Isso pode estar associado a estrutura e higroscopicidade do polissacarídeo, tendo em vista que casos de incompatibilidade parecidos são relatados na literatura entre o amido e polímeros com caráter hidrofóbico<sup>74,75</sup>.

Após os resultados obtidos confirmou-se que soluções com teores de PEC maiores que 10% não incorporam totalmente a pectina na fibra. Dessa forma, tendo em vista que a composição com 10% de PEC foi a com maior incorporação do polissacarídeo e maior caráter hidrofílico, selecionou-se esse material para imobilização da zeólita FAU com 3 h de tratamento hidrotermal para compor o material de reforço na fibra.

### 4.3. Obtenção de fibras compósitas de PCL:PEC:FAU

Com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas do material e obter fibras compósitas de PCL:PEC:FAU, utilizou-se de partículas de zeólita FAU puras obtidas com 3 h de tratamento hidrotermal e fibras poliméricas com 10% de pectina. Para isso, a porcentagem de massa de FAU adicionada à solução polimérica foi calculada com base na massa total de polímero. Dessa forma, baseando-se em trabalhos prévios da literatura<sup>31</sup> voltados para aplicações biomédicas, utilizou-se 2,5% de FAU na preparação das fibras compósitas. As condições de eletrofiação utilizadas foram as selecionadas na seção 4.2, ou seja: 10% de PCL, 10% de PEC, vazão de 1,2 mL h<sup>-1</sup>, 10 cm de distância do coletor e 20 kV de tensão.

Após obtidas as fibras de PCL:PEC:FAU, realizou-se a análise de MEV e EDS para fazer um estudo da forma e composição da membrana. As imagens de microscopia, espectroscopia e a distribuição de espessura estão apresentadas na Figura 4.15.

Ao comparar as imagens em 4.15 referentes ao compósito com a microscopia em 4.7 (a) da fibra de PCL:PEC com 10% de pectina, é possível notar que a adição de partículas de zeólita alterou a morfologia das membranas. No material com zeólita, pode-se observar que a distribuição do diâmetro das fibras se tornou mais heterogênea e o diâmetro médio aumentou, 190 nm, quando comparado com a membrana de PCL:PEC, 150 nm (Figura 4.7 (a)). Houve também a formação de agregados que conferem à membrana um aspecto de filme em algumas regiões. Esse mesmo efeito foi observado no trabalho de Liu e Balkus<sup>157</sup>, no qual foram obtidas fibras de PLA com zeólita. A justificativa utilizada pelos autores aponta para a presença de agregados de zeólita no material, resultando na ocorrência de *beads*. Outro trabalho na literatura observou esse mesmo efeito e utilizou como justificativa

o fato do diâmetro da partícula de zeólita ser maior do que o diâmetro das fibras, o que também causaria o aparecimento de *beads*<sup>158</sup>. É provável que a inserção da zeólita na solução tenha diminuído a interação do PCL com a PEC, já que ambas possuem maior caráter hidrofílico. Por meio da Imagem de MEV-EDS (Figura 4.5 (b)) é possível observar a presença dos elementos Si e Al que compõe a FAU. Esses resultados evidenciam que zeólita faujasita apresenta-se na fibra na forma de aglomerados concentrados, corroborando com o efeito da hidrofiliçidade e consequentemente menor afinidade da FAU com a matriz de PCL. Dessa forma a presença da FAU, pode ter favorecido uma diminuição da capacidade da PEC de formar fibras com PCL, fazendo com que o material obtido tenha o aspecto de filme em algumas regiões.

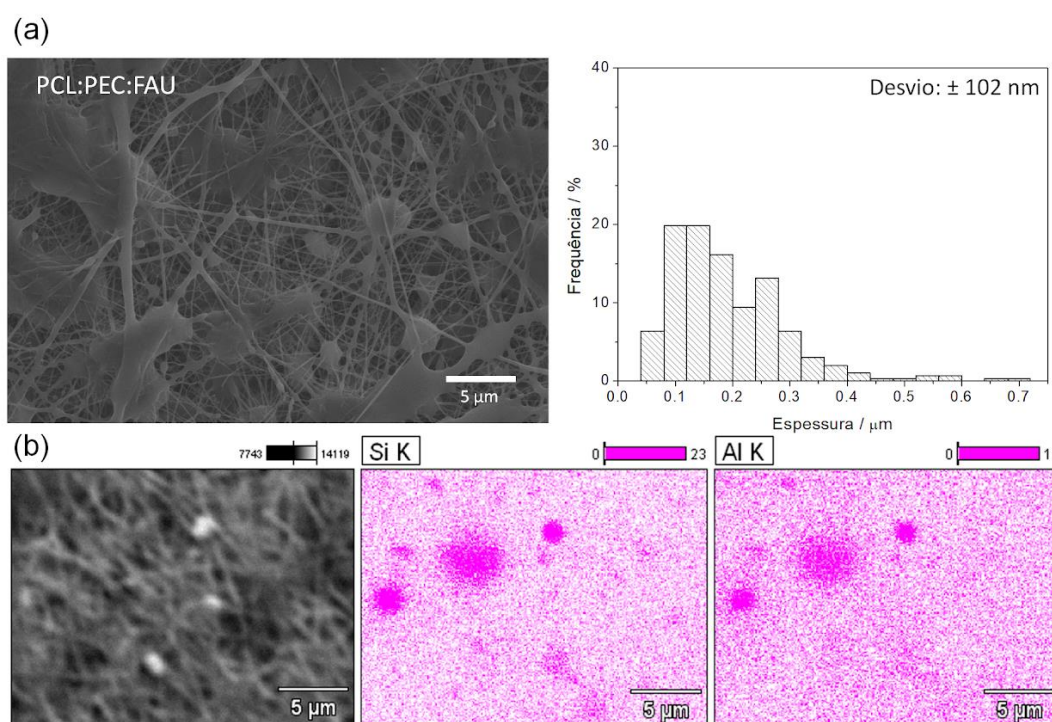


FIGURA 4.15 - Imagens de (a) MEV e distribuição da espessura e (b) EDS das fibras compósitas com 10% de PCL, 10% de PEC e 2,5% de FAU.

Com o intuito de verificar a presença da FAU e de contaminantes no compósito, foi realizada a análise de FTIR do material. O espectro obtido está apresentado na Figura 4.16.

Ao comparar o perfil do espectro da fibra de PCL:PEC:FAU na Figura 4.16 (b), com o espectro da fibra de PCL:PEC com o mesmo teor de pectina em 4.16 (c) e com o da FAU em 4.16 (a), pode-se notar que não houve o surgimento de

bandas pertencentes somente à zeólita. Isso pode estar associado ao fato de que os dois modos vibracionais mais intensos da faujasita, em 970 e 445  $\text{cm}^{-1}$ , são coincidentes com modos vibracionais do PCL. Dessa forma, as bandas principais da FAU podem estar mascaradas pelas bandas do polímero. Outra possível justificativa para esse resultado é a possibilidade da zeólita não estar distribuída homogeneamente na membrana.

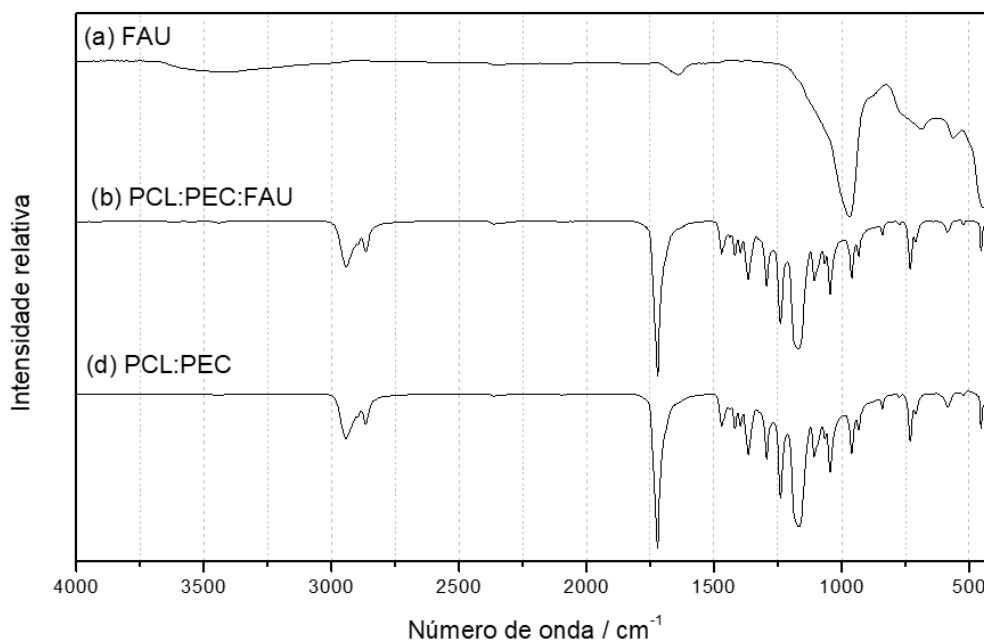


FIGURA 4.16 - Espectro de FTIR da fibra de PCL:PEC:FAU, contendo 2,5% da zeólita.

Para estudar a influência das partículas de zeólita no caráter hidrofílico do material, realizou-se a análise de ângulo de contato. A imagem obtida para a fibra de PCL:PEC:FAU está apresentada na Figura 4.17.



FIGURA 4.17 - Imagem de ângulo de contato da fibra de PCL:PEC:FAU, com 2,5% de zeólita.

Considerando o ângulo da fibra de PCL com 10% de pectina, apresentado na figura 4.12(c), valor de 104°, e o da fibra compósita com mesmo teor de PEC e 2,5% de FAU, mostrado na figura 4.17, valor de 81°, pode-se notar que houve grande influência da zeólita no caráter hidrofílico da fibra. A incorporação de apenas 2,5% de FAU resultou em um aumento considerável da hidrofilicidade do material, pois ao inserir 2,5% de FAU na membrana o ângulo de contato passou de 104° para 81°. O mesmo comportamento foi observado em outros trabalhos na literatura<sup>159,160</sup>. Shen e Lua<sup>160</sup> mediram o ângulo de contato de membranas de fluoreto de polivinilideno e do compósito desse polímero com partículas de zeólita. Esses pesquisadores notaram uma diminuição do ângulo, 90° para 70°, ao inserir a cerâmica na concentração de 32%, e atribuíram esse resultado à hidrofilicidade das partículas. Este aumento da característica hidrofílica está associada à presença de grupos silanóis na superfície do material, permitindo maior interação com moléculas de água<sup>140</sup>.

Com o objetivo de avaliar a influência das propriedades mecânicas nas fibras de PECL e PCL:PEC decorrente da presença da FAU foi feito o ensaio no DMA. Para isto, as fibras de PCL puro, PCL:PEC e de PCL:PEC:FAU foram avaliadas e os perfis do ensaio mecânico estão apresentados na Figura 4.18 enquanto os valores obtidos no ensaio estão presentes na Tabela 4.2.

TABELA 4.2 - Valores de tensão média na fratura e deformação máxima obtidos no ensaio mecânico para as fibras de PCL, PCL:PEC e PCL:PEC:FAU.

