

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS

**Efeito da irradiação UV sobre a blenda polimérica de
Poli(ácido lático-co-ácido glicólico)/Poliisopreno epoxidado**

Igor Luiz Gonçalves Pereira

Porto Alegre

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS

**Efeito da irradiação UV sobre a blenda polimérica de
Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)/Poliisopreno epoxidado**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGE3M, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Materiais.

Mestrando: Igor Luiz Gonçalves Pereira

Orientador: Prof. Dr. Luís Alberto dos Santos

Porto Alegre

2021

“O último esforço da razão é reconhecer que existe uma infinidade de coisas que a ultrapassam.”

Blaise Pascal

Agradecimentos

Os agradecimentos aqui resumidos são parte de uma experiência engrandecedora que é realizar e se desafiar na pós-graduação brasileira. Primeiramente agradeço aos meus pais Ivan e Janete Pereira e aos meus irmãos João e Ivan Jr., por toda motivação, oportunidade e encorajamento para realizar mais esta etapa da vida.

Agradeço ao meu orientador, professor Luis Alberto Loureiro dos Santos, que por sua competência, humildade e sabedoria, me ajudou a trilhar e organizar o caminho dentro da pós-graduação. Atuo muito além do que deveria, se preocupando pela realização deste trabalho, mas principalmente com o ser humano.

Foi muito inspirador trabalhar no grupo LABIOMAT, agradeço aos colegas Henrique, Luan, Paulo, Ana, Nathalia, Fernando, Yuri e os demais companheiros que sempre se dispuseram ajudar nas atividades acadêmicas, mas principalmente em boas risadas, conselhos e conversas no café.

Agradeço a toda equipe LAMAS, especialmente ao técnico João Paulo, qual auxiliou nas análises superficiais. Sem a infraestrutura da UFRGS (Bibliotecas, RUs, etc) e outros laboratórios parceiros, LAPOL, LACOR, LAMAT e o instituto de química, seria improvável a realização dessa dissertação.

Agradeço a bolsa de fomento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, qual sem ela se tornaria inviável a minha estadia no Rio Grande do Sul, meus suprimentos básicos e a realização desse trabalho.

E finalmente agradeço ao Eterno, por sua salvação, graça e providência em Cristo Jesus, que me conserva e orienta em Vida.

Resumo

Na engenharia de tecidos a primeira interação célula – material acontece na superfície, portanto, as respostas celulares são influenciadas pelas propriedades químicas, físicas e morfológicas da superfície do biomaterial. As técnicas de modificação superficial trouxeram alternativas para aprimorar as propriedades do biomaterial e sua compatibilidade com o meio biológico. Trabalhos anteriores com a blenda de Poliácido(Láctico-co-Glicólico) (PLGA) e Poliisopreno epoxidado (PI_{epox}), a caracteriza como um material com interessante potencial para engenharia de tecidos, porém com limitações enquanto seu caráter hidrofóbico. Afim de aperfeiçoar e oferecer uma blenda de PLGA/PI_{epox} com características de maior bioafinidade e biocompatibilidade para interação celular, foi realizado sua modificação utilizando irradiação ultravioleta (UV), visto que essa técnica em comparação com outras, como plasma e via química úmida, possui baixo custo, não utilização de solventes e fácil manuseio. Após 60 minutos tratamento UV a blenda apresentou maior hidrofiliidade, ou seja, menor ângulo de contato em comparação a não tratada. A partir de análises químicas da superfície, como ATR-FTIR e XPS, foi possível explicar que esse aumento da molhabilidade é devido ao aumento de grupos oxigenados, como hidroxilas, carbonilas, ácidos carboxílicos e peróxidos. Conforme as análises de DSC também foi possível verificar que houve alteração na mobilidade das cadeias poliméricas das amostras irradiadas, provavelmente pelo aumento das interações de hidrogênio entre os polímeros da blenda e de possíveis ocorrências de ligações cruzadas. No ensaio de degradação *in vitro* foi demonstrado que houve um aumento da absorção de água da blenda tratada, diminuindo sua degradação, sendo esse fenômeno ocasionado pela maior hidrofiliidade da mesma, acarretado também pelas possíveis ligações cruzadas que se formaram durante a irradiação UV. Por fim, é possível corroborar que a blenda tratada pelo método UV possui características adicionais e alternativas, como maior hidrofiliidade e aumento dos grupos oxigenados, que potencializa sua utilização na engenharia de tecidos.

Palavras chaves: PLGA, Blenda, Irradiação Ultravioleta, Modificação Superficial, Engenharia de tecidos.

Abstract

Because the first cell-material interaction occurs on the surface of the tissue engineer, cellular responses are influenced by the chemical, physical, and morphological properties of the biomaterial's surface. Surface modification techniques have brought alternatives to improve the properties of biomaterials and their compatibility with the biological environment. Previous work with the blend of Polyacid (Lactic-co-Glycolic) (PLGA) and epoxidized Polyisoprene (PlepoX), characterizes it as a material with interesting potential for tissue engineering, but with limitations as to its hydrophobic character. To improve and offer a blend of PLGA/PlepoX with characteristics of greater bio-affinity and biocompatibility for cellular interaction, it was modified using ultraviolet (UV) irradiation, since this technique in comparison with others, such as plasma and wet chemical, has low-cost, no use of solvents and easy handling. After 60 minutes of UV treatment, the blend showed greater hydrophilicity, that is, a smaller contact angle compared to the untreated one. Chemical surface analyses, such as ATR-FTIR and XPS, revealed that the increase in wettability is due to an increase in oxygenated groups, such as hydroxyls, carbonyls, carboxylic acids, and peroxides. According to the DSC analysis, it was also possible to verify that there was a change in the mobility of the polymeric chains of the irradiated samples, probably due to the increase in the interactions of hydrogen between the polymers in the blend and possible occurrences of cross-links. In the in vitro degradation test, it was demonstrated that there was an increase in the absorption of water from the treated blend, decreasing its degradation. This phenomenon is caused by its greater hydrophilicity, also caused by the possible cross-links that were formed during UV irradiation. Finally, it is possible to corroborate that the blend treated by the UV method has additional and alternative characteristics, such as greater hydrophilicity and increased oxygenated groups, which enhances its use in tissue engineering.

Keywords: PLGA, Blends, Ultraviolet Irradiation, Surface Modification, Tissue Engineering.

Lista de ilustrações

FIGURA 1 - MICROSCOPIA ÓPTICA DO SCAFFOLD DE PLGA/PI EM ESTRUTURA FIBROSA. (MARQUES ET AL., 2017).	21
FIGURA 2 - MICROSCOPIA ÓPTICA DA CULTURA CELULAR DE HMV-II DEPOIS DE 48H DE CONTATO COM (A) PLGA/PI, (B) PLGA/PLEPOX E (C) DIAGRAMA DE CONTAGEM DE CÉLULAS PARA MEMBRANAS. TRADUZIDO DE (GUERRA ET AL., 2018).....	22
FIGURA 3 - IMAGENS DA ESTRUTURA QUÍMICA DA CADEIA PRINCIPAL DE PIEPOX E PLGA EM REPRESENTAÇÕES 2D E 3D.	23
FIGURA 4 - FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA.	39
FIGURA 5 – RESUMO DA METODOLOGIA DA SÍNTESE DA BLENDA POLIMÉRICA DE PLGA/PIEPOX E DO TRATAMENTO POR UV.	41
FIGURA 6 - ESPECTRO DE ¹ H RMN DO POLIISOPRENO EPOXIDADO E EM REALCE OS SINAIS UTILIZADOS PARA CALCULAR O GRAU DE EPOXIDAÇÃO.	48
FIGURA 7 - CURVA DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DA BLENDA DE PLGA/PI _{EPOX} . TGA – CURVA TERMOGRAVIMÉTRICA E DTG – DERIVADA DA CURVA TGA.	50
FIGURA 8 - ESPECTROS DE FTIR DA BLENDA DE PLGA/PI _{EPOX} EM DIFERENTES TEMPERATURAS DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA.	51
FIGURA 9 - CURVA DE DSC DA BLENDA POLIMÉRICA EM (A) E DO PI _{EPOX} EM (B).	53
FIGURA 10 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO (FTIR-ATR) DOS POLÍMEROS PIEPOX, PLGA E DOS LADOS DA BLENDA.	54
FIGURA 11 – MICROSCOPIA ÓPTICA DOS LADOS DA BLENDA POLIMÉRICA PLGA/PIEPOX E ESQUEMA DE EVAPORAÇÃO DO SOLVENTE. LADO RUGOSO EM A) E AUMENTO EM B) E LADO LISO EM C) E AUMENTO EM D).	56
FIGURA 12 - ÂNGULO DE CONTATO DA BLENDA TRATADA SOB IRRADIAÇÃO UV EM DIVERSOS TEMPOS (MINUTOS).....	57
FIGURA 13 - ESPECTRO DE FTIR DA BLENDA TRATADA EM DIVERSOS TEMPOS.	59
FIGURA 14 – RADICAIS LIVRES ORIGINADOS NA ABERTURA DO ANEL EPÓXI DO PI _{EPOX} (B.T.POH; K.S.LEE, 1994).....	61
FIGURA 15 - ESPECTROS DE FTIR NORMALIZADOS DA BLENDA TRATADA NAS REGIÕES DE INTERESSE CONFORME OS NÚMEROS DE ONDA, A) ENTRE 2500 A 4000 CM ⁻¹ ; B) ENTRE 1500 A 2000 CM ⁻¹ , C) ENTRE 1000 A 1500 CM ⁻¹ E D) ENTRE 700 A 1000 CM ⁻¹	62
FIGURA 16 – SUGESTÃO DE RADICAIS PEROXILAS GERADOS DURANTE RADIÓLISE DO PLGA, UM COM GRUPO METILENO E OUTRO COM GRUPO HIDROGÊNIO. (LOO, J. S. C.; OOI; BOEY, 2005; MONTANARI, L. ET AL., 2001; MONTANARI, LUISA ET AL., 1998)	63

FIGURA 17 – RELAÇÃO ENTRE O TEMPO DE TRATAMENTO POR UV DAS AMOSTRAS TRATADAS COM AS RESPECTIVAS ABSORBÂNCIAS NO FTIR DOS GRUPOS METIL (CH ₃), HIDROXILAS (OH) E CARBONILAS DE ÉSTERES (O-C=O).....	64
FIGURA 18 - PERFILOMETRIA DA BLENDAS NÃO TRATADA A) E DA BLENDAS TRATADA SOB IRRADIAÇÃO UV POR 120 MIN B).....	65
FIGURA 19 - ENVELHECIMENTO DO TRATAMENTO SUPERFICIAL DA BLENDAS POLIMÉRICA PLGA/PI _{EPOX}	66
FIGURA 20 - ESPECTRO DE XPS DO TRATAMENTO SUPERFICIAL DA BLENDAS POLIMÉRICA. A) AUMENTO NA REGIÃO DO ESTUDO, B) ESPECTRO DE VARREDURA (SURVEY) E C) GRÁFICO DA COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DA SUPERFÍCIE DAS AMOSTRAS TRATADAS E NÃO TRATADAS, DESCONSIDERANDO O SI 2P.....	69
FIGURA 21 - DECONVOLUÇÃO DO SINAL C 1S PARA AMOSTRAS TRATADAS E NÃO TRATADA. A-1) 0 MIM, A-2) 15 MIN, A-3) 30 MIN, A-4) 60 MIN, A-5) 90 MIN E A-6) 120 MIN. B) GRÁFICO DA COMPOSIÇÃO DOS COMPONENTES REPRESENTATIVOS DE C 1S PARA AMOSTRAS TRATADAS E NÃO TRATADAS.....	70
FIGURA 22 - DECONVOLUÇÃO DO SINAL O 1S PARA AMOSTRAS TRATADAS E NÃO TRATADA. A-1) 0 MIM, A-2) 15 MIN, A-3) 30 MIN, A-4) 60 MIN, A-5) 90 MIN E A-6) 120 MIN. B) GRÁFICO DA COMPOSIÇÃO DOS COMPONENTES REPRESENTATIVOS DE O 1S PARA AMOSTRAS TRATADAS E NÃO TRATADAS.	72
FIGURA 23 – ANÁLISE DE DSC DA BLENDAS COM AS TG IDENTIFICADAS PARA CADA TEMPO DE TRATAMENTO SOB IRRADIAÇÃO UV.	73
FIGURA 24 - ENSAIO DE DEGRADAÇÃO IN VITRO PARA AMOSTRAS DE BLENDAS NÃO TRATADAS E TRATADAS SOB UV. A) AMOSTRAS EM SOLUÇÃO BUFFER E B) RESULTADOS DE VARIAÇÃO PERCENTUAL DE MASSA PELO TEMPO EM DIAS.	75

Lista de tabelas

Tabela 1 – Número de amostras para cada análise e caracterização realizada.....42

Tabela 2 - Dados de rugosidade da superfície da blenda tratada com irradiação ultravioleta. Qual R_a = Rugosidade Média Aritmética, R_q = raiz do valor quadrático médio, S_a = média aritmética da rugosidade 3D, S_q = raiz do valor quadrático médio 3D e σ o desvio-padrão das medidas.....65

Tabela 3 - Composição da superfície das amostras da blenda PLGA/PI_{epox} não tratada e tratada por irradiação UV obtidas pelo espectro de varredura (*survey*) do XPS.....68

Lista de abreviaturas

ATR <i>Reflection</i>)	Refletância Total Atenuada (do inglês, <i>Attenuated Total</i>
BN	Borracha Natural
BNE	Borracha Natural Epoxidada
DSC	Calorímetro Diferencial de Varredura (do inglês, Differential Scanning Calorimetry)
DTG	Derivada Termogravimétrica
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês, Fourier-Transform Infrared Spectroscopy)
HA	Hidroxiapatita
MEC	Matriz Extracelular
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
O/C	Razão Oxigênio/Carbono
PCL	Policaprolactona
PGA	Poliácido Glicólico
PI	Poliisopreno
PI _{epox}	Poliisopreno epoxidado
PLA	Poliácido Lático
PLGA	Poliácido(Lático-co-Glicólico)
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
Tg	Temperatura de Transição vítrea
TGA analysis)	Análise Termogravimétrica (do inglês, Thermogravimetric
UV	Irradiação Ultravioleta

WCA Ângulo de Contato (do inglês, Water Contact Angle)

XPS Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (do inglês, X-ray Photoelectron Spectroscopy)

Sumário

1. INTRODUÇÃO/FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
1.1. Biomateriais	13
1.2. Borracha Natural (BN)/ Borracha Natural Epoxidada (BNE)	14
1.3. Poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA)	17
1.4. Blenda Polimérica Cellprene®	18
1.5. Modificação Superficial de Polímeros	23
1.5.1. Interação superficial Materiais-Proteínas-Células.....	24
1.5.2. Modificação superficial úmida/química (<i>Wet-chemical</i>)	26
1.5.3. Modificação superficial por Plasma	28
1.5.4. Modificação superficial usando revestimento ou enxertos.....	30
1.5.5. Modificação superficial por Radiação Ultravioleta	31
2. OBJETIVOS	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1. Purificação do PI_{epox}	39
3.2. Preparação da blenda de PLGA/PI_{epox}	40
3.3. Tratamento UV da blenda polimérica	40
3.4. Caracterizações	42
3.4.1. Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-H)	42
3.4.2. Análise Termogravimétrica (TGA)/Termogravimetria derivada (DTG) acoplada	
a Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	43
3.4.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	43
3.4.4. Ângulo de Contato (WCA).....	44
3.4.5. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	
acoplado ao método de Refletância Total Atenuada (ATR)	45
3.4.6. Perfilometria Óptica.....	45
3.4.7. Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (XPS)	46
3.4.8. Ensaio de degradação <i>in vitro</i>	47
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	48

4.1. Purificação do PI_{epox}	48
4.1.1. RMN do PI _{epox}	48
4.2. Preparação da blenda de PLGA e PI_{epox}	49
4.2.1. TGA/DTG e TGA/FTIR.....	49
4.2.2. DSC	52
4.2.3. ATR-FTIR	54
4.3. Tratamento UV da blenda polimérica	57
4.3.1. WCA	57
4.3.2. ATR-FTIR	58
4.3.3. Perfilometria ótica	65
4.3.4. Ensaio de envelhecimento	66
4.2.5. XPS.....	68
4.2.7. Análise de DSC para amostras irradiadas por UV.....	73
4.2.8. Ensaio de degradação <i>in vitro</i>	75
5. CONCLUSÃO	77
6. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

1. INTRODUÇÃO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1. Biomateriais

Em 1982, na Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas, o termo biomaterial ficou definido como: "Toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais" (Williams, 1987). Atualmente a aplicação dos biomateriais possui um amplo espectro, podendo ser utilizados como implantes, carregadores de fármacos e outras substâncias terapêuticas, agentes de contraste de imagem e materiais aplicados na engenharia de tecidos (GHASEMI-MOBARAKEH *et al.*, 2019).

A engenharia de tecidos é uma das áreas em biomateriais que possui o objetivo de auxiliar a criação de novos materiais que possam regenerar, reparar e substituir tecidos que foram gravemente lesionados por diferentes patologias (DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011). Os chamados arcações (*scaffolds*, em inglês), são materiais sintéticos com arquitetura 3D que possuem função de mimetizar as estruturas biológicas e proporcionar estímulos mecânicos e químicos que auxiliam no processo de cicatrização (COSTA; RAUF; HAUSER, 2017; CUNNIFFE *et al.*, 2017; GAUVIN; KHADEMOSSEINI, 2011; IQBAL *et al.*, 2019). Diferentes órgãos teciduais (nervos, músculos, ossos, etc) apresentam diferentes ambientes biológicos, assim como propriedades mecânicas e químicas específicas, dessa forma a engenharia de tecidos tem a finalidade de desenvolver e selecionar materiais de acordo com esses ambientes (IQBAL *et al.*, 2019).

A funcionalidade dos *scaffolds* como implantes é resultado da sua integração no tecido, sendo capaz de atuar no momento exato do implante ou por adaptação regulada no hospedeiro (IQBAL *et al.*, 2019). De maneira geral, as interações da superfície dos *scaffolds* com o meio biológico serão iniciadas pelas diversas proteínas da matriz extracelular (MEC), que em seguida sinalizará bioquimicamente as células,

influenciando assim a disseminação, proliferação e adesão celular (IQBAL *et al.*, 2019; PRADAS; VICENT, 2015).

A possibilidade de desenvolver cultivos de células sobre uma matriz ou *scaffolds in vitro* antes da implementação *in vivo*, facilita a criação de sistemas biocompatíveis bem produzidos (WU *et al.*, 2014; GUERRA, N.B., 2018).

Os *scaffolds* podem ser sintetizados por uma variedades de materiais, utilizando desde de polímeros, nanopartículas a nanocompósitos, porém pela facilidade de controle da síntese, os polímeros sintéticos, naturais e seus compósitos exibem características relevantes que serão considerados adiante (IQBAL *et al.*, 2019; KHAN *et al.*, 2017).

Os materiais poliméricos são eficazes e amplamente utilizados na produção de *scaffolds*, já que compartilham algumas propriedades e semelhanças estruturais com as moléculas da matriz extracelular (IQBAL *et al.*, 2019). Visto que possuem estruturas em nível molecular (monômeros), supramolecular (fases cristalinas que possuem de nanômetros a micrometros) e associações multimoleculares (> 10~100 micron) que formam estruturas porosas que se assemelham as estruturas de rede da MEC (PRADAS; VICENT, 2015). Além disso, os polímeros são passíveis de personalização e produção em alta precisão, alterando sua composição (a partir de blendas, aditivos, enxertos, etc) é possível controlar suas propriedades físico-químicas (peso molecular, cristalinidade, taxa de degradação, etc), dessa forma melhorando o desempenho e aplicabilidade dos *scaffolds* (GOMES; REIS, 2004b, a; IQBAL *et al.*, 2019).

1.2. Borracha Natural (BN)/ Borracha Natural Epoxidada (BNE)

O látex da Borracha Natural (BN) extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* é um material de baixo custo, renovável e recorrente no território brasileiro (BORGES *et al.*, 2017; COURTNEY; GILCHRIST, 1980). O látex é constituído pelos seguintes componentes: 4-5% de lipídios, carboidratos e proteínas, 40-45% de borracha (majoritariamente cis-poliisopreno) e aproximadamente 50% de água (FERREIRA *et al.*, 2009; GRAVE; BAYER; LEVERKUSEN, 1993). A presença de proteínas alergênicas são uma das principais adversidades do uso do látex como biomaterial, dessa forma é essencial a etapa de purificação da borracha, que destina-se a reduzir

essas proteínas e melhorar sua biocompatibilidade (COURTNEY; GILCHRIST, 1980; SUSSMAN; BEEZHOLD; KURUP, 2002).

As propriedades mecânicas (flexibilidade e resistência a fadiga) da borracha natural sempre foram um atrativo para diversas aplicações que sejam necessários materiais com longas deformações elásticas (TANG, BEN ZHONG, 2013). O processo de vulcanização expandiu o uso da BN a partir da otimização nas propriedades elásticas, térmicas e químicas, pois a BN sem qualquer modificação degrada facilmente em exposição a luz solar, calor e oxigênio. A degradação ocorre devido à presença de ligações insaturadas (C=C) na cadeia principal do cis-1,4-poliisopreno que são propensas a reatividade química (GUERRA, N.B., 2018; TANG, BEN ZHONG, 2013).

Outras modificações da BN também são utilizadas para melhorar suas propriedades, como métodos de hidrogenação, cloração, bromação, sulfonação e epoxidação (THOMAS et al., 2014).

A epoxidação é um processo simples e eficaz que melhora o desempenho da BN. A reação de epoxidação sucede pela adição de um átomo de oxigênio nas ligações duplas carbono-carbono no esqueleto da BN para formar um anel oxirano (ou anel epóxi) (THOMAS *et al.*, 2014). A epoxidação pode ser realizada principalmente na forma de látex seco usando ácido peracético, ácido perfórmico ou uma mistura de peróxido de hidrogênio e um ácido orgânico, e.g. ácido fórmico ou ácido acético (BURFIELD; LIM; LAW, 1984).

A BN é um material que possui aplicações de longa data na área de biomaterial, sendo utilizado principalmente como luvas cirúrgicas e preservativos (COURTNEY; GILCHRIST, 1980; RAHIMI; MASHAK, 2013). Estudos mostram que a BN possui compatibilidade sanguínea devido a propriedades de angiogênese e permeabilidade vascular, que melhoram a adesão celular e biocompatibilidade, promovendo assim um ótimo material para reparo de tecidos lesionados (FERREIRA et al., 2009; FLORIANO et al., 2014; RAHIMI; MASHAK, 2013).

É amplamente estudado a eficácia da regeneração tecidual das membranas de BN, como é o caso do trabalho de FLORIANO *et al.*, 2014 onde realizaram análises

de biocompatibilidade do látex de cinco clones de *H. brasiliensis* a partir de ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os resultados *in vitro* demonstraram que todos os cinco clones apresentaram viabilidade celular com baixa citotoxicidade e genotoxicidade, nos resultados *in vivo* foi observado um processo inflamatório moderado, que é normalmente encontrado em processos de regeneração. A pesquisa de BORGES *et al.* (2017) revela que a BN pode ser utilizada como um guia para regeneração óssea, possibilitando a adesão, proliferação e deposição de matriz extracelular de osteoblastos.

(CESAR *et al.*, 2020)) desenvolveram um estudo da blenda polimérica de BN e poliácido láctico (PLA) na produção de membranas para aplicações biomédicas, as membranas foram obtidas pelo método de “*solvent casting*”, o método consiste na obtenção de membranas ou filmes pela solubilização do polímero e posterior evaporação do solvente. Os resultados do estudo relataram que as membranas de BN/PLA na proporção 3:1 tiveram um aumento de 130% de perda massa no ensaio de biodegradação, quando comparado ao da BN pura, apresentando maior biodegradabilidade, característica importante para os biomateriais.

Alguns estudos utilizam diferentes morfologias da BN com aplicações em biomateriais, como o estudo de AZARIAN; BOOCHATHUM, 2018, que elaborou nanofibras de borracha natural cloroacetada (BNC)/poli(álcool vinílico) (PVA) utilizando a técnica eletrospinning (em inglês, *electrospinning*) para aplicações em engenharia de tecidos. No estudo de (COSME *et al.*, 2016)) avaliou-se a produção de nanofibras da blenda polimérica de borracha natural epoxidada (BNE), porém com PLA, os resultados demonstraram que as propriedades das nanofibras possuem aplicabilidade em engenharia de tecidos .

A partir desses e outros estudos é possível afirmar que a utilização da borracha natural e suas modificações são promissores biomateriais a serem cada vez mais abordados na engenharia de tecidos (GUERRA *et al.*, 2018; LIM *et al.*, 2014; VECHIETTI *et al.*, 2014).