Especificação	Tensão média na fratura	Deformação média na fratura
	(MPa)	(%)
PCL	0,46 ± 0,07	7,6 ± 0,5
PCL:PEC	0,63 ± 0,03	6,1 ± 0,5
PCL:PEC:FAU	3,1 ± 0,3	5,5 ± 0,4

Ao analisar os perfis de tensão versus deformação da Figura 4.18, pode-se notar que a inserção de pectina na fibra aumentou a resistência de tensão à fratura, porém tornou o material mais frágil quanto à deformação, considerando que o ele rompe sofrendo uma deformação de 6,1% enquanto a fibra de PCL puro deforma 7,6%. Esse mesmo comportamento foi observado para filmes de PCL com outros polissacarídeos como o amido<sup>161,162</sup>. Esse efeito é esperado tendo em vista que tais compostos não possuem propriedades mecânicas desejadas, como

flexibilidade e resistência à fratura, e são bastante quebradiços<sup>86,161</sup>. O pequeno aumento na tensão à fratura também foi observado no trabalho de Lin *et al.*<sup>92</sup>, no qual foram produzidas fibras de quitosana, acetato de polivinila e pectina. Nesse artigo, os autores associaram o aumento da tensão à fratura ao maior diâmetro das fibras com pectina. Resultado similar ao encontrado neste trabalho, em que houve o aumento da espessura das fibras de PCL quando em conjunto com a PEC.

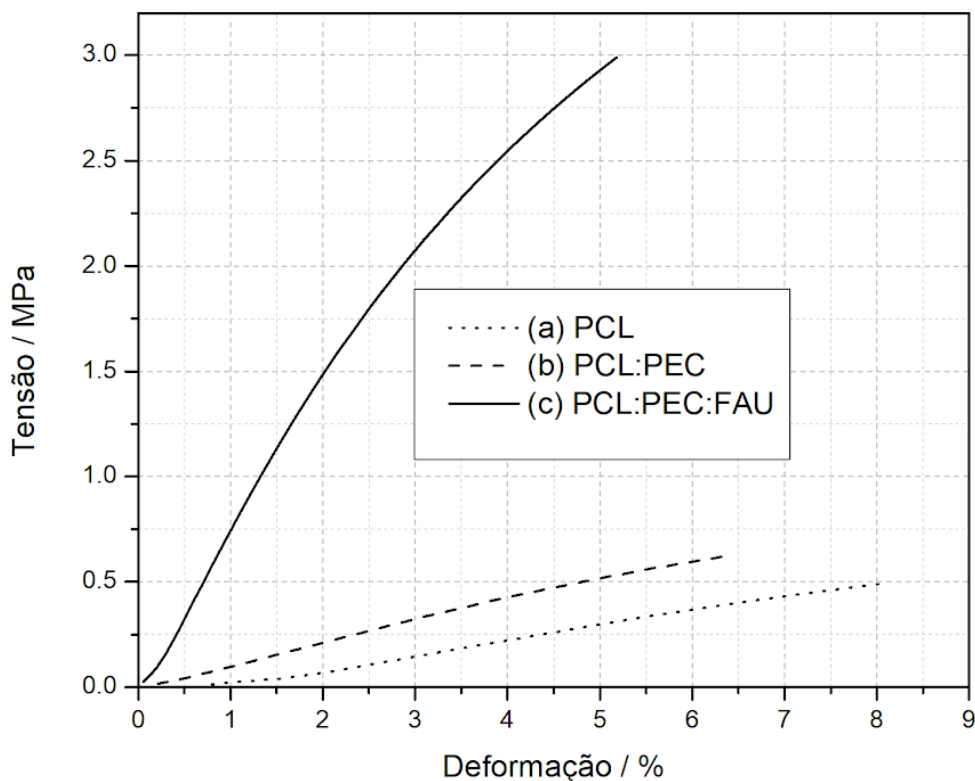


FIGURA 4.18 - Resultados do ensaio mecânico de tração, realizado utilizando o DMA, para as fibras de PCL, PCL:PEC e PCL:PEC:FAU.

Já ao observar o perfil de deformação para a fibra com PCL:PEC:FAU (Figura 4.18) é possível notar que a incorporação da zeólita na fibra aumentou em 5 vezes a tensão necessária para romper o material quando comparado à fibra de PCL:PEC. Este resultado da presença da zeólita em fibras de PCL na resposta mecânica é o esperado de acordo com a literatura<sup>163</sup>. No trabalho de Rusli *et al.*<sup>164</sup> foram comparadas as propriedades mecânicas de fibras de PCL e PCL com zeólita na concentração de 20%. Foi observado que a incorporação da cerâmica diminuiu a flexibilidade da membrana em 20% e manteve a tensão à fratura em cerca de 1,9 MPa. Comparado com este trabalho, a fibra de PCL:PEC:FAU apresentada na Figura 4.18, possui uma tensão de fratura 5 vezes maior que a fibra de PCL puro,

perdendo apenas 30% da capacidade de alongação, ou seja o ganho na tensão compensou a pequena perda de na alongação. Com esse resultado, há a possibilidade de que a presença da pectina na matriz, e a forte interação desse componente com a zeólita, possibilitou maior reforço da fibra. Dessa forma a presença da FAU aumentou a resistência do material à fratura, possibilitando um uso mais seguro como curativos, já que que permite uma maior resistência ao impacto durante o manuseio, promovendo o menor risco de rompimento.

#### 4.4. Imobilização da cloxacilina nas fibras

A fim de avaliar o efeito do fármaco cloxacilina nas fibras, este antibiótico foi inserido nas matrizes de PCL, PCL:PEC e PCL:PEC:FAU, sendo realizada a análise de MEV para estudar as formas das membranas. As imagens de microscopia obtidas após análise estão apresentadas na Figura 4.19.

Ao comparar as imagens de microscopia e distribuição de espessuras das fibras com cloxacilina (Figura 4.19) com as fibras de mesma composição sem cloxacilina nas Figuras 4.7 (a), 4.7 (b) e 4.15 (a) é possível notar que houve uma redução da quantidade de *beads* no material com um pequeno alargamento da distribuição e aumento da espessura média sugerida no trabalho referenciado pode ser empregada nesse caso. Matabola e Moutloali<sup>145</sup> obtiveram resultados parecidos ao aumentar a concentração de NaCl na solução polimérica para obtenção de fibras de fluoreto de polivinilideno. Tais pesquisadores explicam que o aumento da concentração de íons em solução, implica em uma maior carga no jato que sai na ponta da agulha. Por esse jato possuir uma carga mais elevada, ele sofre maior alongamento durante o percurso até o coletor, e conseqüentemente reduz a formação de *beads*. Considerando que o volume de solução que é ejetado da agulha permanece o mesmo, o volume de solução que formaria a *bead* se distribui ao longo do jato, promovendo o aumento da espessura do mesmo, resultando em fibras mais grossas. Tendo em vista que a cloxacilina é composta por uma estrutura orgânica negativa compensada por um cátion  $\text{Na}^+$ , é sugerido a respectiva hipótese do aumento do diâmetro das fibras na presença do fármaco.



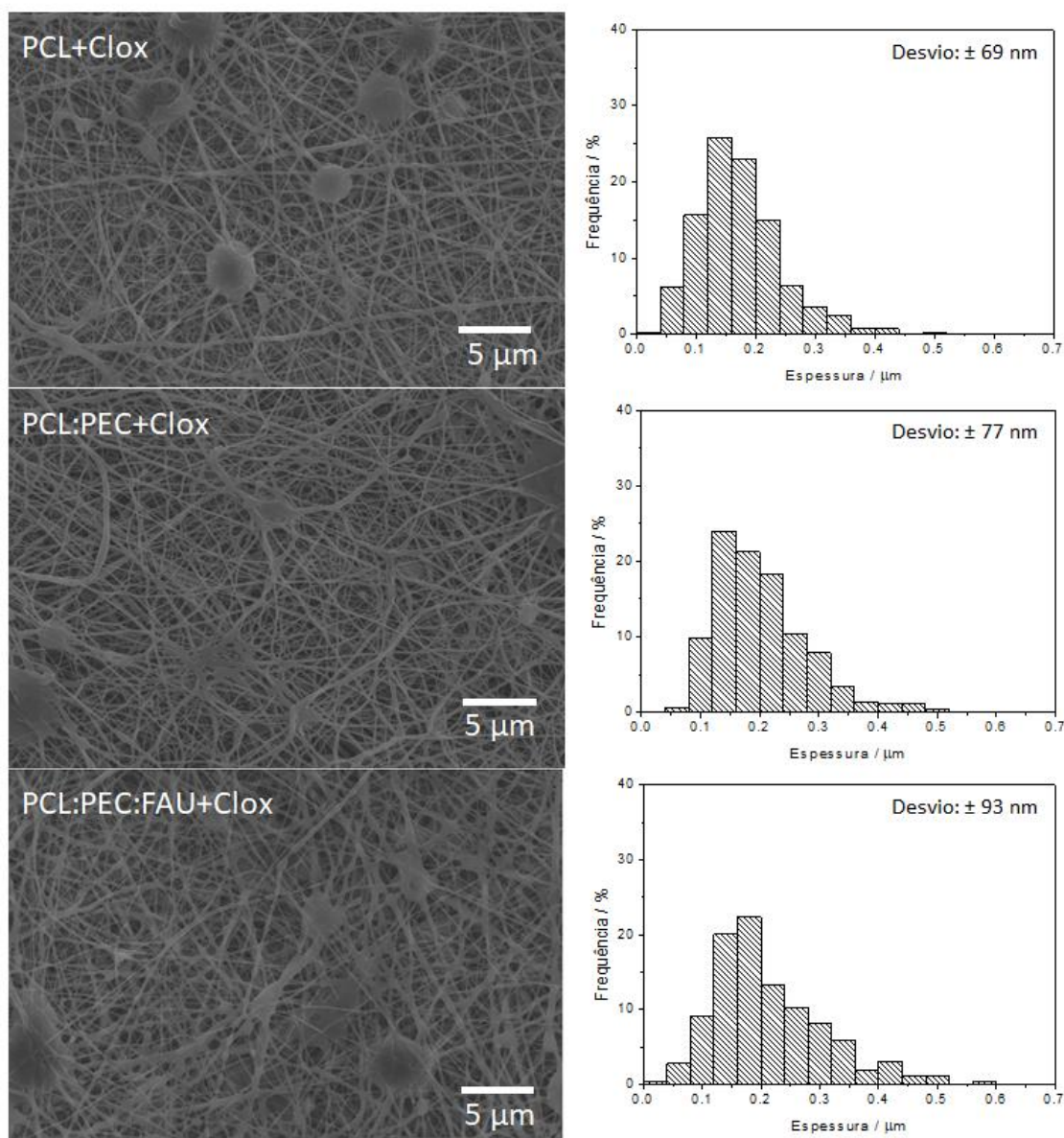


FIGURA 4.19 - Imagens de MEV e distribuição de espessura das fibras com 20% de cloxacilina (a) PCL, (b) PCL:PEC e (c) PCL:PEC:FAU.