1.3. Poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA)

Os poli(α -hidroxi ésteres) saturados são polímeros biodegradáveis que apresentam mecanismos de degradação por hidrólise, alguns exemplos desses tipos de polímeros são o PLA, poli(ácido glicólico) (PGA), Policaprolactana (PCL), etc (GENTILE et al., 2014). A biodegradabilidade é a capacidade do biomaterial de ser absorvido e removido por vias naturais, levando em consideração que o biomaterial, bem como o derivado de sua degradação, devem ser atóxicos ao hospedeiro (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

O Poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) é um copolímero linear entre ácido lático (LA) e ácido glicólico (GA) e pode ser produzido por diferentes proporções entre seus monômeros para atingir diferentes propriedades, sendo ideal para trabalhar com diferentes tipos de órgãos teciduais (GUERRA, N.B., 2018; MAKADIA; SIEGEL, 2011). Atualmente o PLGA é um material com melhores características na área de engenharia de tecidos em relações aos polímeros (PLA e PGA) de seus monômeros (GENTILE et al., 2014). O PLGA destaca-se por melhores propriedades como ampla faixa de degradação, cristalinidade e pelo controle do balanço hidrofílico/hidrofóbico. O PLGA é amplamente citado como um excelente material biodegradável, biocompatível e atóxico (GENTILE et al., 2014).

Além da produção de *scaffolds* para engenharia de tecidos, o PLGA é largamente utilizado na área farmacêutica como carregador de fármacos (GENTILE et al., 2014). Dependendo do método de obtenção da matriz polimérica é possível arranjar diferentes estruturas (2D e 3D) para os *scaffolds* de PLGA (KEIROUZ et al., 2020).

A versatilidade do PLGA é demonstrada pela sua utilização em diferentes aplicações, como no trabalho de (PAHUJA et al., 2015) onde demonstraram que a liberação controlada de dopamina por nanopartículas de PLGA revertem déficits neuroquímicos e neurocomportamentais em ratos com Parkinson, fornecendo uma nova abordagem para o tratamento da doença de Parkinson. No estudo de (BEHRENS et al., 2014) avaliaram a deposição direta de nanofibras de PLGA usando o método de fiação por sopro (em inglês, *Blow Spinning*), os resultados de ensaio *in vitro* demonstraram que a biocompatibilidade das nanofibras de PLGA foram satisfatórias.

O PLGA também possui aplicações na regeneração de tecidos ósseos, dado suas propriedades mecânicas e acessibilidade na obtenção de *scaffolds* fibrosos e porosos (GENTILE et al., 2014). Compósitos entre PLGA e hidroxiapatita são bastantes estudados para regeneração de defeitos ósseos (KIM, H. et al., 2013; VECHIETTI et al., 2014).

1.4. Blenda Polimérica Cellprene®

Quando apenas um polímero não dispõe de propriedades suficientes para sua aplicação, pode se utilizar a opção de combinar com outro polímero para adquirir novas propriedades ou maximizar as propriedades consideradas importantes (SUBRAMANIAN, 2017). Além facilidade de obtenção de um novo material pela combinação de dois materiais sintetizados, as blendas podem oferecer melhor processabilidade, além de melhores desempenhos mecânicos, químicos, térmicos e biológicos, como melhor biocompatibilidade (SUBRAMANIAN, 2017).

As propriedades das blendas ou misturas poliméricas são caracterizadas pela miscibilidade ou interações pelas quais os polímeros estão combinados. A partir da energia livre da mistura, baseado na teoria de Flory-Huggins, é possível prever se um sistema é miscível ou imiscível entre os polímeros constituintes (GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2015; SUBRAMANIAN, 2017). As bases teóricas não serão abordadas no escopo deste trabalho, porém, podem ser obtidas em outras literaturas (INOUE; SAITO, 1989).

Utilizando caracterizações experimentais é possível identificar a miscibilidade das blendas poliméricas, como a caracterização por calorimetria diferencial de varredura (DSC), onde é possível determinar a temperatura transição vítrea (T_g) dos polímeros, ou a partir dos estudos das interações química entre cadeias poliméricas caracterizadas por Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), também é possível descrever os limites entre as morfologias da blenda usando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2015).

Afim de combinar as propriedades de biodegradabilidade/bioabsorção do PLGA com as respostas de neovascularização e adesão do celular do Poli(isopreno)

(PI), MARQUES, D. R. *et al.* (2013) estudaram a mistura/blenda dos polímeros PI/PLGA para aplicação como biomaterial. O procedimento adotado para realizar a mistura dos polímeros foi o método *solvent casting*, no qual solubilizaram em clorofórmio ambos os polímeros em diversas proporções e após homogeneização da solução o solvente foi volatilizado/seco em temperatura ambiente para obtenção do filme de PLGA/PI.

A blenda foi caracterizada com comportamento parcialmente miscível como relevado no ensaio de DSC, ou seja, as temperaturas de Tg exibiram pouca alteração em relação aos polímeros isolados. As propriedades mecânicas mostraram que a adição de poli(isopreno) no PLGA reduziu o módulo de Young e tensão máxima na mistura dos polímeros. Os materiais apresentaram, conforme a adição de PI, alteração no comportamento mecânico, de um material frágil a um comportamento dúctil. A proporção em massa de 60% PLGA e 40 % de PI exibiram maior ductilidade, assim sendo um material que pode ser moldado antes do procedimento cirúrgico, bem como sofrer cargas durante a sua aplicação, sem comprometer a sua integridade e desenvolvimento de suas funções *in vivo*.

Os resultados de viabilidade celular demonstraram que a blenda de PLGA/PI não exibiu toxicidade em ambiente celular, sendo considerada não citotóxica, os ensaios preliminares do estudados *in vivo* demonstraram serem promissores.

MARQUES *et al.* (2011a) depositaram patente sobre as blendas poliméricas de PI e PLGA e posteriormente registraram no Instituto Nacional da Propriedade Industrial com nome de marca Cellprene®.

KIM *et al.* (2014) estudaram experimentalmente a histotoxicidade entre o copolímero PLGA e da blenda Cellprene® (mistura em 60%/40% na relação massa/massa entre PLGA/PI. Para verificar o comportamento histológico da blenda, 46 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*, raça albino) foram submetidos a implantes de PLGA ou PLGA/PI no crânio e foram alocados em subgrupos pelo tempo de eutanásia (15,30, 60 ou 90 dias). Após a eutanásia, o crânio foi removido e a histotoxicidade foi avaliada histopatologicamente. A histotoxicidade da mistura PLGA/PI foi similar ao do copolímero de PLGA nos ratos eutanasiados entre 15 e 30 dias dos grupos estudados, bem como em longo prazo, após 90 dias. A blenda

Cellprene® apresentou maior histotoxicidade em animais eutanasiados aos 60 dias, embora neste período a histotoxicidade da mistura de PLGA/PI foi semelhante à do copolímero de PLGA aos 15 dias. Apesar da instabilidade da resposta histológica exibida em diferentes períodos de observação, ficou evidenciado pelo estudo que a blenda Cellprene® possui alto potencial na pesquisa de novos tratamentos de craniossinostose.

VECHIETTI *et al.* (2014) elaboraram um estudo para verificar a combinação entre a Cellprene®, hidroxiapatita e fosfato de α -tricálcio, já que a combinação de materiais como biopolímeros e biocerâmicas pode resultar em um material pertinente para aplicação na regeneração do tecido ósseo. As fibras poliméricas de PLGA/PI com adição de com hidroxiapatita (HA) e fosfato de α -tricálcio (α -TCP) foram sintetizadas e suas propriedades mecânicas, térmicas e morfológicas foram analisadas. As fibras com Cellprene® e α -TCP (diâmetro de 0.1830 mm e módulo de Young de 44.4 MPa) demonstraram menor módulo de elasticidade do que as fibras de Cellprene® com HA (diâmetro de 0.1370 mm e módulo de Young de 72.3 MPa). Enquanto isso, o teste de tensão/deformação exibiu melhor resistência à tração para as fibras contendo α -TCP (93.7MPa). Ambas as fibras possuíam comportamento térmico, com Tg na mesma faixa do PLGA bruto. No mesmo sentido, as temperaturas de degradação foram bastante semelhantes para ambas as fibras contendo Cellprene®/ α -TCP ou Cellprene®/HA. O estudo revelou que a presença de cerâmicas nas fibras do biopolímero Cellprene® tem potencial para futuras investigações visando à regeneração do tecido ósseo.

A partir dos resultados obtidos anteriormente com blenda Cellprene®, MARQUES *et al.* (2017) avaliaram o comportamento *in vitro* da aplicação de fibras de poli(ácido láctico-co-glicólico)/ poli(isopreno) na engenharia de tecidos moles. Neste estudo o processo de produção de fibras se deu pela técnica de gotejamento, qual não modificou a estrutura do polímero. A estrutura das fibras obtidas apresentou alta porosidade, grande diâmetro de fibras e tamanho e distribuição de poros convenientes. As fibras nesta morfologia, figura 1, melhoraram a viabilidade celular, proliferação e densidade *in vitro* devido à estrutura emaranhada e poros

interconectados. Os resultados dos ensaios mecânicos reforçam a adequação desses *scaffolds* para aplicações em tecidos moles.

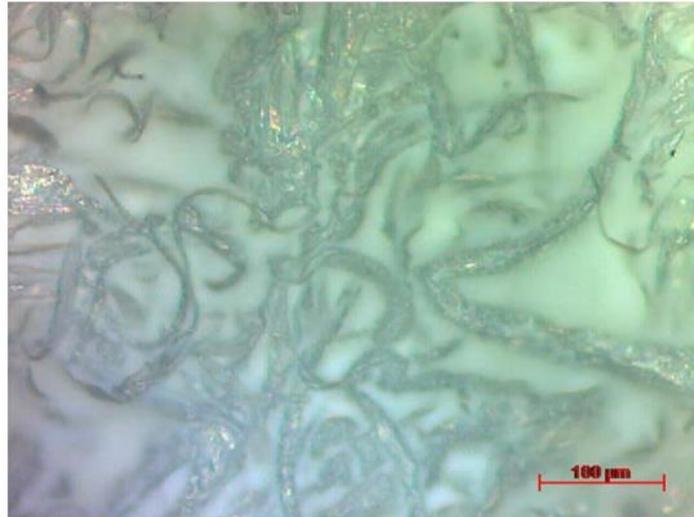


Figura 1 - Microscopia Óptica do scaffold de PLGA/PI em estrutura fibrosa. (MARQUES et al., 2017).

Células musculares esqueléticas foram cultivadas em uma estrutura bidimensional de tais fibras, de modo que a linhagem celular de mioblastos murinos (C2C12) demonstrou aumento na atividade metabólica e proliferação para os mesmos níveis do grupo controle, além de clara demonstração de formação de matriz extracelular. Os testes com fibroblastos dérmicos humanos não exibiram leituras tão altas, mas apresentaram crescimento celular com o mesmo perfil de desenvolvimento do grupo de controle. O estudo conclui que é plausível acreditar que esses suportes tridimensionais e bidimensionais fibrosos de PLGA/PI sejam adequados para aplicações em engenharia de tecidos moles.

Com a finalidade de melhorar a compatibilidade entre os polímeros da blenda Cellprene® e preparar misturas miscíveis e biocompatíveis que podem ser utilizadas na Engenharia de Tecidos GUERRA *et al.* (2018) analisaram o comportamento da blenda após epoxidar o PI. As membranas das blendas desenvolvidas neste estudo foram obtidas pelo método *solvent casting*. As propriedades físico-químicas e mecânicas das membranas foram avaliadas e comparadas com o Cellprene® (blenda polimérica de PLGA/PI).

O grau de epoxidação do poliisopreno epoxidado (PI_{epox}) foi de aproximadamente 55%, a epoxidação influenciou na miscibilidade da mistura entre os polímeros, tornando-o parcialmente miscível, conforme demonstrado pela abordagem da Tg. O efeito não citotóxico da blenda de PLGA/PI_{epox} foi estudado e obteve-se em 72 h mais de 100% de viabilidade das células HepG2. A epoxidação aumentou a hidrofiliabilidade pela presença do grupo epóxi na mistura de PLGA/PI_{epox}, ocasionando o incremento da adesão e proliferação de células epiteliais, Figura 2, em comparação com mistura de PLGA/PI. A pesquisa de GUERRA e colaboradores (2018) demonstrou que a mistura de PLGA/PI_{epox} possui alto potencial para uso como *scaffolds* em engenharia de tecidos moles.

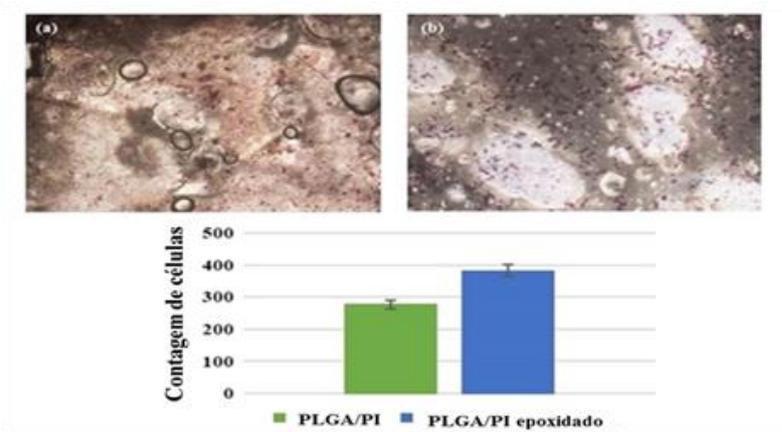


Figura 2 - Microscopia Óptica da cultura celular de HMV-II depois de 48h de contato com (a) PLGA/PI, (b) PLGA/PI_{epox} e (c) Diagrama de contagem de células para membranas. Traduzido de (GUERRA et al., 2018).

Ainda sobre estudos realizados com a blenda Cellprene® podemos mencionar o trabalho de OLIVEIRA *et al.* (2019) qual obteve fibras da blenda com adição de hidroxiapatita pelo método *electrospinning* ou eletrofiação. Nos parâmetros otimizados foram obtidas fibras com diâmetros de 2 µm a 6 µm, aproximadamente. Os resultados de citotoxicidade revelaram que essas fibras com hidroxiapatita era biocompatíveis, apresentando baixa toxicidade.

No estudo *in vitro* de HENCKES *et al.* (2019) avaliaram a adesão celular das células HMV-II (Células da mucosa vaginal da linha celular de melanoma) e AD-MSCs (Células-tronco mesenquimais derivadas do adiposo humano) nos polímeros Cellprene®, PLGA/PI_{epox} e Membracel®. Os resultados da pesquisa demonstram que a blenda polimérica de PLGA/PI_{epox}, figura 3, umidificada exibiu mais eficiência na atividade biológica em relação aos outros materiais mencionados. Os autores

discorrem que os resultados da melhor adesão celular para esse *scaffold* foi devido a epoxidação do poliisopreno que proporcionou sítios mais hidrofílicos, pois como será discutido adiante, as respostas celulares são fortemente influenciadas pelas propriedades químicas do material. Por fim, o *scaffold* de PLGA/PI_{epox} preservaram as características funcionais e morfológicas das linhagens de células HMV-II e AD-MSCs, revelando-se um material promissor de regeneração tecidual, usando técnicas de tecido cultivado *in vitro*.

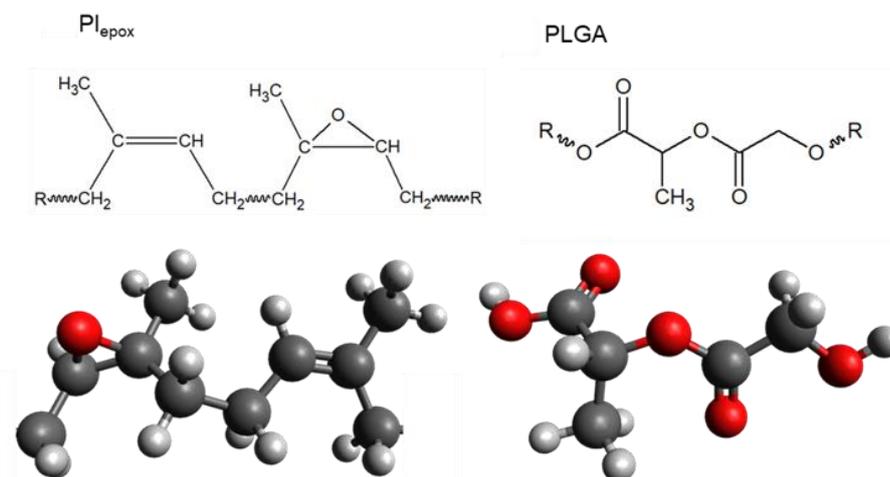


Figura 3 - Imagens da estrutura química da cadeia principal de Plepox e PLGA em representações 2D e 3D.

1.5. Modificação Superficial de Polímeros

O principal objetivo da modificação superficial dos biomateriais é alterar as suas características superficiais para melhorar ou modular as respostas celulares. A morfologia superficial, as propriedades químicas e mecânicas podem ser modificadas afim criar um ambiente mais adequado para interagir com o sistema biológico *in vitro* ou *in vivo* (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018).

A modificação da superficial pode afetar todas as características do material ao mesmo tempo ou podem ser específicas para uma propriedade (mecânica, topográfica ou química), métodos químicos ou físico-químicos são utilizados amplamente para atingir esses objetivos (RATNER; HOFFMAN; MCARTHUR, 2020). Será realizada uma breve revisão sobre as propriedades superficiais dos *scaffolds* e métodos de modificação superficial.

1.5.1. Interação superficial Materiais-Proteínas-Células

Scaffolds possuem funções importantes para viabilizar o processo de regeneração tecidual. De um modo geral, os *scaffolds* devem auxiliar o processo de regeneração, atuando como um ambiente celular artificial durante alguns estágios da recuperação do tecido danificado (PRADAS; VICENT, 2015), portanto é importante que o *scaffold* possua determinadas funções, afim de mimetizar a membrana extracelular (MEC). PRADAS; VICENT, (2015) citam algumas funções importantes como:

- Os *scaffolds* devem auxiliar na integridade estrutural e mecânica do tecido doente;
- Devem servir como um meio de transporte de nutrientes e resíduos, assim como facilitar a vascularização;
- Orientar espacialmente a disseminação e organização celular;
- Transportar estímulos mecânicos ou bioquímicos e, eventualmente, transportar, armazenar e entregar moléculas ativas que afetam a expressão do fenótipo.

Fatores como processabilidade e especificidade da aplicação influenciaram nas propriedades físico-químicas, biológicas, mecânicas e estruturais dos *scaffolds* (PRADAS; VICENT, 2015).

A primeira interação entre o sistema biológico e o material sintético acontece a partir da adsorção de proteínas da MEC (como a fibronectina, fibrinogênio, colágeno e etc) com a superfície sintética, essa interação é importante para o passo seguinte de adesão celular (a partir das proteínas da membrana celular), essas primeiras etapas são importantes para os motores do processo de regeneração tecidual e dos subsequentes processos de diferenciação, disseminação e viabilidade celular. A conformação das proteínas adsorvidas apresenta um papel significativo na interação com os receptores celulares. As propriedades químicas e topológicas da superfície possuem um papel relevante na conformação dessas proteínas e serão determinantes

para o desempenho biológico dos *scaffolds*, em vista, da biocompatibilidade do substrato (PRADAS; VICENT, 2015).

Dessa maneira é indispensável caracterizar a funcionalidade química da superfície do material, visto que envolve diretamente as respostas celulares, como na nucleação da superfície por compostos e sais do sistema biológico, como o exemplo da hidroxiapatita óssea. Os grupos funcionais químicos também atuam na adsorção de proteínas da MEC com o biomaterial, determinando inclusive a conformação que as proteínas adquiram. As propriedades microestruturais como o volume e a geometria dos poros são outros fatores que determinaram o desempenho dos *scaffolds* e o comportamento celular (PRADAS; VICENT, 2015).

A molhabilidade ou balanço hidrofílico/hidrofóbico são correlacionados a funcionalidade química da superfície (como -OH, -CH₃, -NH₂, etc), geralmente a presença de grupos funcionais polares caracterizam superfícies mais hidrofílicas (PRADAS; VICENT, 2015). A resposta celular em relação ao tipo de molhabilidade do substrato possuem controvérsias, alguns autores citam que superfícies muito hidrofílicas inibem a adsorção de proteínas pela competição que ocorre com água do meio. Porém, outros autores afirmam que superfícies pouco ou não molháveis (super hidrofóbicas) não são atraentes, pois acarretaram na adsorção e desnaturação irreversíveis da conformação e bioatividade nativas da proteína. Logo, “superfícies com molhabilidade moderada são capazes de absorver uma quantidade adequada de proteínas e, ao mesmo tempo, preservam sua conformação natural, resultando em respostas celulares adequadas” (PRADAS; VICENT, 2015).

As propriedades mecânicas do material, como resistência e rigidez (módulos de cisalhamento, tração ou compressão) possuem uma importância ímpar, pois é a partir dessas propriedades que os sinais de mecanotransdução são recebidos e transmitidos pelas células, assim como diferentes módulos são representativos para diferentes órgãos, como do cérebro e dos ossos (PRADAS; VICENT, 2015).

Algumas das características mecânicas superficiais, como a rigidez da superfície, influenciam diretamente na disseminação e motilidade celular, como é caso de substratos rígidos que induzem a interação célula-célula, conduzindo a um conjunto mais organizado de células (PRADAS; VICENT, 2015). (PRADAS; VICENT,

2015) classificam as irregularidades da superfície do material como macrodureza (100 µm a milímetros), microdureza (100 nm – 100 µm) e nanodureza (<100 nm), dentre esses a macrodureza é a que responde melhor na integração entre o implante e o tecido vivo.

A topografia do material pode ser descrita como superfície de topografia aleatória ou padronizada, esta última ocorre na elaboração de topografia com controle de gravuras (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018). Os padrões ou gravuras na topografia possui influência direta no formato e na migração celular, assim como na funcionalidade da síntese proteica e da expressão genica (PRADAS; VICENT, 2015; STEVENS, 2005). A porosidade, rugosidade e tamanho de poros das topografias aleatórias são alguns dos aspectos que também influenciam na adsorção das proteínas com o substrato (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018). A área de adesão celular é restringida pelo tamanho das rugosidades em microescala, fato oposto para as rugosidades em nanoescala, as quais induzem o aumento da interação e proliferação celular na superfície do substrato (PRADAS; VICENT, 2015).

Com esse entendimento sobre as propriedades e interações da superfície do biomaterial com o meio biológico, os tratamentos superficiais visam controlar as características como molhabilidade, rugosidade, energia livre superficial, etc, afim de melhorar suas respostas de bioatividade e biocompatibilidade, aprimorando os biomateriais existentes, sem a necessidade de sintetizar novos.

1.5.2. Modificação superficial úmida/química (*Wet-chemical*)

A maioria dos métodos químicos de tratamento de superfície envolvem procedimentos úmidos nos quais o polímero é imerso ou revestido/pulverizado com uma substância química para melhorar suas propriedades de superfície, bem como remover sujeiras e micróbios da superfície para facilitar um ambiente estéril, adequado para aplicações biomédicas (NEMANI *et al.*, 2018). Esse procedimento aumenta a energia superficial dos polímeros a partir da oxidação de grupos funcionais específicos e atua devido a interação do solvente (e.g. ácidos, bases e sol-gel) com as camadas internas da matriz polimérica, conseguindo uma interação em larga escala e sendo uma opção prática e de baixo custo (NEMANI *et al.*, 2018).

Existe uma grande diversidade de reagentes e solventes que podem ser utilizados para tratar superficialmente uma ampla variedade de polímeros, porém se faz necessário controlar as variáveis do processo como a força do reagente, a composição do material, tempo de tratamento e a temperatura (NEMANI *et al.*, 2018). Deve-se levar em consideração que a maioria dos polímeros pode ser expostos a um intervalo de baixas temperaturas sem que ocorra a degradação química e deformação física do material (FABBRI; MESSORI, 2017). Na maioria dos procedimentos úmidos é conveniente lavar e secar o material após o final do tratamento, o que produzirá resíduos indesejados de solvente para cada tratamento realizado (FABBRI; MESSORI, 2017; NEMANI *et al.*, 2018).

ANIA *et al.* (2002) estudaram diferentes soluções como de hidróxido de sódio (NaOH), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e ácido clorídrico (HCl) para controlar a “molhabilidade” (hidrofobicidade) do polímero PLGA, afim de avaliar a interação com diferentes tipos de células. Os tratamentos úmidos diminuíram o ângulo de contato (WCA) (medida utilizada para caracterizar a molhabilidade e o caráter hidrofílico ou hidrofóbico da superfície) para todas as amostras e foi caracterizado que houve um processo de oxidação da superfície, gerando grupos oxigenados polares, sendo mais presente no tratamento usando HCl. O estudo também avaliou que houve um aumento da adesão e crescimento celular para o PLGA tratado superficialmente.