Para verificar a presença do fármaco e de possíveis contaminantes, foi realizada análise de FTIR. Os espectros obtidos para as fibras de PCL, PCL:PEC e PCL:PEC:FAU, todas com 20% cloxacilina, estão apresentados na Figura 4.20.

No espectro referente à cloxacilina na Figura 4.20 (a) é possível notar a presença de bandas relativas a estrutura do fármaco. Em  $3519\text{ cm}^{-1}$  há a presença de uma banda referente a moléculas de água, já a banda em  $3370\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao estiramento da ligação N-H. As bandas presentes em  $2968$  e  $2931\text{ cm}^{-1}$  estão associadas às deformações simétricas e assimétricas da ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ . A banda em



1770  $\text{cm}^{-1}$  é relativa à carbonila da beta-lactama, enquanto a carbonila da amida secundária absorve em 1669  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas em 1619 e 750  $\text{cm}^{-1}$  são referentes ao anel aromático, enquanto as bandas em 1604, 1414 e 1338  $\text{cm}^{-1}$  estão associadas com o íon carboxilato. As ligações C=N, N-O, N-C e C-O são representadas pelas bandas em respectivamente 1498  $\text{cm}^{-1}$ , 1294  $\text{cm}^{-1}$ , 1213  $\text{cm}^{-1}$  e 1128  $\text{cm}^{-1}$ . O espectro está de acordo com a literatura<sup>125,165,166</sup>.

Já os espectros disponíveis na Figura 4.20 (b-d) possuem as bandas referentes ao PCL, como já apresentado na Figura 4.9 (a), entretanto não há bandas aparentes da PEC e FAU nos espectros em 4.20 (b-d), assim como já foi discutido nas seções 4.2 e 4.3. Além disso, também é possível notar em todos esses espectros a presença de vibrações características da cloxacilina, como as bandas em 1660, 1600 e 1520  $\text{cm}^{-1}$ . Como são observadas apenas bandas relativas ao PCL e à cloxacilina, é possível inferir que de fato esse antibiótico foi incorporado às fibras e que não há presença de contaminantes.

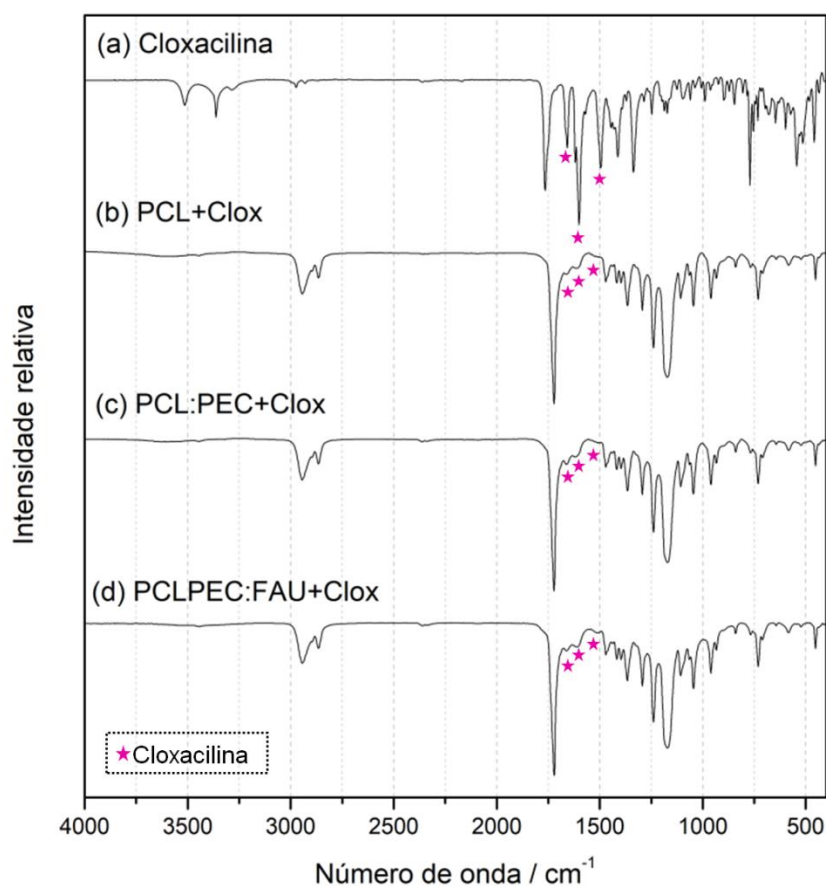


FIGURA 4.20 - Espectro de FTIR da (a) cloxacilina e das fibras com 20% cloxacilina de (b) PCL, (c) PCL:PEC e (d) PCL:PEC:FAU.

Para verificar a atividade antimicrobiana das membranas contendo o fármaco, foi realizado o ensaio bactericida para a bactéria *S. aureus*. Os resultados obtidos nesse ensaio, para as fibras sem e com o fármaco estão apresentados na Figura 4.21. É possível observar a formação de halos de inibição para as fibras na presença do fármaco, indicando a inibição do crescimento da bactéria.

Como esperado, os materiais que não possuem o fármaco não apresentaram atividade bactericida, o que pode ser inferido pela ausência de halo nas Figuras 4.21 (a-c). O ensaio com o antibiótico puro foi realizado apenas com o intuito de mostrar a elevada atividade antimicrobiana desse composto, o que pode ser observado pelo halo de inibição apresentado na Figura 4.21 (d). Com esse resultado, espera-se que as fibras contendo o antibiótico também sejam capazes de inibir o crescimento das bactérias. Assim como previsto, as fibras de PCL e PCL:PEC:FAU contendo cloxacilina apresentaram atividade bactericida, já que os halos de inibição apresentaram diâmetros médios respectivos de 39 e 28 mm, mostrados na Figura 4.21 (e) e (f).

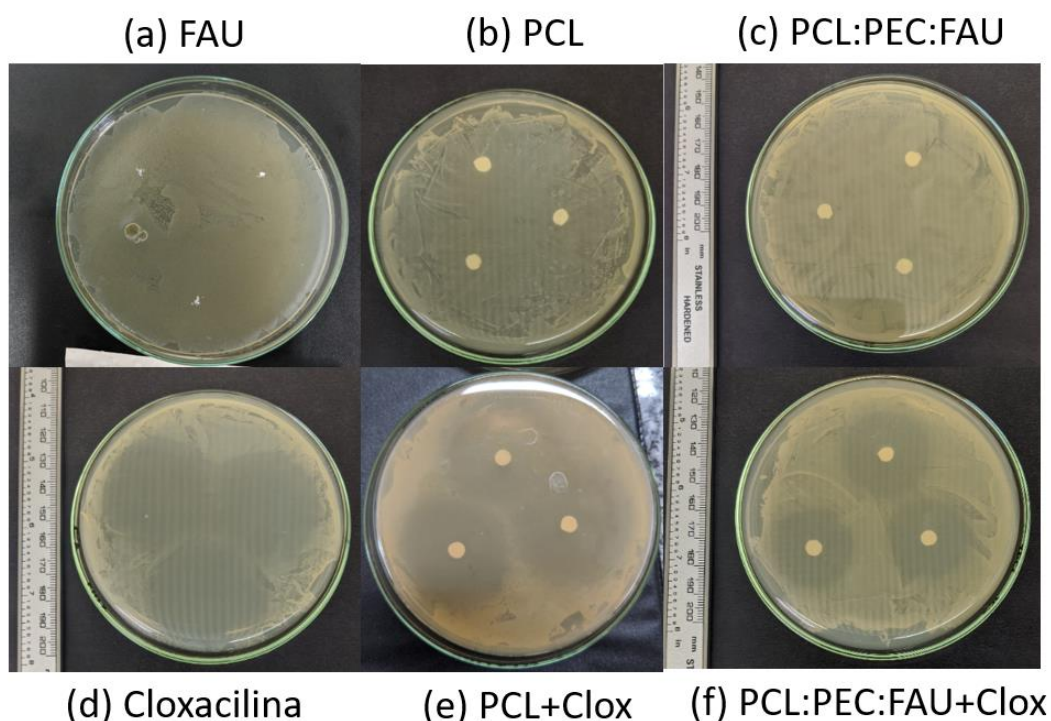


FIGURA 4.21 - Zona de inibição de crescimento da bactéria *S. aureus* no meio contendo (a) FAU, (b) PCL, (c) PCL:PEC:FAU, (d) Cloxacilina, (e) PCL+Clox, (g) PCL:PEC:FAU+Clox.

Tendo em vista que o diâmetro médio do halo de inibição da fibra de PCL+Clox foi de 39 mm, enquanto o da fibra de PCL:PEC:FAU+Clox foi de 28 mm, a

presença da FAU pode ter promovido o maior controle de difusão do fármaco no meio, retendo mais o antibiótico no sistema interno da matriz. Esta correlação é possível, uma vez que o mesmo teor de cloxacilina foi aplicado em ambos sistemas. É possível que neste sistema, a presença de componentes hidrofílicos, PEC e FAU estejam interagindo com o fármaco, auxiliando a prolongar a disponibilização do medicamento no meio. Assim, este sistema poderá, a partir desta hipótese, promover a inibição do crescimento de bactérias de modo mais prolongado com o tempo, o que torna o curativo efetivo por um maior período de tempo. De qualquer forma, as duas fibras se mostraram efetivas no tratamento antimicrobiano, pois ambas são capazes de inibir o crescimento de bactérias *S. aureus*.

Com o objetivo de investigar a atividade bactericida, foi realizada a liberação da fibra de PCL com cloxacilina durante 72 h. Para estudar a presença do fármaco realizou-se a análise de FTIR das fibras antes e após o período de liberação. Os espectros dessas amostras estão disponíveis na Figura 4.22.

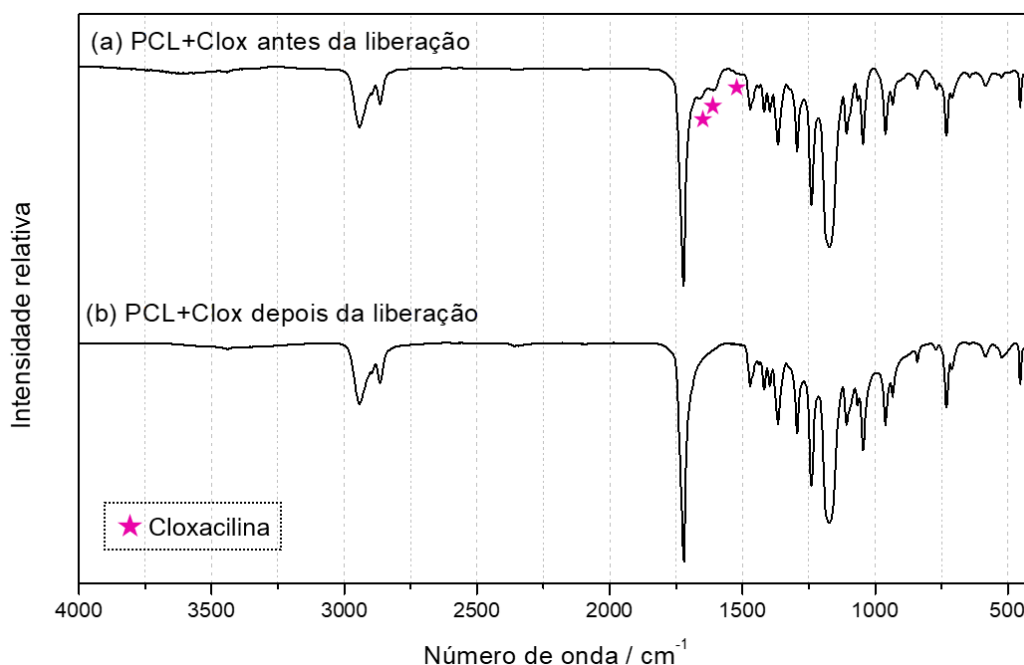


FIGURA 4.22 - Espectros da fibra de PCL com cloxacilina (a) antes e (b) após 72 h de imersão em tampão fosfato pH 5,5 à 36°C e 150 rpm.