DÍEZ-BUITRAGO *et al.* (2020) estudaram os efeitos da modificação superficial por *wet-chemical* em substratos de poliestireno clorossufonado. Foram usadas diferentes soluções químicas para atingir diferentes substratos, como tratamentos por aminação, carboxilação e adição de alcenos. Os resultados de WCA demonstraram que houve um aumento da hidrofiliabilidade das amostras tratadas, otimizando e adequando o material para aplicações bioquímicas. A Análise de Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) revelou um aumento ou surgimento dos componentes químicos relacionados aos tipos de tratamento que foi realizado, como o aumento da porcentagem de nitrogênio na superfície tratada com aminação. Por fim, o trabalho demonstra que o tratamento da superfície do polímero amplia a faixa de trabalho do poliestireno clorossufonado, fabricando plataformas de PS com triagem fácil e rápida para conseguir melhores superfícies dependendo do tipo de aplicação bioanalítica.

RUDOLPH *et al.* (2015) analisou cinco polímeros diferentes (poli (L-lactídeo) PLLA, poli(D, L-lactídeo) PDLLA, poli (L-lactídeo-co-glicolídeo) P (LLA-co-GA), poli (D, L-lactídeo-co -glicólido) P (DLLA-co-GA) e poli (L-lactídeo-co- ϵ -caprolactona), P(LLA-co-CL)) com e sem modificação superficial em estudos *in vitro*, onde foram usados tratamentos *wet-chemical* (com soluções de NaOH e etilenodiamina (EDA)) e com plasma usando diferentes atmosferas (O_2 e NH_3). Os resultados demonstraram que o tratamento químico por via úmida e por plasma melhorou significativamente a hemocompatibilidade desses polímeros.

1.5.3. Modificação superficial por Plasma

O tratamento de plasma é um dos métodos mais difundido e utilizados na modificação superficial de polímeros, algumas das vantagens do método é ser rápido e não utilizar solvente, tornando-o ecologicamente correto (NEMANI *et al.*, 2018). De forma geral o plasma é gerado pela exposição de partículas em fase gasosa (como elétrons livre, íons e radicais, contendo carga elétrica líquida quase nula) a um fluxo de alta energia, como radiação ou campo elétrico (NEMANI *et al.*, 2018). O plasma mais utilizado é o chamados não térmico (frio), já que o plasma térmico pode causar degradação na superfície dos polímeros, dessa forma o plasma não térmico possui vantagens em tratar superfícies sensíveis ao calor (NEMANI *et al.*, 2018).

O plasma geralmente é utilizado como meio de grafitização, onde se permite funcionalizar superfície do material associado algum reagente em solução (NEMANI *et al.*, 2018; SUN *et al.*, 2020). Outros trabalhos utilizam atmosfera controlada de gases inertes de forma a obter grupos funcionais orgânicos específicos (como OH e NH_2) na superfície do substrato, são usados gases como oxigênio, argônio, nitrogênio, dióxido de carbono, gases fluorados, etc (NEMANI *et al.*, 2018). Em outros casos, o ambiente em que o material está exposto não é controlado, geralmente citado como ambiente atmosférico com clara presença de vapores de água e gases O_2 , ocasionando à formação de grupos polares e hidrofílicos, como peróxidos e hidróxidos, na superfície (NEMANI *et al.*, 2018).

Variáveis como potência, tempo, frequência e pressão do gerador de plasma, além do tipo de gás e característica do material tratado são as principais condições a

serem controladas para melhorar a performance do tratamento (JELIL, 2015; NEMANI *et al.*, 2018).

Medidas de WCA logo após o tratamento por plasma relatam a ocorrência de mudança abrupta do caráter hidrofóbico para hidrofílico, porém essa mudança é conservada parcialmente conforme a amostra envelhece (NEDELA; SLEPICKA; ŠVORCÍK, 2017). Um dos maiores desafios para o tratamento de plasma é conservar ou reter por um longo período as propriedades induzidas na superfície do polímero (NEMANI *et al.*, 2018). O efeito do envelhecimento é influenciado pelas condições de armazenamento, o tipo de gás usado no tratamento e o grau de cristalinidade do material (MORENT *et al.*, 2007; MORRA; OCCHIELLO; GARBASSI, 1989; MURAKAMI; KURODA; OSAWA, 1998). Tanto o grau de cristalinidade menores, como temperaturas mais altas, facilitam o rearranjo dos grupos da superfície (BRENNAN *et al.*, 1991; JELIL, 2015). Esse efeito pode ser explicado pela reorientação termodinâmica dos grupos funcionais polares induzindo a redução da energia superficial, assim como pela difusão dos grupos químicos polares na matriz polimérica (JELIL, 2015; YUN *et al.*, 2004).

No trabalho relatado por DOLCI *et al.* (2014) demonstram a efetividade do tratamento por plasma na modificação superficial de *scaffolds* eletrofiados (fibras produzidas por eletro fiação) de PLGA, onde em 60 segundos de tratamento foi possível alterar o WCA de 120° para 20°, havendo uma mudança de caráter hidrofóbico para hidrofílico da superfície. A partir da análise de envelhecimento foi demonstrado que a capacidade de manter a modificação superficial foi de 5 dias. Conforme o resultado de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) também foi possível elucidar que essa mudança de WCA foi devido a alteração química na superfície, caracterizada pelo surgimento de grupos ácidos carboxílicos no substrato tratado. Os resultados *in vitro* demonstraram maior biocompatibilidade do *scaffold* tratado usando plasma.

O tratamento superficial do PLGA usando plasma é relatado em diversos estudos, como o trabalho de AYYOUB; KIM, (2018), onde estudaram a molhabilidade do PLGA modificado com plasma em atmosfera O₂. As amostras de PLGA sintetizadas com diferentes frações molares de monômeros, sendo 80:20 de ácido

lático:ácido glicólico (PLGA 20) e 50:50 de ácido lático:ácido glicólico (PLGA 50) foram tratadas por com gravura de íons reativos e plasma em atmosfera de oxigênio, com vazão de gás de 5 cm/min por 2 min de tratamento. O resultado de molhabilidade para o PLGA 20 foi de 72° para 33° e do PLGA 50 não foi possível mensurar, de modo que a gota foi totalmente absorvida pelo polímero.

Em outro estudo sobre a modificação superficial do PLGA, porém dirigido por LIU, P. *et al.* (2018), demonstraram que o tratamento de plasma em *scaffolds* de PLGA poroso é rápido e eficiente, com 120 segundos de tratamento é possível obter uma alteração do WCA do substrato de PLGA de 120° para 5°, obtendo uma superfície de caráter super hidrofílico. Os resultados *in vitro* demonstraram que a modificação superficial dos *scaffolds* melhora as interações com as células e tecidos.

KHORASANI; MIRZADEH; IRANI, (2008) estudaram o tratamento com plasma por rádio frequência (RF) em atmosfera de O₂ para modificar a superfície do poli (ácido L-lático) (PLLA) e poli (D,L-ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA). As amostras foram colocadas dentro de um reator tubular Pyrex para tratamento. A potência do eletrodo foi de 30 W para um tempo de tratamento com plasma de 2 min. O WCA inicial era de 74,5° e após o tratamento diminuiu para 36,6°. Após 4h no ensaio de envelhecimento o WCA apresentou 51°, exibindo que a estabilidade da superfície entre tratamento de plasma e a reestruturação do polímero é pequena. Foi realizado o estudo de cultura celular das células nervosas B65 nos *scaffolds* de PLGA não tratado e tratado com plasma, os resultados demonstraram que houve melhoria na bioatividade da superfície tratada com plasma e mostrou que a fixação e o crescimento de células B65 nestas superfícies são melhorados drasticamente.

1.5.4. Modificação superficial usando revestimento ou enxertos

O uso de enxertos nas superfícies de substrato com aplicação em biomaterial é uma excelente opção para aprimorar o controle do comportamento celular. Os enxertos podem ser classificados pelo método de inserção na superfície do polímero, como a utilização de monocamadas auto-organizadas (SAMs) e escovas (brushes) (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018; RATNER; HOFFMAN; MCARTHUR, 2020).

As SAMs são moléculas ou compostos funcionas que são adsorvidos de forma espontânea na superfície do material, formando camadas com alta regularidade, como exemplos podemos citar polietilenoglicol, proteínas, sílica, alumina e é possível utilizar até ácido desoxirribonucleico (DNA). É um método útil e de fácil elaboração para melhorar a compatibilidade com as células (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018). Porém, sua adsorção possui baixa estabilidade a longo prazo devido ao principal tipo de interação (Van der waals) envolvida entre as SAMs e a superfície do material (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018).

Outros métodos de enxertos reportados na literatura são os chamados enxertos por escovas, quais são ligados covalentemente na superfície dos polímeros (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018). Os polímeros enxertados por este método geralmente exibem melhores propriedades mecânicas e químicas e alta densidade de grupos funcionas (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018). Existe uma gama de grupos que podem ser aplicados como escovas.

Os enxertos por escovas podem ser classificados por três tipos, os “enxerto de” (*grafting-to*), “enxertia para” (*grafting-from*) e “enxertando através” (*grafting-through*) (SUN *et al.*, 2020). Todos apresentam vantagens e desvantagens em relação ao outro, como na simplicidade e facilidade de aplicação do método, na distribuição do peso molecular, na precisão dos enxertos, na especificidade do grupo a ser enxertado e na densidade e espessura dos enxertos (SUN *et al.*, 2020). O método de “enxertia para” é o mais empregado e se baseia em depositar iniciadores na superfície do polímero para iniciar uma reação de polimerização in situ do monômero a ser enxertado (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018; SUN *et al.*, 2020). Por este motivo a reação também pode ser chamada de “polimerização iniciada na superfície” (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018). É uma abordagem precisa e útil no controle da espessura, composição e arquitetura das escovas enxertadas na superfície dos materiais (CHEN, L.; YAN; ZHENG, 2018).

1.5.5. Modificação superficial por Radiação Ultravioleta

A modificação superficial utilizando irradiação ultravioleta (UV) é outro método eficaz para alterar as características químicas, morfológicas e de molhabilidade da superfície polimérica. A modificação por UV é um método simples com baixo custo

operacional e de aparatos, não necessita de solventes e funciona em ambiente atmosférico.

A radiação UV pode ser separada conforme os comprimentos de onda e suas modificações no polímero (HETEMI; PINSON, 2017). Os comprimentos de onda entre 200-400 nm são os mais utilizados para funcionalização da superfície, porém, ocasionalmente, penetram no interior do polímero e causam danos na estrutura molecular (HETEMI; PINSON, 2017), os comprimentos de onda menores que 200 nm na presença de gases como ácido acrílico (AA), O₂ e NH₃ podem incorporar grupos funcionais oxigenados, nitrogenados, etc, assim alterando a energia e molhabilidade da superfície (HETEMI; PINSON, 2017). A radiação ultravioleta extrema (10-120 nm) induz na ablação superficial e carbonização do polímero (HETEMI; PINSON, 2017).

Os mecanismos de funcionalização por UV são geralmente representados por formação de espécies reativas como radicais livres e estados excitados, por exemplo, em ambiente atmosférico ou em presença de gás oxigênio a radiação UV vai originar a formação de espécies reativas do oxigênio (ERO) (moleculares ou atômicas) (KONDO *et al.*, 2017). Por mecanismo de radicais livres, as ERO reagiram com a superfície do material, funcionalizando-a com grupos oxigenados (-OH, -OOH, -C=O, -COOH, etc). A radiação UV também proporciona a quebra das ligações químicas da cadeia polimérica (e.g. C-C, C-H, C=C, etc) gerando radicais moleculares, que por sua vez reagem com as moléculas, átomos e íons que estão expostos na superfície do polímero (HETEMI; PINSON, 2017; KONDO *et al.*, 2017; RATNER; HOFFMAN; MCARTHUR, 2020).

Fatores experimentais como a intensidade e o comprimento de onda emitido pela lâmpada ou a fonte emissão UV, a distância entre a amostra e a lâmpada, o tempo de tratamento, a temperatura, a umidade, a natureza do substrato e o tipo de grupo a ser enxertado influenciaram diretamente na eficiência da modificação superficial, ou seja, na sua morfologia, molhabilidade e outros aspectos químicos e físicos da superfície (HETEMI; PINSON, 2017; KONDO *et al.*, 2017; RATNER; HOFFMAN; MCARTHUR, 2020).

Estudos realizados já demonstram a efetividade da modificação superficial utilizando radiações eletromagnéticas UV para aumentar a hidrofiliabilidade de

polímeros como poliésteres, polissulfonas, poli-imidas (PA), poliestirenos. KESSLER *et al.* (2013) comparou e demonstrou o aumento da molhabilidade do polímero poli(sulfona) utilizando radiação UV e plasma na presença de atmosfera de O₂(g) e vapor de acrílico. Neste estudo se utilizou a lâmpada comercial de mercúrio de pressão média (250 W) colimada com uma lente de quartzo de 2,54 mm de diâmetro. Os resultados demonstraram que em ambas atmosferas se obteve WCA próximos de 6° com 120 min de irradiação UV, o ângulo antes do tratamento era de 80°. Esse aumento da hidrofiliidade é explicado devido à adição de grupos hidroxilas e carbonilas na superfície do material, esses grupos foram enxertados pela conversão de C=C para C=O. Os filmes de poli(sulfona) tratados não retomaram suas superfícies hidrofóbicas após o envelhecimento da amostra, diferentemente da amostra tratada por plasma que restaurou sua superfície. A técnica de UV se mostrou mais eficiente e simples, sendo capaz de manter por mais tempo a integridade da nova superfície modificada.

RUSU *et al.* (2020) avaliou a modificação de PA por irradiação UV afim de alterar seu caráter hidrofóbico e de baixa energia superficial, avaliando também a proliferação e comportamento celular nos polímeros tratados. Rusu e colaboradores (2020) utilizaram uma lâmpada portátil de UV com comprimento de onda de 254 nm (8W, 230 V, 50 Hz, 0,18 Amp) para realizar o tratamento. Fixaram a distância de 15 cm entre os filmes poliméricos e a lâmpada, realizaram o ensaio em ambiente atmosférico e temperatura ambiente, sem necessidade de fontes de O₂, o tempo total de tratamento foi de 10 horas. As amostras se tornaram mais molháveis com o tratamento por UV, porém foi constatado uma dependência da estrutura química e da natureza da PA para ocorrência da diminuição da molhabilidade. Essas amostras que exibiram um caráter mais hidrofílico tiveram um acréscimo na densidade celular de fibroblastos, revelando que o UV influenciou substancialmente a adesão e crescimento de fibroblastos nos filmes de PA analisados.

No trabalho de KONDO *et al.* (2017), verificaram a influência das ERO geradas por UV na modificação superficial de PA. Filmes de PA foram expostos a lâmpada de UV 200 W (com duas linhas principais de emissão de 185 nm e 254 nm), a uma distância de 6,5 cm e sob ambiente controlado de gás O₂, os tempos de tratamento foram fixados em 10 minutos. Os filmes de PA irradiados por UV apresentaram menor

WCA, exibiram inicialmente $75,0^\circ \pm 3,0^\circ$ e após o tratamento se tornou $21,3^\circ \pm 1,1^\circ$. Esse aumento é explicado principalmente pela modificação química da superfície, já que a rugosidade ou morfologia do material não se alterou após o tratamento. A caracterização por XPS demonstrou que os filmes tratados por UV foram oxidados e apresentaram um aumento dos grupos funcionais hidrofílicos como C=O e diminuição de grupos alifáticos C-C e C-H.

HOSOYA; OYA; IWAMORI, (2020) avaliaram as características superficiais do poliestireno (PS) quando submetido a ERO gerados por irradiação UV (com duas linhas principais de emissão de 185 nm e 254 nm). As amostras foram tratadas na distância de 7 cm da lâmpada de UV, com tempo de tratamento de 20 a 60 min, sob ambiente controlado de gases O₂. Os resultados demonstraram que as ERO gerados por UV aumentaram os grupos hidrofílicos (C-O, C=O, COOH e O-CO-O) na superfície do PS conforme o aumento do temp

o de tratamento e por consequência diminui o WCA proporcionalmente, no tempo de 60 min de tratamento o WCA reduziu 30°.

BELMONTE *et al.* (2016) estudaram a modificação hidrofílica permanente do Polipropileno (PP) e Poli(álcool vinílico) (PVA) por irradiação de ultravioleta a vácuo (UVV) em atmosfera de nitrogênio inerte, logo após esses filmes foram expostos a oxigênio gasoso. A irradiação UVV foi realizada por uma fonte monocromática de Deutério (162 nm) de 140W. As irradiações foram realizadas em um reator de aço inoxidável com a fonte de excitação UVV. Durante a irradiação, um fluxo constante de atmosfera de nitrogênio inerte a 5 mL/s está presente no reator, quando era necessário, um gás reativo, como o oxigênio, era introduzido após o período de irradiação. A distância entre as amostras e a fonte foi mantida constante em 2,5 cm.

Os resultados obtidos por Belmonte e colaboradores (2016) demonstram que após 30 minutos de tratamento as superfícies tornaram-se superhidrofílicas, com WCA abaixo de 10°, quando os ângulos atingiram entre 35° e 40° a hidrofilicidade era permanente ou resistiam ao envelhecimento por longos períodos. A principal contribuição para o aumento da hidrofilicidade dos filmes de PP e PVA foram a formação de grupos oxigenantes, como hidroxilas e carbonilas, na superfície do material, esses grupos surgem após a quebra das ligações C=C e formação de

radicais livre por causa da irradiação UVV, e que sob atmosfera de O₂(g) ocorre novas ligação química com o oxigênio. O aumento do teor de oxigênio na superfície do polímero após a irradiação mostrou a extensão da oxidação da superfície pela combinação de luz UVV e exposição à atmosfera de oxigênio.

Tratamentos de PLA utilizando irradiação UV foram reportados por KOO; JANG, (2008). Nos experimentos foi utilizado irradiação UV sob atmosfera ozônio, quais são gerados quando o oxigênio é irradiado por UV no comprimento de onda de 184,9 nm. Os resultados apresentaram que o PLA quando irradiado por UV é degradado e oxidado, convertendo-o para uma natureza mais hidrofílica, caracterizado a partir do WCA que descreu de 61,4° para 39,2°(KOO; JANG, 2008).

Scaffolds de colágeno também já foram modificados com o tratamento de UV/Ozônio para aprimorar colonização de células. Os resultados reportaram a diminuição do WCA do scaffolds com 50 segundos de exposição, qual passaram de 50° para 39°, essa diminuição de WCA é devido ao aumento de grupos hidrofílicos na superfície (C-O, O=C-N, O-C=O) (LIU, C. *et al.*, 2010). Os autores também constataram que o processamento do scaffold de colágeno com UV/Ozônio melhorou a proliferação celular, além de migração celular para o interior do scaffold, levando a colonização e proliferação uniforme (LIU, C. *et al.*, 2010).

Em outro estudo usando irradiação UV/Ozônio foi avaliado as interações das células de Schwann, células do tecido nervoso, com os filmes polimérico, foi avaliado diferentes geometrias e hidrofiliidade (MOBASSERI; TERENCEHI; DOWNES, 2014). Para o aumento da hidrofiliidade foi realizado o tratamento de irradiação UV/Ozônio nos scaffolds poliméricos da blenda PCL/PLA. A condição ideal encontrada foi de 6 cm de distância da lâmpada UV e 5 minutos de tratamento. Os filmes de PLC/PLA tratados por UV demonstraram diferença de WCA pouco significativa (78,10° ± 11,06 para 70,31 ± 6,20°). Porém, esse tempo e distancia foram escolhidos pois apresentavam maior redução do WCA e danos mínimos na superfície da amostra. Os resultados de cultura celular demonstraram que os efeitos sinérgicos das características físicas combinados com o tratamento com UV/ozônio têm o potencial de melhorar a morfologia e o alinhamento das células de Schwann.

Scaffolds fibrosos de PLGA foram irradiados com uma lâmpada germicida comercial de UV com comprimento de onda de 254 nm, em uma distância fixa de 40 cm afim de verificar a o efeito da degradabilidade *in vitro* das fibras (YIXIANG *et al.*, 2008). Ensaio de degradação *in vitro* das amostras de fibras irradiadas com UV demonstrou um aumento da degradação em comparação as fibras não irradiadas, esse aumento ocorreu por danos causados na estrutura fibrosa do polímero, reduzindo conseqüentemente suas propriedades mecânicas.

Filmes de PLGA tratados usando lâmpadas UV com comprimentos de onda de 172 nm e 126 nm, demonstraram quase a mesma redução do WCA, reduzindo-os de 70° para aproximadamente 10° após 50 segundos de tratamento (WANG; LIAN; CHEN, 2015).

Como parte do levantamento bibliográfico foi avaliado os efeitos da radiação UV no poli-isopreno e poli-isopreno epoxidado. No estudo realizado por DOS SANTOS; SUAREZ; RUBIM, (2005) demonstrando a fotodegradação do poliisopreno sintético e natural por diferentes fontes de radiação UV, revelaram que a degradação do PI depende do comprimento de onda da radiação UV utilizada, bem como do tipo de isômero e das pré-condições entre borracha sintética ou natural.

Os experimentos de fotodegradação foram realizados usando um reator fotoquímico com duas lâmpadas de reatores fotoquímicos de Rayonet (SO N.E. Ultra-violeta Co., cerca de 8,0-9,0 mW cm⁻²), emitindo a 253, 300 ou 350 nm. As amostras eram colocadas num carrossel rotativo e ajustada a distância entre as fontes de luz UV e as amostras a cerca de 10 cm. A temperatura ambiente foi de 20 °C e um ventilador interno garantiu uma temperatura constante, em torno de 25 °C, dentro do reator fotoquímico. As amostras padrão (cis-trans e PI) foram irradiadas por 24 horas (ou 48 horas a 350 nm) e as naturais por 6 horas.

Após a exposição de irradiação UV de 2 horas a 253 nm, 4h em 300 nm e 20h a 350 nm o isômero cis-1,4-poliisopreno apresentou intensas bandas de absorção no infravermelho, características de grupos oxigenados, como hidroxilas e carbonilas. Para o trans-poliisopreno foi necessário mais tempo de tratamento para o surgimento das bandas no infravermelho de grupos funcionais de oxigênio.

Neste estudo visamos modificar a molhabilidade por irradiação UV da blenda polimérica de PLGA/PI_{epox} obtidas por *solvent casting*. O método de modificação por UV foi escolhido devido sua facilidade de acesso, de custo e de usabilidade, não havendo necessidade de treinamento especializado.

A pesquisa irá contribuir para compreender a estabilidade química, térmica e hidrolítica da blenda polimérica quando irradiada por UV. A avaliação da modificação do caráter hidrofílico/hidrofóbico possui grande relevância, pois como discutido, essa característica irá influenciar na biocompatibilidade do scaffolds quando aplicado na engenharia de tecidos.

Dessa forma, corroborando para o estudo de desenvolvimento de novos materiais que serviram como prováveis substitutos de tecidos humanos e acrescentando mais informações sobre as características e propriedades da blenda de PLGA/PI_{epox}, patenteada solicitada e estudada desde de 2011 pelo grupo do Laboratório de Biomateriais e Cerâmicas Avançadas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar e caracterizar o tratamento da blenda polimérica de PI_{epox}/PLGA usando irradiação ultravioleta com fins de potencial aplicabilidade na Engenharia de Tecidos.

- Caracterizar termicamente a blenda de PLGA/PI_{epox} obtida a partir da BNE epoxidada.
- Avaliar a molhabilidade da blenda de PLGA/PI_{epox} quando irradiada por radiação UV.
- Avaliar as alterações químicas e físicas ocasionadas pela irradiação UV sobre a blenda de PLGA/PI_{epox}.
- Avaliar a estabilidade hidrolítica da blenda de PLGA/PI_{epox} tratada por UV.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia aplicada neste estudo está resumida na figura 4.