Após comparar os espectros de FTIR das Figuras 4.22, pode-se perceber que após a imersão da fibra de PCL com cloxacilina no tampão fosfato (pH 5,5) por 72 h, as bandas referentes aos grupos funcionais da cloxacilina não estão mais presentes de forma significativa, sendo que a área das bandas referentes ao antibiótico sofreu uma redução de 98%. Essa análise indica que após esse período,

praticamente toda a cloxacilina foi liberada da membrana para o meio aquoso. Esse estudo inicial sugere que a atividade bactericida da fibra ocorre por meio da liberação do antibiótico no meio de cultura e conseqüentemente essa molécula inibe o crescimento dos microrganismos na região em que o fármaco se difundiu pelo ágar.

Essa forma de atuação é sugerida por trabalhos da literatura, como no caso do trabalho de Malafatti *et al.*<sup>31</sup>, no qual são desenvolvidas fibras compósitas de ácido polilático e hidróxido duplo lamelar contendo sulfadiazina de prata como agente antimicrobiano. Nesse artigo, os autores verificam a atividade bactericida do material e concluem que a inibição dos microrganismos ocorre por conta da liberação do fármaco para o meio de cultura. No trabalho de Schneider<sup>125</sup> foram obtidas fibras da blenda de poli(butileno adipato-co-tereftalato) com poli(ácido láctico) (Ecovio) acondicionadas com cloxacilina. Nesse estudo, foi avaliada a atividade bactericida do sistema, sendo verificada a capacidade de inibição do crescimento da bactéria *S. aureus*. Também foi avaliada a atividade bactericida da membrana de Ecovio com cloxacilina submetida a 72 h de liberação, a qual não apresentou atividade antimicrobiana. O autor sugeriu que a atividade bactericida do material após a liberação é perdida porque já ocorreu a difusão do fármaco para o meio externo e com isso, não há mais antibiótico para se difundir e inibir o crescimento dos microrganismos. Desta forma, propõe-se a partir dos resultados observados e de acordo com a literatura o seguinte mecanismo sugerido, o qual está apresentado de forma esquemática na Figura 4.23.

Na Figura 4.23 (a) o fármaco presente na membrana de PCL:PEC:FAU, representado como o círculo rosa, encontra-se incorporado à membrana enquanto as bactérias conseguem se proliferar ao redor do material. Já na Figura 4.23 (b) ocorre a liberação e difusão do antibiótico e inibição do crescimento dos microrganismos, como o ocorrido pela fibra de PCL. Representando assim, o mecanismo de ação antimicrobiana da membrana, de acordo com o resultado observado pelo ensaio de halo de inibição, Figura 4.21 (e).

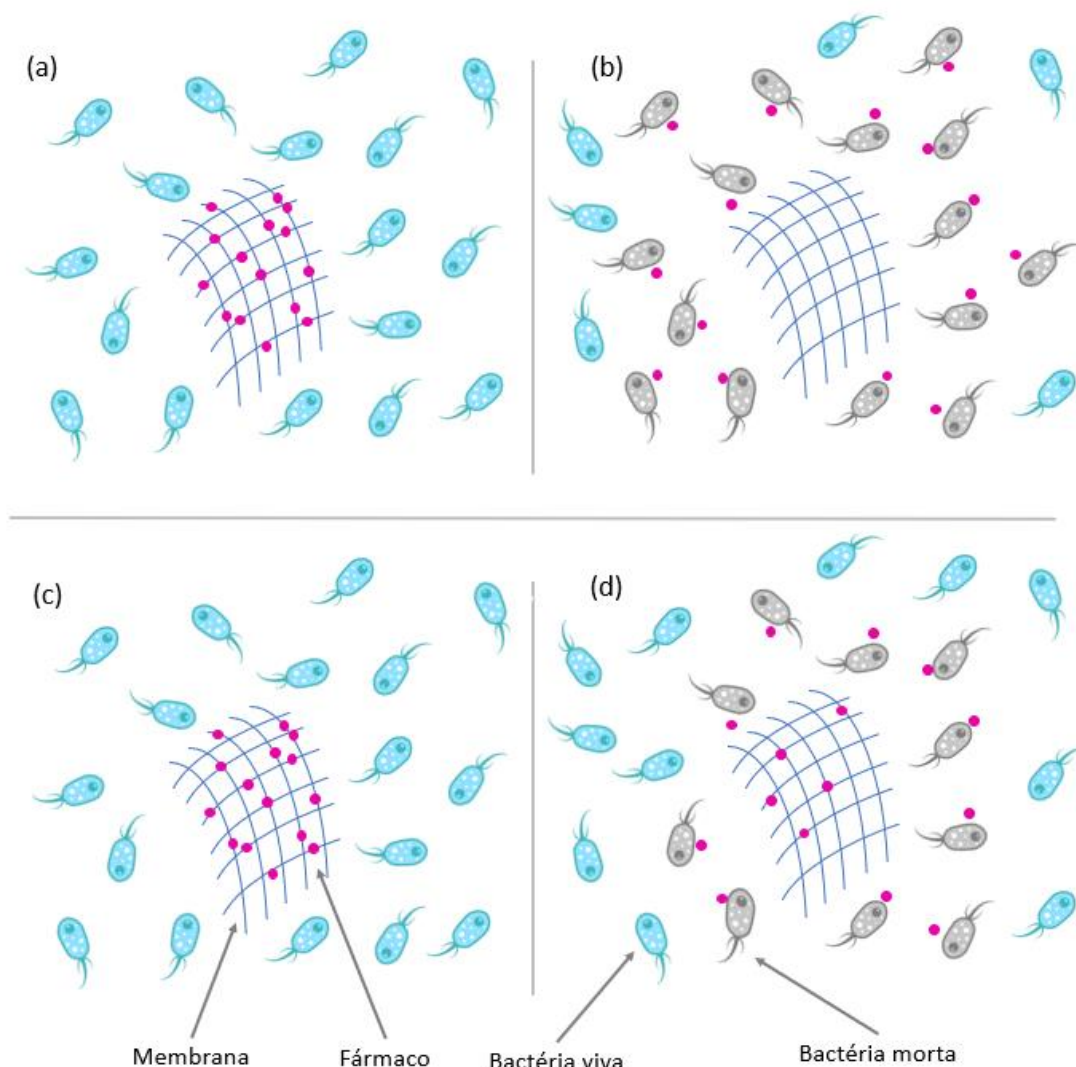


FIGURA 4.23 - Esquema do mecanismo sugerido de atuação da fibra bactericida.

No esquema da Figura 4.23 (c-d) é sugerido um segundo mecanismo para a fibra de PCL:PEC:FAU+Clox, o qual está de acordo com os resultados observados na análise do halo de inibição das membranas compósita e de PCL puro. Nesse mecanismo, ocorre a difusão parcial do fármaco cloxacilina, sendo que parte permanece retida no sistema PCL:PEC:FAU. Essa fração do medicamento é liberada para o meio posteriormente, devido às interações com os componentes hidrofílicos PEC e FAU. Este resultado é esperado tendo em vista que na literatura, blendas contendo um dos componentes hidrofílico promovem uma liberação lenta do fármaco também hidrofílico, devido à maior interação com a matriz. No trabalho de Yu *et al.*<sup>167</sup> foram fabricadas fibras de PCL e polietilenoglicol acondicionadas com ácido salicílico no intuito de avaliar a liberação desse fármaco. Os autores observaram que a fibra de PCL puro liberou mais de 90% do fármaco nas primeiras

4 h, enquanto a fibra com maior teor de polietilenoglicol liberou 30,3% ao longo de 7 dias. Esse resultado corrobora o que foi evidenciado no ensaio de inibição microbiana, assim como serve de embasamento para o mecanismo proposto para ação do fármaco acondicionado nas fibras de PCL:PEC:FAU.

## 5. Conclusão

Nesse trabalho foram desenvolvidas fibras compósitas de PCL:PEC:FAU por eletrofiação, contendo o antibiótico cloxacilina para aplicação como membrana antimicrobiana. A fase pura da zeólita FAU foi obtida por meio da síntese sol-gel com tratamento hidrotérmico de 3h, tamanhos de partículas de 100 a 2000 nm, elevada área superficial específica e estabilidade em dispersões. A análise de TGA mostrou a quantidade máxima de pectina que pode ser inserida na fibra é de 10%, enquanto o ângulo de contato mostrou que esse teor de PEC aumentou o caráter hidrofílico da membrana e acelerou o processo de degradação. A inserção de 2,5% de FAU nas fibras de PCL:PEC resultou em membranas com melhores propriedades de resistência tração. O ensaio bactericida sugeriu que as fibras à base de PCL contendo cloxacilina são capazes de inibir o crescimento da bactéria *S. aureus*, o que torna a fibra com atividade bactericida para este microrganismo. Essa atividade antimicrobiana ocorre por conta da difusão do fármaco do curativo para o meio externo, o que foi corroborado pela ausência do fármaco no FTIR após ensaio de liberação. Dessa forma, os resultados obtidos indicam que o sistema PCL:PEC:FAU na forma de fibras permite o acondicionamento de cloxacilina e um possível maior controle na disponibilização do fármaco decorrente da presença de componentes hidrofílicos na matriz, permitindo características desejáveis para aplicação como membranas antimicrobianas.

## 6. Sugestão para etapas futuras

Como perspectivas de trabalhos futuros está a realização da análise de permeabilidade ao vapor de água (WVP) para estudar a influência da zeólita FAU nas propriedades de barreira da fibra compósita. Tal estudo permitirá verificar se a presença da zeólita permite maior proteção da ferida à entrada de umidade, dificultando a proliferação de microrganismos. Outra projeção de trabalho futuro inclui a otimização dos solventes usados para permitir maior compatibilização dos dois polímeros (PCL e PEC) nas fibras. Dessa forma, poderá ser estudada se essa compatibilização altera significativamente as propriedades térmicas, hidrofóbicas e mecânicas das membranas. Visa-se também o desenvolvimento de um método analítico, tal como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), para quantificação da liberação com o intuito de sugerir uma cinética de difusão do antibiótico a partir da membrana, e assim comparar com o mecanismo proposto. Ensaio de citotoxicidade desse material em células bovinas também se mostram importantes, para verificar se o material desenvolvido apresenta algum tipo de toxicidade para o organismo animal.