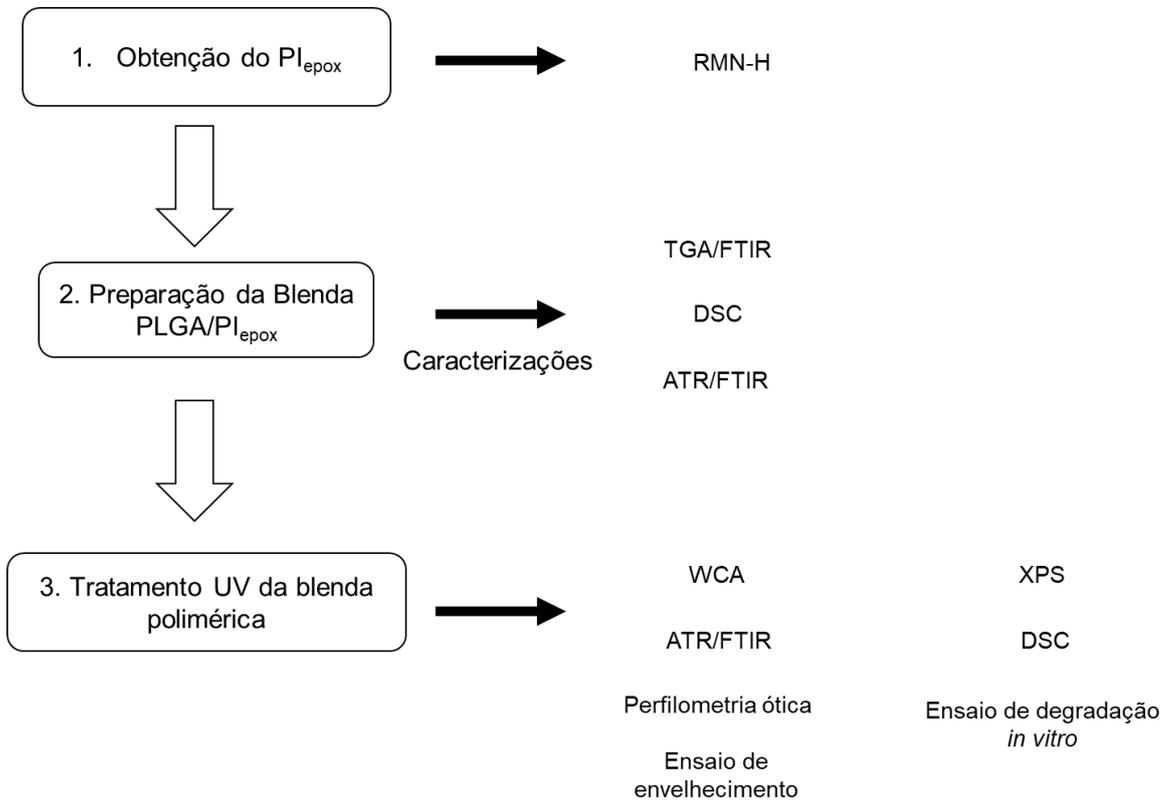


Figura 4 - Fluxograma da metodologia.

3.1. Purificação do PI_{epox}

A BNE a 50 % de epoxidação foi doada por Sanyo Corporation of America (M.M. Guthrie PCL, Tailândia). O PLGA obtido na Purac Biomaterials (Holanda) é um copolímero constituído de 85 mol% de comonômero L-lático e 15 mol% de comonômero glicólico, o PLGA foi utilizado como obtido, sem a necessidade de purificação.

A purificação da BNE foi realizada com clorofórmio em uma proporção de 10 g de BNE para 300 mL de clorofórmio (Synth, Brasil), foi utilizado agitação magnética para facilitar a solubilização do polímero, após total solubilização a borracha foi precipitada em metanol (Dinâmica, Brasil). O precipitado foi seco em estufa à 40°C por 24 horas. O procedimento de purificação foi repetido três vezes sob a mesma

amostra. A BNE purificada foi denominada PI_{epox} , a purificação está resumida na figura 5.

3.2. Preparação da blenda de PLGA/ PI_{epox}

Foi realizado a mistura em 500 mL de clorofórmio em proporção mássica de 6:4 (g/g) de PLGA e PI_{epox} e homogeneizado sob agitação por 48 horas, em seguida a mistura foi colocada em um recipiente de vidro para volatilização do solvente, procedimento conhecido como *solvent casting*, após a evaporação do solvente o filme polimérico foi seco na estufa em 40 °C por 48 horas, após esse tempo o material foi armazenado em dessecador para futuras caracterizações e modificações superficial. O procedimento para preparação da blenda foi baseado em estudos posteriores (GUERRA, N.B., 2018; MARQUES, D. R. *et al.*, 2017) e está sintetizado na figura 5.

3.3. Tratamento UV da blenda polimérica

A blenda em filme obtida por *solvent casting* foi tratada por irradiação ultravioleta (UV). Foi utilizado uma lâmpada de vapor mercúrio de 250 W sem bulbo externo a uma distância de ~8 cm entre a amostra e a lâmpada, o experimento foi realizado em capela com temperatura externa ambiente (~22 °C) e utilizou-se um *cooler* para reduzir a temperatura próximo ao filme (~50 °C), medido com termômetro de mercúrio na mesma distância de trabalho) devido ao calor gerado pela lâmpada. Foram estudados os tempos de irradiação de 15, 30, 60, 90 e 120 minutos. O tratamento foi realizado em atmosfera ambiente, sem solventes ou introdução de gases O_2 . Após os tratamentos sob irradiação UV as amostras foram armazenadas em dessecador para posteriores caracterizações.

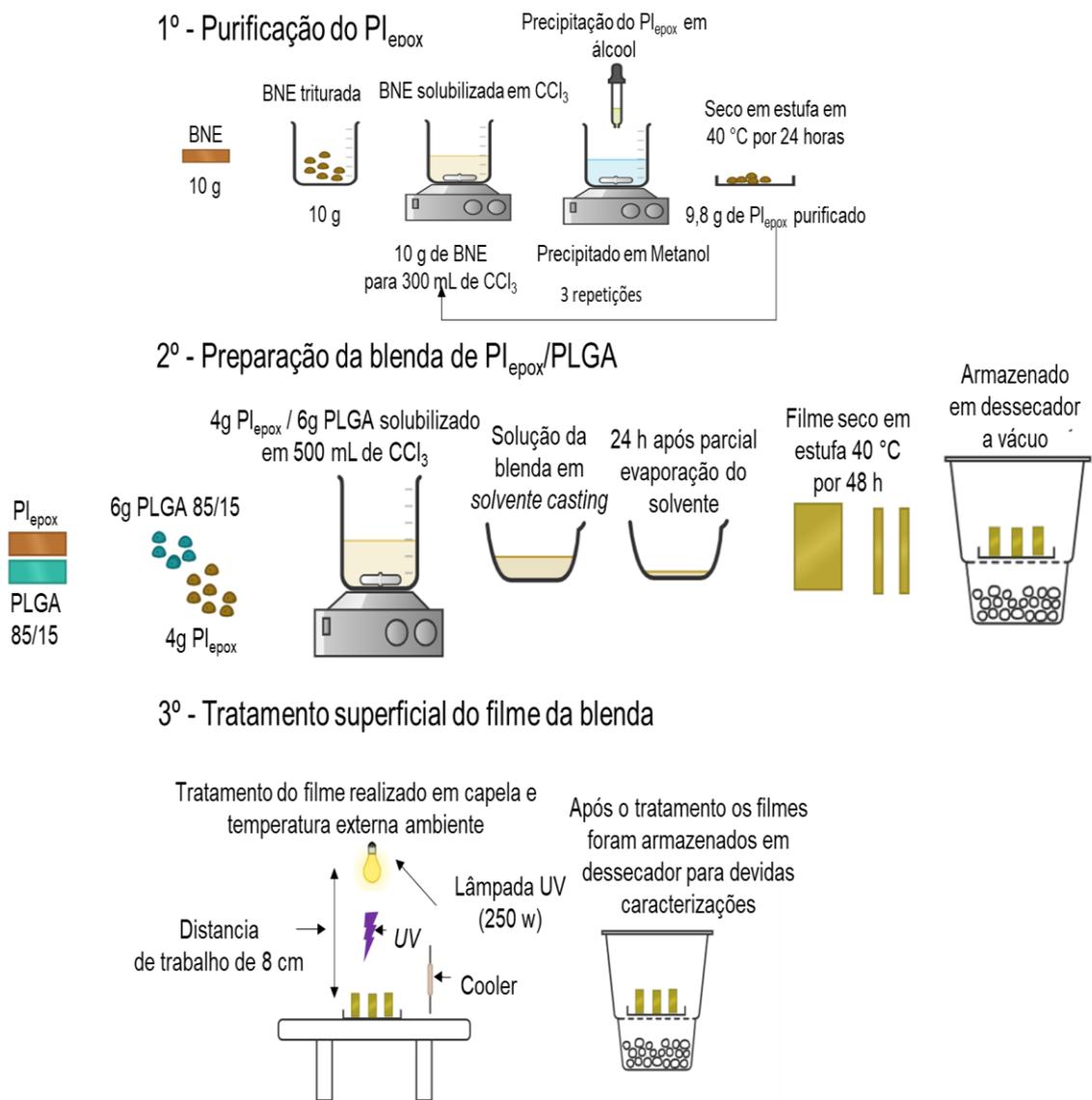


Figura 5 – Resumo da metodologia da síntese da blenda polimérica de PLGA/PIepox e do tratamento por UV.

3.4. Caracterizações

As amostras realizadas foram retiradas de dois filmes da blenda de PLGA/PI_{epox} obtidos pela metodologia exposta. Na tabela 1 está descrito o número de amostra para cada análise.

Tabela 1 – Número de amostras para cada análise e caracterização realizada.

Análises	PI _{epox}	PLGA	Amostras de Blenda	Amostras de blenda Irradiada por UV para cada tempo
RMN-H	1			
TGA/FTIR			1	
DSC	1		1	1
ATR/FTIR			3*	3*
Perfilometria óptica			1*	1*
WCA			2*	2*
XPS	1	1	1*	1*
Degradação <i>in vitro</i>			3 ¹	3 ¹

*Para as análises superficiais foi utilizado o lado rugoso da blenda e foi caracterizado três pontos distintos da superfície.

¹Para análise de degradação *in vitro* foram realizadas triplicatas para cada tempo de degradação (7, 14, 21, 28 e 42 dias).

3.4.1. Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-H)

A RMN-H foi utilizada para avaliar a estrutura química e o grau de epoxidação do PI_{epox}.

Resumidamente a amostra de RMN é submetida a um forte campo magnético externo e o campo magnético do núcleo do átomo poderá alinhar-se ou não com esse campo externo. Os núcleos alinhados são induzidos a absorver energia (pulso de radiofrequência) e alterar a sua orientação de spin. Quando o pulso é descontinuado o núcleo retorna ao estado fundamental e liberará energia. A diferença de energia entre os estados de spin possíveis é quantizada e resulta no sinal detectado pelo RMN (LAMBERT; MAZZOLA, 2004). Pelo efeito de blindagem e pelo deslocamento químico é possível prever qual o ambiente químico de distintos núcleos da amostra estudada. Para mais detalhes sobre a técnica a literatura pode ser consultada (LAMBERT; MAZZOLA, 2004).

Para realização da análise o PI_{epox} foi previamente diluído em clorofórmio deuterado (CDCl₃) (Sigma). A análise foi realizada no equipamento Bruker Avance III da Central Analítica do Instituto de Química (UFRGS), com tempo de aquisição de 2 segundos e os espectros foram gerados usando o software MestrlNova® e OriginLab®.

3.4.2. Análise Termogravimétrica (TGA)/Termogravimetria derivada (DTG) acoplada a Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Foi realizado a análise termogravimétrica da blenda para examinar sua temperatura de degradação e estabilidade térmica. A técnica termogravimétrica avalia a variação de massa da amostra em função da temperatura, com os resultados de TGA é possível investigar fenômenos térmicos como degradação, oxidação, evaporação, adsorção, etc (HATAKEYAMA; QUINN, 1999). A termogravimetria derivada (DTG) é obtida pela derivada da curva de TGA, derivando a massa em relação a temperatura ou tempo (dm/dT). Quando a taxa de alteração de massa é máxima o gráfico de derivada apresentará picos que substituem os degraus do termograma (HATAKEYAMA; QUINN, 1999).

A blenda polimérica de PLGA/PI_{epox} foi analisada no equipamento TGA 4000 (PerkinElmer) nos intervalos de temperatura de 30 °C até 550 °C usando taxa de varredura de 5 °C/min sob atmosfera de N₂. Para avaliar os componentes gasosos que são liberados durante a degradação térmica da blenda, a análise de TGA (TGA 4000) foi acoplada ao FTIR (FTIR Frontier) usando a linha de transferência TL 8000 FTIR-TGA Interface (PerkinElmer), utilizando da análise de gás evoluído. No *software* Pyris foram utilizados os mesmos parâmetros da análise de TGA. O espectro FTIR foi registrado a cada 6 s na faixa espectral entre 4000 - 450 cm⁻¹ com fator de resolução de 4 cm⁻¹. O *software* Timebase foi utilizado para coletar os dados do experimento, assim como analisar os dados de FTIR.

3.4.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A calorimetria de varredura diferencial (DSC) tem como objetivo medir a diferença de temperatura de uma amostra em relação a uma célula de referência controlada por um programa de temperatura (HATAKEYAMA; QUINN, 1999). A partir da análise de DSC é possível determinar o calor específico do material e as entalpias

de transição, além da T_g (HATAKEYAMA; QUINN, 1999). O ensaio de DSC foi realizado na blenda para avaliar suas propriedades térmicas e a miscibilidade entre os polímeros.