## 7. Referências

1. PIB do agronegócio cresce mais que conjunto da economia em 2019 e 2020. [Online Early Access]. <https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2019-11/pib-do-agronegocio-cresce-mais-que-conjunto-da-economia-em-2019-e-2020> (accessed 29 fev. 2020).
2. Mercado de trabalho/CEPEA: Número de trabalhadores no agronegócio cresce no segundo trimestre. Disponível em: < <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/releases/mercado-de-trabalho-cepea-numero-de-trabalhadores-no-agronegocio-cresce-no-segundo-trimestre.aspx> >. Acesso em: 29 fev. 2020
3. PIB do agronegócio brasileiro. [Online Early Access]. <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>.
4. Pecuária de leite espera crescer cerca de 2% em 2020. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/49358451/pecuaria-de-leite-espera-crescer-cerca-de-2-em-2020> >. Acesso em: 29 fev. 2020
5. Produção mundial de carne bovina para 2020 revisada para baixo! Disponível em: < <http://www.farmnews.com.br/mercado/producao-mundial-de-carne-bovina-3/> >. Acesso em: 29 fev. 2020
6. SILVEIRA, J. A. S.; SILVA, N. S.; ALBERNAZ, T. T.; BOMJARDIM, H. A.; REIS, A. S. B.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D. & BARBOSA, J. D. "Estudo epidemiológico e clínico de afecções podais em bovinos de corte manejados extensivamente no sudeste do Pará". *Pesq Vet Bras*, **38** (3): 367, 2018.
7. MARTINI, C. L.; LANGE, C. C.; BRITO, M. A.; RIBEIRO, J. B.; MENDONÇA, L. C. & VAZ, E. K. "Characterisation of penicillin and tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk samples in Minas Gerais, Brazil". *J Dairy Res*, **84** (2): 202, 2017.
8. The Relationship Between Hoof Quality and Recurring Hoof Abscesses. Disponível em: < <https://lifedatalabs.com/blog/2018/06/07/the-relationship-between-hoof-quality-and-recurring-hoof-abscesses/> >. Acesso em: 12 de mar. 2020
9. Doenças de cascos em bovinos: Veja quais são as principais. Disponível em: < <http://www.revistaagropecuaria.com.br/2019/11/07/doencas-de-cascos-em-bovinos-veja-quais-sao-as-principais/> >. Acesso em: 29 fev. 2020
10. FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. Ú. D.; FILHO, E. J. F.; FERREIRA, M. G. & FERREIRA, R. G. In *II Minas Gerais Buiatrics Symposium*; UFMG: Brazil, 2005.
11. AUER, J. A. & STICK, J. A. *Equine Surgery*; 4th ed.; Elsevier/Saunders: Saint Louis, 2012.
12. NETO, F. P. & ZAPPA, V. "Mastite em vacas leiteiras - Revisão de literatura". *R. Cient. Eletr. Med. Vet.*, **IX** (16): 28, 2011.
13. Mastite bovina: Dicas infalíveis para prevenção. Disponível em: < <https://www.cptcursospresenciais.com.br/blog/mastite-bovina-caoa-reducao-da-producao-de-leite/> >. Acesso em: 12 de mar. 2020
14. Mastite é uma das doenças que mais causam prejuízos à pecuária leiteira. Disponível em: < <https://www.cpt.com.br/cursos-bovinos-gadodeleite/artigos/mastite-doencas-causam-maiores-prejuizos-pecuaria-leiteira> >. Acesso em: 29 fev. 2020
15. OLIVEIRA, M. C. D. S. "Doenças Infeciosas em Sistemas Intensivos de Produção de Leite". *Documentos / Embrapa Pecuária Sudeste*, **50** 50, 2006.

16. DEB, R.; KUMAR, A.; CHAKRABORTY, S.; VERMA, A. K.; TIWARI, R.; DHAMA, K.; SINGH, U. & KUMAR, S. "Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review". *Pak J Biol Sci*, **16** (23): 1653, 2013.
17. VIGUIER, C.; ARORA, S.; GILMARTIN, N.; WELBECK, K. & O'KENNEDY, R. "Mastitis detection: current trends and future perspectives". *Trends Biotechnol*, **27** (8): 486, 2009.
18. Carta Leite - Quanto vale uma vaca leiteira?s. Disponível em: < <https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/cartas/42945/carta-leite-quanto-vale-uma-vaca-leiteira#:~:text=Considerando%20o%20cen%C3%A1rio%20%2C%20temos,seu%20oper%C3%ADodo%20total%20de%20lacta%C3%A7%C3%A3o.> >. Acesso em: 11 jun. 2020
19. Qual é o tratamento para doenças de cascos em bovinos? Disponível em: < <https://www.ourofinosaudeanimal.com/perguntas-frequentes/bovinos/qual-e-o-tratamento-para-doencas-de-cascos-em-bov/> >. Acesso em: 12 de mar.2020
20. Tratamento das afecções de cascos em bovinos. Disponível em: < <https://www.ourofinosaudeanimal.com/ourofinoemcampo/categoria/artigos/tratament-o-das-afeccoes-de-cascos-em-bovinos/> >. Acesso em: 12 de mar.2020
21. KADUK, J. A.; GINDHART, A. M. & BLANTON, T. N. "Crystal structure of cloxacillin sodium monohydrate, C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>SNa(H<sub>2</sub>O)". *Powder Diffr*, **34** (4): 374, 2019.
22. GRABSK, A.; DE SOUZA, J.; DE MARCHI, F.; DO PRADO, R.; DOS SANTOS, G.; PORTO, C. & PILAU, E. "Determination of Antibiotics Residues in Milk Using a QuEChERS Method Using Full Factorial Design and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry". *J Braz Chem Soc*, **30** (7): 7, 2019.
23. NAVEEN KUMAR, T.; ADINARAYANA REDDY, P. & VENKATESH, T. V. "Spectro- and Electroanalytical Studies of Interaction of Dicloxacillin Sodium with Copper Acetate". *Mater Today-Proc*, **4** (11): 12255, 2017.
24. Cloxacillin. Disponível em: < <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01147> >. Acesso em: 29 fev. 2020
25. WHO model formulary. Disponível em: < <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16879e/s16879e.pdf> >. Acesso em: 29 fev. 2020
26. VERMA, P.; THAKUR, A. S.; DESHMUKH, K.; JHA, A. K. & VERMA, S. "Routes of drug administration ". *Intern J Pharm Stu Res*, **1** (1): 5, 2010.
27. POSNER, A. S. "CRYSTAL CHEMISTRY OF BONE MINERAL". *Physiol. Rev.*, **49** (4): 760, 1969.
28. Drugs in the water. Disponível em: < [https://www.health.harvard.edu/newsletter\\_article/drugs-in-the-water](https://www.health.harvard.edu/newsletter_article/drugs-in-the-water) >. Acesso em: 29 fev. 2020
29. Composições farmacêuticas e métodos para tratar inflamação em gado e outros animais. Disponível em: < <https://www.escavador.com/patentes/299010/composicoes-farmacaceuticas-e-metodos-para-tratar-inflamacao-em-gado-e> >. Acesso em: 29 fev. 2020
30. MAURO; CAVALLARO & GIAMMONA. "Near-Infrared, Light-Triggered, On-Demand Anti-inflammatory and Antibiotics Release by Graphene Oxide/Electrospun PCL Patch for Wound Healing". *C*, **5** (4), 2019.
31. MALAFATTI, J. O. D.; BERNARDO, M. P.; MOREIRA, F. K. V.; CIOL, H.; INADA, N. M.; MATTOSO, L. H. C. & PARIS, E. C. "Electrospun poly(lactic acid) nanofibers loaded with silver sulfadiazine/[Mg–Al]-layered double hydroxide as an antimicrobial wound dressing". *Polym Advan Technol*, 2020.

32. NEJADDEHBASHI, F.; HASHEMITABAR, M.; BAYATI, V.; MOGHIMIPOUR, E.; MOVAFFAGH, J.; ORAZIZADEH, M. & ABBASPOUR, M. R. "Incorporation of Silver Sulfadiazine into An Electrospun Composite of Polycaprolactone as An Antibacterial Scaffold for Wound Healing in Rats". *Cell J*, **21** (4): 379, 2020.
33. KLEINHENZ, M. D.; GORDEN, P. J.; SMITH, J. S.; SCHLEINING, J. A.; KLEINHENZ, K. E.; WULF, L. L.; SIDHU, P. K.; REA, D. & COETZEE, J. F. "Pharmacokinetics of multiple doses of transdermal flunixin meglumine in adult Holstein dairy cows". *J Vet Pharmacol Ther*, **41** (3): 490, 2018.
34. HAN, H.; ZHU, J.; ZHANG, F. F.; LI, F. X.; WANG, X. L.; YU, J. Y.; QIN, X. H. & WU, D. Q. "Hydrophilic and degradable polyesters based on L-aspartic acid with antibacterial properties for potential application in hernia repair". *Biomater Sci*, **7** (12): 5404, 2019.
35. ALEANIZY, F. S.; ALQAHTANI, F. Y.; SHAZLY, G.; ALFARAJ, R.; ALSARRA, I.; ALSHAMSAN, A. & GAREEB ABDULHADY, H. "Measurement and evaluation of the effects of pH gradients on the antimicrobial and antivirulence activities of chitosan nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*". *Saudi Pharm J*, **26** (1): 79, 2018.
36. OMAR, A.; WRIGHT, J. B.; SCHULTZ, G.; BURRELL, R. & NADWORNYY, P. "Microbial Biofilms and Chronic Wounds". *Microorganisms*, **5** (1), 2017.
37. KADAM, S.; SHAI, S.; SHAHANE, A. & KAUSHIK, K. S. "Recent Advances in Non-Conventional Antimicrobial Approaches for Chronic Wound Biofilms: Have We Found the 'Chink in the Armor'?". *Biomedicines*, **7** (2), 2019.
38. THURLOW, L. R.; HANKE, M. L.; FRITZ, T.; ANGLE, A.; ALDRICH, A.; WILLIAMS, S. H.; ENGBRETSEN, I. L.; BAYLES, K. W.; HORSWILL, A. R. & KIELIAN, T. "Staphylococcus aureus biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo". *J Immunol*, **186** (11): 6585, 2011.
39. HALL, C. W. & MAH, T. F. "Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria". *FEMS Microbiol Rev*, **41** (3): 276, 2017.
40. SINGH, S.; SINGH, S. K.; CHOWDHURY, I. & SINGH, R. "Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents". *Open Microbiol J*, **11** 53, 2017.
41. MIYAUE, S.; SUZUKI, E.; KOMIYAMA, Y.; KONDO, Y.; MORIKAWA, M. & MAEDA, S. "Bacterial Memory of Persisters: Bacterial Persister Cells Can Retain Their Phenotype for Days or Weeks After Withdrawal From Colony-Biofilm Culture". *Front Microbiol*, **9** 1396, 2018.
42. AIYER, K. S.; VIJAYAKUMAR, B. S. & VISHWANATHAN, A. S. "The Enigma of Biofilms". *Curr. Sci.*, **115** (2), 2018.
43. WALTER, J. R. & XU, S. "Therapeutic transdermal drug innovation from 2000 to 2014: current status and outlook". *Drug Discov Today*, **20** (11): 1293, 2015.
44. WEI, J.; HU, J.; LI, M.; CHEN, Y. & CHEN, Y. "Multiple drug-loaded electrospun PLGA/gelatin composite nanofibers encapsulated with mesoporous ZnO nanospheres for potential postsurgical cancer treatment". *RSC Adv.*, **4** (53): 28011, 2014.
45. ALAVARSE, A. C.; DE OLIVEIRA SILVA, F. W.; COLQUE, J. T.; DA SILVA, V. M.; PRIETO, T.; VENANCIO, E. C. & BONVENT, J. J. "Tetracycline hydrochloride-loaded electrospun nanofibers mats based on PVA and chitosan for wound dressing". *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **77** 271, 2017.
46. NANGARE, S.; JADHAV, N.; GHAGARE, P. & MUTHANE, T. "Pharmaceutical applications of electrospinning". *Ann Pharm Fr*, **78** (1): 1, 2020.
47. YUAN, X.; ZHANG, Y.; DONG, C. & SHENG, J. "Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning". *Polym Intern*, **53** (11): 1704, 2004.

48. ELAHI, M. F. & LU, W. "Core-shell Fibers for Biomedical Applications-A Review". *J Bioeng Biomed Sci*, **03** (01), 2013.
49. LIU, H.; YANG, D.; YANG, H.; ZHANG, H.; ZHANG, W.; FANG, Y.; LIN, Z.; TIAN, L.; LIN, B.; YAN, J. & XI, Z. "Comparative study of respiratory tract immune toxicity induced by three sterilisation nanoparticles: silver, zinc oxide and titanium dioxide". *J Hazard Mater*, **248-249** 478, 2013.
50. NEZARATI, R. M.; EIFERT, M. B. & COSGRIFF-HERNANDEZ, E. "Effects of humidity and solution viscosity on electrospun fiber morphology". *Tissue Eng Part C Methods*, **19** (10): 810, 2013.
51. CAO, K.; LIU, Y.; OLKHOV, A. A.; SIRACUSA, V. & IORDANSKII, A. L. "PLLA-PHB fiber membranes obtained by solvent-free electrospinning for short-time drug delivery". *Drug Deliv Transl Res*, **8** (1): 291, 2018.
52. PASSOS, P. C.; MORO, J.; BARCELOS, R. C. S.; DA ROSA, H. Z.; VEY, L. T.; BURGUER, M. E.; MACIEL, R. M.; DANESI, C. C.; EDWARDS, P. C.; BOTTINO, M. C. & KANTORSKI, K. Z. "Nanofibrous antibiotic-eluting matrices: Biocompatibility studies in a rat model". *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **108** (2): 306, 2020.
53. LI, H.; ZHANG, Z.; GODAKANDA, V. U.; CHIU, Y. J.; ANGKAWINITWONG, U.; PATEL, K.; STAPLETON, P. G.; DE SILVA, R. M.; DE SILVA, K. M. N.; ZHU, L. M. & WILLIAMS, G. R. "The effect of collection substrate on electrospun ciprofloxacin-loaded poly(vinylpyrrolidone) and ethyl cellulose nanofibers as potential wound dressing materials". *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **104** 109917, 2019.
54. FARES, M. M.; SHIRZAEI SANI, E.; PORTILLO LARA, R.; OLIVEIRA, R. B.; KHADEMHOSEINI, A. & ANNABI, N. "Interpenetrating network gelatin methacryloyl (GelMA) and pectin-g-PCL hydrogels with tunable properties for tissue engineering". *Biomater Sci*, **6** (11): 2938, 2018.
55. PITT, C. G.; JEFFCOAT, A. R.; ZWEIDINGER, R. A. & SCHINDLER, A. "Sustained drug delivery systems. I. The permeability of poly(epsilon-caprolactone), poly(DL-lactic acid), and their copolymers". *J Biomed Mater Res*, **13** (3): 497, 1979.
56. ELFICK, A. P. D. "Poly(epsilon-caprolactone) as a potential material for a temporary joint spacer". *Biomaterials*, **23** (23): 4463, 2002.
57. MENG, Z. X.; ZENG, Q. T.; SUN, Z. Z.; XU, X. X.; WANG, Y. S.; ZHENG, W. & ZHENG, Y. F. "Immobilizing natural macromolecule on PLGA electrospun nanofiber with surface entrapment and entrapment-graft techniques". *Colloids Surf B Biointerfaces*, **94** 44, 2012.
58. ORIERO, D. A.; GYAN, I. O.; BOLSHAW, B. W.; CHENG, I. F. & ASTON, D. E. "Electrospun biocatalytic hybrid silica-PVA-tyrosinase fiber mats for electrochemical detection of phenols". *Microchem J*, **118** 166, 2015.
59. KOEPESELL, L.; ZHANG, L.; NEUFELD, D.; FONG, H. & DENG, Y. "Electrospun nanofibrous polycaprolactone scaffolds for tissue engineering of annulus fibrosus". *Macromol Biosci*, **11** (3): 391, 2011.
60. HUANG, M. H.; LI, S.; HUTMACHER, D. W.; SCHANTZ, J. T.; VACANTI, C. A.; BRAUD, C. & VERT, M. "Degradation and cell culture studies on block copolymers prepared by ring opening polymerization of epsilon-caprolactone in the presence of poly(ethylene glycol)". *J Biomed Mater Res A*, **69** (3): 417, 2004.
61. BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C. & DUEK, E. A. R. "Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos". *Polimeros*, **15** (1): 13, 2005.
62. REZWAN, K.; CHEN, Q. Z.; BLAKER, J. J. & BOCCACCINI, A. R. "Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering". *Biomaterials*, **27** (18): 3413, 2006.
63. NEMATPOUR, N.; FARHADIAN, N.; EBRAHIMI, K. S.; ARKAN, E.; SEYEDI, F.; KHALEDIAN, S.; SHAHLAEI, M. & MORADI, S. "Sustained release nanofibrous

- composite patch for transdermal antibiotic delivery". *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, **586**, 2020.
64. DELORME, V.; LICHON, L.; MAHINDAD, H.; HUNGER, S.; LAROUÏ, N.; DAURAT, M.; GODEFROY, A.; COUDANE, J.; GARY-BOBO, M. & VAN DEN BERGHE, H. "Reverse poly(epsilon-caprolactone)-g-dextran graft copolymers. Nano-carriers for intracellular uptake of anticancer drugs". *Carbohydr Polym*, **232** 115764, 2020.
65. FAN, H.; ZHANG, P.; ZHOU, L.; MO, F.; JIN, Z.; MA, J.; LIN, R.; LIU, Y. & ZHANG, J. "Naringin-loaded polymeric micelles as buccal tablets: formulation, characterization, in vitro release, cytotoxicity and histopathology studies". *Pharm Dev Technol*, **1**, 2020.
66. CAMPARDELLI, R.; FRANCO, P.; REVERCHON, E. & DE MARCO, I. "Polycaprolactone/nimesulide patches obtained by a one-step supercritical foaming + impregnation process". *J Supercrit Fluid*, **146** 47, 2019.
67. MABROUK, M.; KUMAR, P.; CHOONARA, Y. E.; DU TOIT, L. C. & PILLAY, V. "Artificial, Triple-Layered, Nanomembranous Wound Patch for Potential Diabetic Foot Ulcer Intervention". *Materials (Basel)*, **11** (11), 2018.
68. BAKHSHESHI-RAD, H. R.; ISMAIL, A. F.; AZIZ, M.; AKBARI, M.; HADISI, Z.; DAROONPARVAR, M. & CHEN, X. B. "Antibacterial activity and in vivo wound healing evaluation of polycaprolactone-gelatin methacryloyl-cephalexin electrospun nanofibrous". *Mater Lett*, **256**, 2019.
69. CHO, H. S.; MOON, H. S.; KIM, M.; NAM, K. & KIM, J. Y. "Biodegradability and biodegradation rate of poly(caprolactone)-starch blend and poly(butylene succinate) biodegradable polymer under aerobic and anaerobic environment". *Waste Manag*, **31** (3): 475, 2011.
70. ROSA, D. S.; LOPES, D. R. & CALIL, M. R. "Thermal properties and enzymatic degradation of blends of poly(epsilon-caprolactone) with starches". *Polym Test*, **24** (6): 756, 2005.
71. GUPTA, D.; VENUGOPAL, J.; PRABHAKARAN, M. P.; DEV, V. R.; LOW, S.; CHOON, A. T. & RAMAKRISHNA, S. "Aligned and random nanofibrous substrate for the in vitro culture of Schwann cells for neural tissue engineering". *Acta Biomater*, **5** (7): 2560, 2009.
72. HAMZAH, M. S. A.; AUSTAD, A.; RAZAK, S. I. A. & NAYAN, N. H. M. "Tensile and wettability properties of electrospun polycaprolactone coated with pectin/polyaniline composite for drug delivery application". *Int J Struct Integr*, **10** (5): 704, 2019.
73. GUTIÉRREZ, T. J. & ALVAREZ, V. A. "Films Made by Blending Poly(epsilon-Caprolactone) with Starch and Flour from Sagu Rhizome Grown at the Venezuelan Amazons". *J Polym Environ*, **25** (3): 701, 2016.
74. GUARÁS, M. P.; ALVAREZ, V. A. & LUDUEÑA, L. N. "Biodegradable nanocomposites based on starch/polycaprolactone/compatibilizer ternary blends reinforced with natural and organo-modified montmorillonite". *J Appl Polym Sci*, **133** (44), 2016.
75. CARMONA, V. B.; CORRÊA, A. C.; MARCONCINI, J. M. & MATTOSO, L. H. C. "Properties of a Biodegradable Ternary Blend of Thermoplastic Starch (TPS), Poly(epsilon-Caprolactone) (PCL) and Poly(Lactic Acid) (PLA)". *J Polym Environ*, **23** (1): 83, 2014.
76. CAI, J.; XIONG, Z.; ZHOU, M.; TAN, J.; ZENG, F.; MEIHUMA; LIN, S. & XIONG, H. "Thermal properties and crystallization behavior of thermoplastic starch/poly(varepsilon-caprolactone) composites". *Carbohydr Polym*, **102** 746, 2014.
77. ALBERTSSON, A.-C. "Degradable Polymers". *J Macromol Sci A*, **30** (9-10): 757, 1993.

78. WORK, W. J.; HORIE, K.; HESS, M. & STEPTO, R. F. T. "Definition of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric materials (IUPAC Recommendations 2004)". *Pure Appl Chem*, **76** (11): 1985, 2004.
79. KERTESZ, Z. I. "The Pectic Substances. By Z. I. Kertesz. Interscience Publishers, Inc., New York, 1951. xvi + 628 pp. 16 x 23.8 cm. Price \$13.50". *J Am Pharm Assoc Sci Ed*, **41** (1), 1952.
80. THAKUR, B. R.; SINGH, R. K. & HANDA, A. K. "Chemistry and uses of pectin--a review". *Crit Rev Food Sci Nutr*, **37** (1): 47, 1997.
81. SZYMANSKA-CHARGOT, M. & ZDUNEK, A. "Use of FT-IR Spectra and PCA to the Bulk Characterization of Cell Wall Residues of Fruits and Vegetables Along a Fraction Process". *Food Biophys*, **8** (1): 29, 2013.
82. SANTOS, J. D.; ESPELETA, A. F.; BRANCO, A. & DE ASSIS, S. A. "Aqueous extraction of pectin from sisal waste". *Carbohydr Polym*, **92** (2): 1997, 2013.
83. JOEL, J. M.; BARMINAS, J. T.; RIKI, E. Y.; YELWA, J. M. & EDEH, F. "Extraction and Characterization of Hydrocolloid Pectin from Goron Tula (*Azanza garckeana*) fruit". *World Sci News*, **101** 157, 2018.
84. MAY, C. D. "Industrial pectins: Sources, production and applications". *Carbohydr Polym*, **12** (1): 79, 1990.
85. NELSON, D. L. & COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*; 4 ed.; Macmillan: New York, 2008.
86. AKINALAN BALIK, B.; ARGIN, S.; LAGARON, J. M. & TORRES-GINER, S. "Preparation and Characterization of Electrospun Pectin-Based Films and Their Application in Sustainable Aroma Barrier Multilayer Packaging". *Appl Sci*, **9** (23), 2019.
87. LIU, Y.; SUN, Y.; DING, G.; GENG, Q.; ZHU, J.; GUO, M.; DUAN, Y.; WANG, B. & CAO, Y. "Synthesis, characterization, and application of microbe-triggered controlled-release kasugamycin-pectin conjugate". *J Agric Food Chem*, **63** (17): 4263, 2015.
88. ALMEIDA, E. A.; FACCHI, S. P.; MARTINS, A. F.; NOCCHI, S.; SCHUQUEL, I. T.; NAKAMURA, C. V.; RUBIRA, A. F. & MUNIZ, E. C. "Synthesis and characterization of pectin derivative with antitumor property against Caco-2 colon cancer cells". *Carbohydr Polym*, **115** 139, 2015.
89. KASAPIS, S. "Viscoelasticity of oxidized starch/low methoxy pectin mixtures in the presence of glucose syrup". *Int J Food Sci Technol*, **37** (4): 403, 2002.
90. WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P. & MIKKELSEN, J. D. "Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel". *Trends Food Sci Technol*, **17** (3): 97, 2006.
91. FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R.; KONSTANCE, R. P. & ONWULATA, C. I. "Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol". *Carbohydr Polym*, **41** (4): 317, 2000.
92. LIN, H. Y.; CHEN, H. H.; CHANG, S. H. & NI, T. S. "Pectin-chitosan-PVA nanofibrous scaffold made by electrospinning and its potential use as a skin tissue scaffold". *J Biomater Sci Polym Ed*, **24** (4): 470, 2013.
93. YE, X.; ZHAN, Y.; LI, T.; SHI, X.; DENG, H. & DU, Y. "Pectin based composite nanofabrics incorporated with layered silicate and their cytotoxicity". *Int J Biol Macromol*, **93** (Pt A): 123, 2016.
94. FURLAN, R.; ROSADO, J. A. M.; RODRIGUEZ, G. G.; FACHINI, E. R.; DA SILVA, A. N. R. & DA SILVA, M. L. P. "Formation and Characterization of Oriented Micro- and Nanofibers Containing Poly (ethylene oxide) and Pectin". *J Electrochem Soc*, **159** (3): K66, 2012.

95. CUI, S.; YAO, B.; SUN, X.; HU, J.; ZHOU, Y. & LIU, Y. "Reducing the content of carrier polymer in pectin nanofibers by electrospinning at low loading followed with selective washing". *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **59** 885, 2016.
96. LIU, S.-C.; LI, R.; TOMASULA, P. M.; SOUSA, A. M. M. & LIU, L. "Electrospun Food-Grade Ultrafine Fibers from Pectin and Pullulan Blends". *Food Sci Nutr*, **07** (07): 636, 2016.
97. ALBORZI, S.; LIM, L. T. & KAKUDA, Y. "Electrospinning of sodium alginate-pectin ultrafine fibers". *J Food Sci*, **75** (1): C100, 2010.
98. YU, W.-X.; WANG, Z.-W.; HU, C.-Y. & WANG, L. "Properties of low methoxyl pectin-carboxymethyl cellulose based on montmorillonite nanocomposite films". *Int J Food Sci Tech*, **49** (12): 2592, 2014.
99. MISRA, S. K.; VALAPPIL, S. P.; ROY, I. & BOCCACCINI, A. R. "Polyhydroxyalkanoate (PHA)/inorganic phase composites for tissue engineering applications". *Biomacromolecules*, **7** (8): 2249, 2006.
100. DOYLE, C.; TANNER, E. T. & BONFIELD, W. "In vitro and in vivo evaluation of polyhydroxybutyrate and of polyhydroxybutyrate reinforced with hydroxyapatite". *Biomaterials*, **12** (9): 841, 1991.
101. TERZOPOULOU, Z.; BACIU, D.; GOUNARI, E.; STERIOTIS, T.; CHARALAMBOPOULOU, G.; TZETZIS, D. & BIKIARIS, D. "Composite Membranes of Poly(epsilon-caprolactone) with Bisphosphonate-Loaded Bioactive Glasses for Potential Bone Tissue Engineering Applications". *Molecules*, **24** (17), 2019.
102. FU, S.-Y.; FENG, X.-Q.; LAUKE, B. & MAI, Y.-W. "Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate-polymer composites". *Compos B Eng*, **39** (6): 933, 2008.
103. CHAUBEY, A.; KONDA GOKULDOSS, P.; WANG, Z.; SCUDINO, S.; MUKHOPADHYAY, N. & ECKERT, J. "Effect of Particle Size on Microstructure and Mechanical Properties of Al-Based Composite Reinforced with 10 Vol.% Mechanically Alloyed Mg-7.4%Al Particles". *Technologies*, **4** (4), 2016.
104. YUZAY, I. E.; AURAS, R. & SELKE, S. "Poly(lactic acid) and zeolite composites prepared by melt processing: Morphological and physical-mechanical properties". *J Appl Polym Sci*, **115** (4): 2262, 2010.
105. THIPMANEE, R. & SANE, A. "Effect of zeolite 5A on compatibility and properties of linear low-density polyethylene/thermoplastic starch blend". *J Appl Polym Sci*, **126** (S1): E252, 2012.
106. CARVALHO, T. E. M. D. Adsorção de corantes aniônicos de solução aquosa em cinza leve de carvão e zeólita de cinza leve de carvão, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2010. Dissertação de mestrado, 107p.
107. OLIVEIRA, T. G.; MACHADO, S. W. M.; SANTOS, S. C. G.; SOUZA, M. J. B. & PEDROSA, A. M. G. "Adsorption of CO<sub>2</sub> on Micro and Mesoporous Molecular Sieves". *Quim Nova*, **37** (4), 2014.
108. KHOSRAVI, M.; MURTHY, V. & I, D. R. M. "The Exchange Mechanism of Alkaline and Alkaline-Earth Ions in Zeolite N". *Molecules*, **24** (20), 2019.
109. LEE, H.; SONG, M. Y.; RYU, S. & PARK, Y.-K. "Acetaldehyde oxidation under high humidity using a catalytic non-thermal plasma system over Mn-loaded Y zeolites". *Mater Lett*, **262**, 2020.
110. JIANG, N.; SHANG, R.; HEIJMAN, S. G. J. & RIETVELD, L. C. "Adsorption of triclosan, trichlorophenol and phenol by high-silica zeolites: Adsorption efficiencies and mechanisms". *Sep Purif Technol*, **235**, 2020.
111. BISWAS, J.; KIM, H.; YIM, C. S.; CHO, J.; KIM, G. J.; CHOE, S. & LEE, D. S. "Structural effects on the tensile and morphological properties of zeolite-filled polypropylene derivative composites". *Macromol Res*, **12** (5): 443, 2004.

112. Zeolites. Disponível em: < <https://www.911metallurgist.com/zeolites/> >. Acesso em: 11 jun. 2020
113. VICENTE, J. G. P. Síntese e propriedades da zeólita faujasita nanométrica aplicada a catálise básica, Departamento de Engenharia Química, 2015. Dissertação de Mestrado, 138p.
114. GUINET, M.; RIBEIRO, F. R. A. & VALE, H. Zeólitos: Um Nanomundo ao Serviço da Catálise Lisboa, 2004.
115. LUNA, F. J. & SCHUCHARDT, U. "Modificação de zeólitas para uso em catálise". Quim Nova, **24** (6): 885, 2001.
116. MASCARENHAS, A. J. S.; OLIVEIRA, E. C. & PASTORE, H. O. "Peneiras moleculares: Selecionando as moléculas por seu tamanho". QNESC, **Edição Especial** (25): 10, 2001.
117. NINAN, N.; MUTHIAH, M.; PARK, I. K.; ELAIN, A.; WONG, T. W.; THOMAS, S. & GROHENS, Y. "In Vitro and In Vivo Evaluation of Pectin/Copper Exchanged Faujasite Composite Membranes". J Biomed Nanotechnol, **11** (9): 1550, 2015.
118. AMORIM, R.; VILAÇA, N.; MARTINHO, O.; REIS, R. M.; SARDO, M.; ROCHA, J.; FONSECA, A. M.; BALTAZAR, F. & NEVES, I. C. "Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound As Drug Delivery Systems". J Phys Chem C, **116** (48): 25642, 2012.
119. BETSIOU, M.; BANTSIS, G.; ZOI, I. & SIKALIDIS, C. "Anticancer drugs loading into and in vitro release from faujasite". Clay Miner, **46** (4): 613, 2018.
120. ALGIERI, C.; DRIOLI, E. & DONATO, L. "Development of mixed matrix membranes for controlled release of ibuprofen". J Appl Polym Sci, **128** (1): 754, 2013.
121. BELKHAIR, S.; KINNINMONTH, M.; FISHER, L.; GASHAROVA, B.; LIAUW, C. M.; VERRAN, J.; MIHAILOVA, B. & TOSHEVA, L. "Silver zeolite-loaded silicone elastomers: a multidisciplinary approach to synthesis and antimicrobial assessment". RSC Advances, **5** (51): 40932, 2015.
122. REINOSO, D.; ADROVER, M. & PEDERNERA, M. "Green synthesis of nanocrystalline faujasite zeolite". Ultrason Sonochem, **42** 303, 2018.
123. KATSOGIANNIS, K. A. G.; VLADISAVLJEVIĆ, G. T. & GEORGIADOU, S. "Porous electrospun polycaprolactone (PCL) fibres by phase separation". Eur Polym J, **69** 284, 2015.
124. RAHIMI, R.; OCHOA, M.; PARUPUDI, T.; ZHAO, X.; YAZDI, I. K.; DOKMECI, M. R.; TAMAYOL, A.; KHADEMOSSEINI, A. & ZIAIE, B. "A low-cost flexible pH sensor array for wound assessment". Sens Actuat B-Chem, **229** 609, 2016.
125. SCHNEIDER, R. Estudo do processo de eletrofiação de micro/nanofibras de polímeros biodegradáveis para liberação do antibiótico cloxacilina, Departamento de Química, 2018. Dissertação de Mestrado, 72p.
126. AZIZI, S. N.; ALAVI DAGHIGH, A. & ABRISHAMKAR, M. "Phase Transformation of Zeolite P to Y and Analcime Zeolites due to Changing the Time and Temperature". J Spectrosc (Hindawi), **2013** 1, 2013.
127. CUNDY, C. S. & COX, P. A. "The hydrothermal synthesis of zeolites: Precursors, intermediates and reaction mechanism". Microporous Mesoporous Mater, **82** (1-2): 1, 2005.
128. MASCARENHAS, B. C.; TAVARES, F. A. & PARIS, E. C. "Functionalized faujasite zeolite immobilized on poly(lactic acid) composite fibers to remove dyes from aqueous media". Journal of Applied Polymer Science, **137** (15), 2019.
129. OSADA, M.; SASAKI, I.; NISHIOKA, M.; SADAKATA, M. & OKUBO, T. "Synthesis of a faujasite thin layer and its application for SO<sub>2</sub> sensing at elevated temperatures". Microporous Mesoporous Mater, **23** (5-6): 287, 1998.



130. MALDONADO, M.; OLEKSIK, M. D.; CHINTA, S. & RIMER, J. D. "Controlling crystal polymorphism in organic-free synthesis of Na-zeolites". *J Am Chem Soc*, **135** (7): 2641, 2013.
131. KRÓL, M.; MOZGAWA, W.; JASTRZĘBSKI, W. & BARCZYK, K. "Application of IR spectra in the studies of zeolites from D4R and D6R structural groups". *Microporous Mesoporous Mater*, **156** 181, 2012.
132. MOZGAWA, W.; KRÓL, M. & BARCZYK, K. "FT-IR studies of zeolites from different structural groups". *CHEMIK*, **65** (7): 667, 2011.
133. HU, Y.; LIU, C.; ZHANG, Y.; REN, N. & TANG, Y. "Microwave-assisted hydrothermal synthesis of nanozeolites with controllable size". *Microporous Mesoporous Mater*, **119** (1-3): 306, 2009.
134. LIU, Z.; SHI, C.; WU, D.; HE, S. & REN, B. "A Simple Method of Preparation of High Silica Zeolite Y and Its Performance in the Catalytic Cracking of Cumene". *J Nanotechnol*, **2016** 1, 2016.
135. GARCÍA, A. L.; LÓPEZ, C. M.; GARCÍA, L. V.; RINCON DE GOLDWASSER, M. & CASANOVA, J. D. C. "Improvements in the synthesis of zeolites with low Si/Al ratio from Venezuelan sodium silicate for an environmentally friendly process". *Ing Invest*, **36** (1): 62, 2016.
136. MOTSKIN, M.; WRIGHT, D. M.; MULLER, K.; KYLE, N.; GARD, T. G.; PORTER, A. E. & SKEPPER, J. N. "Hydroxyapatite nano and microparticles: Correlation of particle properties with cytotoxicity and biostability". *Biomaterials*, **30** (19): 3307, 2009.
137. LI, X.-B.; YE, J.-J.; LIU, Z.-H.; QIU, Y.-Q.; LI, L.-J.; MAO, S.; WANG, X.-C. & ZHANG, Q. "Microwave digestion and alkali fusion assisted hydrothermal synthesis of zeolite from coal fly ash for enhanced adsorption of Cd(II) in aqueous solution". *J Cent South Univ*, **25** (1): 9, 2018.
138. VINOTH KUMAR, R.; GANESH MOORTHY, I. & PUGAZHENTHI, G. "Separation of BSA through FAU-type zeolite ceramic composite membrane formed on tubular ceramic support: Optimization of process parameters by hybrid response surface methodology and biobjective genetic algorithm". *Prep Biochem Biotechnol*, **47** (7): 687, 2017.
139. BASUMATARY, A. K.; ADHIKARI, P. P.; GHOSHAL, A. K. & PUGAZHENTHI, G. "Fabrication and performance evaluation of Faujasite zeolite composite ultrafiltration membrane by separation of trivalent ions from aqueous solution". *Environ Prog Sustain Energy*, **35** (4): 1047, 2016.
140. CHAVES, M. R. D. M. *Preparação de sílica organofuncionalizada a partir de casca de arroz, com capacidade adsorvente de íons metálicos*, Engenharia Química, 2008. Tese de Doutorado, 119p.
141. SARABI-MIANEJI, S.; SCOTT, J. & PAGÉ, D. J. Y. S. "Impact of electrospinning process parameters on the measured current and fiber diameter". *Polym Eng Sci*, **55** (11): 2576, 2015.
142. CHONG, L. H.; LIM, M. M. & SULTANA, N. "Fabrication and Evaluation of Polycaprolactone/Gelatin-Based Electrospun Nanofibers with Antibacterial Properties". *J Nanomater*, **2015** 1, 2015.
143. KATSOGIANNIS, K. A. G.; VLADISAVLJEVIĆ, G. T. & GEORGIADOU, S. "Porous electrospun polycaprolactone fibers: Effect of process parameters". *J Polym Sci B Polym Phys*, **54** (18): 1878, 2016.
144. CHOWDHURY, M. & STYLIOS, G. "Effect of Experimental Parameters on the Morphology of Electrospun Nylon 6 fibres". *J Basic Appl Sci*, **10** (06): 70, 2010.

145. MATABOLA, K. P. & MOUTLOALI, R. M. "The influence of electrospinning parameters on the morphology and diameter of poly(vinylidene fluoride) nanofibers-effect of sodium chloride". *J Mater Sci*, **48** (16): 5475, 2013.
146. KOMUR, B.; BAYRAK, F.; EKREN, N.; EROGLU, M. S.; OKTAR, F. N.; SINIRLIOGLU, Z. A.; YUCEL, S.; GULER, O. & GUNDUZ, O. "Starch/PCL composite nanofibers by co-axial electrospinning technique for biomedical applications". *Biomed Eng Online*, **16** (40): 13, 2017.
147. PHILLIPSON, K.; HAY, J. N. & JENKINS, M. J. "Thermal analysis FTIR spectroscopy of poly( $\epsilon$ -caprolactone)". *Thermochimica Acta*, **595** 74, 2014.
148. ARAGON, J.; COSTA, C.; COELHO, I.; MENDOZA, G.; AGUIAR-RICARDO, A. & IRUSTA, S. "Electrospun asymmetric membranes for wound dressing applications". *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **103** 109822, 2019.
149. ABDERRAHIM, B.; ABDERRAHMAN, E.; MOHAMED, A.; FATIMA, T.; ABDESSELAM, T. & KRIM, O. "Kinetic Thermal Degradation of Cellulose, Polybutylene Succinate and a Green Composite: Comparative Study". *World J Environ Eng*, **3** (4): 95, 2015.
150. PERSENAIRE, O.; ALEXANDRE, M.; DEGEE, P. & DUBOIS, P. "Mechanisms and kinetics of thermal degradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)". *Biomacromolecules*, **2** (1): 288, 2001.
151. WANG, G.; YANG, S.; WEI, Z.; DONG, X.; WANG, H. & QI, M. "Facile preparation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@graphene oxide superparamagnetic nanocomposites". *Polym Bull*, **70** (8): 2359, 2013.
152. SCIENA, C. R. Acondicionamento de hidroxiapatita nanoparticulada em sachês biodegradáveis para aplicação como fertilizante mineral, Departamento de Química, 2015. Dissertação de Mestrado, 73p.
153. MACIEL, V. B.; YOSHIDA, C. M. & FRANCO, T. T. "Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator". *Carbohydr Polym*, **132** 537, 2015.
154. REN, K.; WANG, Y.; SUN, T.; YUE, W. & ZHANG, H. "Electrospun PCL/gelatin composite nanofiber structures for effective guided bone regeneration membranes". *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **78** 324, 2017.
155. JUAREZ-ENRIQUEZ, E.; OLIVAS, G. I.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; ORTEGA-RIVAS, E.; PEREZ-VEGA, S. & SEPULVEDA, D. R. "Effect of water content on the flowability of hygroscopic powders". *J Food Eng*, **205** 12, 2017.
156. GIRI DEV, V. R. & HEMAMALINI, T. "Porous electrospun starch rich polycaprolactone blend nanofibers for severe hemorrhage". *Int J Biol Macromol*, **118** (Pt A): 1276, 2018.
157. LIU, H. A. & BALKUS, K. J. "Novel Delivery System for the Bioregulatory Agent Nitric Oxide". *Chem Mater*, **21** (21): 5032, 2009.
158. TAKAI, R.; KURIMOTO, R.; NAKAGAWA, Y.; KOTSUCHIBASHI, Y.; NAMEKAWA, K. & EBARA, M. "Towards a Rational Design of Zeolite-Polymer Composite Nanofibers for Efficient Adsorption of Creatinine". *J Nanomater*, **2016** 1, 2016.
159. KANG, D. H. & KANG, H. W. "Surface energy characteristics of zeolite embedded PVDF nanofiber films with electrospinning process". *Appl Surf Sci*, **387** 82, 2016.
160. SHEN, Y. & LUA, A. C. "Preparation and characterization of mixed matrix membranes based on poly(vinylidene fluoride) and zeolite 4A for gas separation". *Polym Eng Sci*, **52** (10): 2106, 2012.
161. SHIN, B.-Y.; LEE, S., II; SHIN, Y.-S.; BALAKRISHNAN, S. & NARAYAN, R. "Rheological, mechanical and biodegradation studies on blends of thermoplastic starch and polycaprolactone". *Polym Eng Sci*, **44** (8): 1429, 2004.

162. ALI AKBARI GHAVIMI, S.; EBRAHIMZADEH, M. H.; SOLATI-HASHJIN, M. & ABU OSMAN, N. A. "Polycaprolactone/starch composite: Fabrication, structure, properties, and applications". *J Biomed Mater Res A*, **103** (7): 2482, 2015.
163. DAVARPANAH JAZI, R.; RAFIENIA, M.; SALEHI ROZVE, H.; KARAMIAN, E. & SATTARY, M. "Fabrication and characterization of electrospun poly lactic-co-glycolic acid/zeolite nanocomposite scaffolds using bone tissue engineering". *J Bioact Compat Polym*, **33** (1): 63, 2017.
164. RUSLI, M. S. I.; HASSAN, M. I.; SULTANA, N. & ISMAIL, A. F. "Mechanical and degradation properties of polycaprolactone/ zeolite electrospun membrane". *Mal J Fund Appl Sci*, **13** (3): 356, 2019.
165. CHAO, J. B.; XU, M. D.; YIN, C. X. & HUANG, S. "Synthesis of Zn(II)-cloxacillin sodium complex and study of its interaction with calf thymus DNA". *Biochemistry (Mosc)*, **72** (2): 153, 2007.
166. MAYS, D. L. "Cloxacillin Sodium". *Anal Profiles Drug Subst*, **4** 113, 1975.
167. YU, H.; JIA, Y.; YAO, C. & LU, Y. "PCL/PEG core/sheath fibers with controlled drug release rate fabricated on the basis of a novel combined technique". *Int J Pharm*, **469** (1): 17, 2014.