As amostras de blenda PLGA/PI_{epox} não irradiadas e irradiadas por UV foram analisadas no equipamento DSC Q2000 (TA Instruments), utilizou-se gás nitrogênio em uma vazão 50 mL/min. Para análise das amostras da blenda foram usadas as taxas de 10 °C/min e para o PI_{epox} foi utilizado 20 °C/min. O primeiro ciclo de aquecimento de 25 °C a 190 °C, em seguida foi realizado um ciclo de resfriamento de 190°C a -85°C e um último ciclo de aquecimento de -85 °C a 190 °C. As curvas foram geradas utilizando o software *TA Universal Analysis* e OriginLab®.

3.4.4. Ângulo de Contato (WCA)

A análise de ângulo de contato (WCA) se refere a técnica onde é possível verificar o balanço hidrofílico/hidrofóbico, assim como a molhabilidade e a energia de superfície de um material. O ângulo de contato (θ) pode ser correlacionado pelo equilíbrio das três forças de tensão superficial; líquido-vapor (γ_{LV}), sólido-vapor (γ_{SV}) e sólido-líquido (γ_{SL}). O ângulo θ pode ser calculado conforme equação de Young (KWOK *et al.*, 1997):

$$\gamma_{LV} \cos \theta = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad \text{Eq. 1}$$

O WCA foi determinado para as amostras de blenda polimérica tratada e não tratada por irradiação UV. Com o auxílio de uma microseringa foi dosado uma gota de água deionizada na superfície da amostra e com uma câmera acoplada ao equipamento foi possível realizar a captura de vídeo do contato da gota com a superfície do material por um tempo de 10 segundos. Afim avaliar a homogeneidade do substrato foi depositado e medido o WCA de 3 gotas em partes distintas da superfície, obtendo-se o WCA médio da amostra. As imagens foram digitalizadas utilizando equipamento Kruss DSA 30 do Laboratório Multiusuário de Análise de Superfícies (UFRGS) e *software* "Drop Shape Analysis System".

Ensaio de envelhecimento foi realizado afim de avaliar a estabilidade e conservação da modificação de WCA após o tratamento UV. Os WCA das amostras irradiadas e não tratadas foram analisados a cada 7 dias, durante 29 dias. Foi utilizado

ar comprido para retirar o acúmulo de água da superfície das amostras, sendo posteriormente armazenadas em temperatura ambiente dentro de uma placa de Petri descartável. Foi utilizado o mesmo procedimento de análise do WCA inicial, também se utilizando de 3 gotas em partes distintas da superfície, para se obter o WCA médio da amostra.

3.4.5. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) acoplado ao método de Refletância Total Atenuada (ATR)

O FTIR é uma técnica espectroscópica bastante comum para caracterização química qualitativa, quando acoplado com ATR é possível analisar as amostras de forma sólida sem necessidade de preparação adicional, como trituração ou prensar em *pellets*, tornando-a eficaz para caracterização química superficial. A análise foi realizada afim de caracterizar os grupos funcionais da superfície das amostras.

Descrevendo forma geral, o método de ATR ou também chamado de método de reflectância difusa consiste em pressionar a amostra em contato com o cristal do equipamento que é transparente ao feixe de infravermelho (IR), a refletância do feixe de infravermelho no cristal produzirá ondas evanescentes. As ondas evanescentes serão atenuadas nas amostras que absorvem energia na região do IR (VICKERMAN; GILMORE, 2009). O feixe atenuado retorna ao detector do espectrômetro de infravermelho e origina um interferograma, onde o software utilizará para gerar o espectro de IR (VICKERMAN; GILMORE, 2009).

As amostras tratadas e não tratadas em UV da blenda polimérica obtidas em formas de filme foram analisadas utilizando o espectrômetro FTIR Frontier (PerkinElmer) com o módulo de ATR. O espectro FTIR foi analisado na faixa espectral entre $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$ com fator de resolução de 4 cm^{-1} . Os espectros foram apresentados usando o *software* OriginLab®.

3.4.6. Perfilometria Óptica

A topografia da blenda polimérica foi analisada utilizando perfilometria óptica afim de avaliar o perfil das superfícies tratadas e não tratadas. Os dados obtidos pela técnica são apresentados como imagens bidimensionais ou tridimensionais. Um perfilômetro óptico é um tipo de microscópio no qual a luz de uma lâmpada é dividida

em dois caminhos por um divisor de feixe. Um caminho direciona a luz para a superfície da amostra e o outro caminho direciona a luz para um espelho de referência. Posteriormente, os feixes de luz se recombinaem e são enviados para o detector gerando a superfície topográfica no *software* (VISSCHER; STRUIK, 1994). Foram realizadas três medidas em partes diferentes da superfície de uma amostra, afim de avaliar a homogeneidade da superfície da blenda tratada ou não tratada e obter medidas estatísticas. As análises foram realizadas no perfilômetro óptico Contour GT-K da Bruker do Laboratório Multiusuário de Análise de Superfícies (UFRGS) utilizando o *software* Vision 64.

3.4.7. Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (XPS)

A análise utilizando o método espectroscópico de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) foi realizada afim de caracterizar a blenda tratada, possibilitando obter dados quantitativos dos elementos químicos e do ambiente químico (estrutura geométrica local, estado químico e ligações químicas) da superfície. A amostra é irradiada por um feixe de raios-X, a interação entre um fóton de raio-X e o elétrons das camadas externas totalmente preenchidas (*core-shell*) do átomo, causa uma transferência completa da energia do fóton para o elétron (BRIGGS, 1998). O elétron tem energia cinética suficiente para escapar da superfície da amostra. Este elétron é referido como um fotoelétron. Medindo a energia cinética do fotoelétron (E_k) e sabendo que $h\nu$ é a energia dos fótons do raio X e ϕ é a função de trabalho do espectrômetro, a energia de ligação do elétron no nível do núcleo (E_b) pode ser determinada usando a seguinte equação (BRIGGS, 1998):

$$E_b = h\nu - E_k - \phi \quad \text{Eq. 2}$$

As amostras de blenda polimérica tratada e não tratada foram depositadas sobre fita de cobre em porta amostras de molibdênio e transferidas sob atmosfera para a pré-câmara, a pressão na câmara de análise foi de 1×10^{-9} mbar. As medidas de XPS foram realizadas usando um equipamento OMICRON (CHA - Concentric Hemispherical Analyser), utilizando radiação Al/K α (1486,6 eV) e ânodo operado a 15 kV, 15mA e 225W. O espectro de varredura total ou espectro *Survey* foi obtido com uma energia de passagem de 50 eV e passo de 1 eV e a região específica de C 1s foi obtida em uma resolução maior, usando a energia de passagem de 10 eV e passo de

0.1 eV. O sinal do C 1s em 285 eV foi utilizado para calibração de todos os espectros. O “fitting” do sinal C 1s de alta resolução foi realizado no CasaXPS® usando a subtração de fundo “Shirley” e as funções “Gaussian-Lorentzian”. Essa e outras análises de obtenção gráfica foram realizados nos “softwares” CasaXPS® e OriginLab®.

3.4.8. Ensaio de degradação *in vitro*

O ensaio de degradação *in vitro* foi realizado para avaliar a perda de massa (degradabilidade) da amostra em uma solução tampão padronizada para esses tipos de teste. Foi utilizado a solução de tampão de fosfato com pH = 7,4 (8,0 g NaCl (Dinâmica), 0,2 g KCl (Vetec), 1,44 g Na₂HPO₄ (Dinâmica), 0,245 g KH₂PO₄ (Synth) em 1 litro de água destilada). As amostras de blenda tratada com os tempos de 60 e 120 minutos e não tratada foram cortadas em espécies de 1 cm x 1 cm e posteriormente imersas na solução de fosfato em uma placa para cultivo de células de 24 poços e incubados em estufa com temperatura de 37 °C. Após cada tempo de ensaio a amostra foi retirada para secar por 24 horas em estufa com temperatura de 37° C e 48 horas em dessecador a vácuo. O tempo total de ensaio foi de 42 dias, para cada dia de degradação as amostras tratadas e não tratadas foram realizadas em triplicata.

Os cálculos de perda de massa relativa foram realizados conforme a equação abaixo:

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{(M_s - M_i)}{M_i} * 100 \quad \text{Eq. 3.}$$

Onde M_i é massa inicial e M_s é massa seca após o tempo de incubação. Todas as amostras para cada dia de ensaio foram realizadas em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Purificação do PI_{epox}

4.1.1. RMN do PI_{epox}

A purificação da BNE a 50% de epoxidação foi realizada afim de minimizar qualquer impureza como proteínas ou resíduos tóxicos derivado da produção da industrial da mesma. O PI_{epox} obtido foi caracterizado por ¹H RMN para verificar a sua estrutura química e determinar a presença dos grupos epóxis e o grau de epoxidação, utilizando a seguinte equação (DAHAM *et al.*, 2018; GELLING, 1985):

$$Epoxy\% = \frac{Área_{2,7ppm}}{Área_{2,7ppm} + Área_{5,1ppm}} \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

A figura 6 apresenta o espectro de ressonância magnética nuclear do PI_{epox} purificado. A equação citada acima utiliza as áreas dos picos 2,7 ppm e 5,1 ppm e representam respectivamente os hidrogênios com hibridização sp³ do carbono epoxi e sp² do carbono vinílico (hidrogênios (e) e (b) da figura 6). Outros hidrogênios dos grupos CH₃ e CH₂ são observados no intervalo de 1 – 2,5 ppm, o valor de acima de 7 ppm é resquício do clorofórmio deuterado usado como solvente de análise (GUERRA, N.B., 2018; HAMZAH *et al.*, 2012).

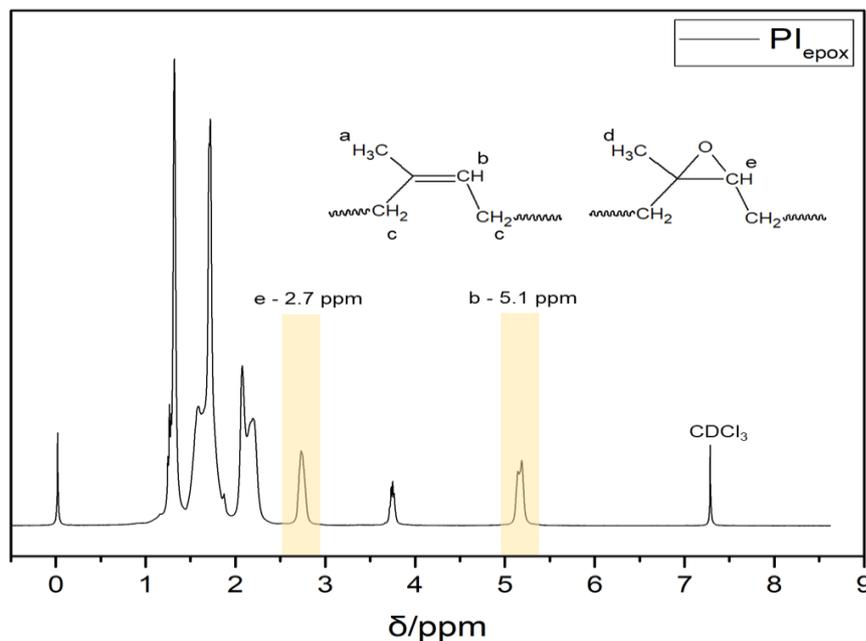


Figura 6 - Espectro de ¹H RMN do Poliisopreno epoxidado e em realce os sinais utilizados para calcular o grau de epoxidação.

Conforme a equação 4 foi obtido grau de epoxidação de $50\% \pm 2\%$ do PI purificado e foi compatível com a descrição do laudo técnico do produto doado, ou seja, a purificação não alterou a estrutura química da BNE. O espectro obtido é compatível com os dados da literatura para PI_{epox} (DA SILVA, V. M.; NUNES; DE SOUSA, 2017; HAMZAH *et al.*, 2012; LIN *et al.*, 2015).

É importante salientar a obtenção de poli-isopreno epoxidado a 50%, pois, conforme os relatos dos trabalhos anteriores, com a utilização do PI_{epox} a 50% de epoxidação foi possível obter ótimas respostas de adesão e crescimento celular (GUERRA *et al.*, 2018; HENCKES *et al.*, 2019). Após a confirmação da estrutura química e do grau de epoxidação do PI_{epox} foi realizado a combinação dos polímeros PLGA/PI_{epox} para formação da blenda.

4.2. Preparação da blenda de PLGA e PI_{epox}

4.2.1. TGA/DTG e TGA/FTIR

A TGA/DTG foi realizada afim de determinar as temperaturas de degradação e estabilidade térmica da blenda. Conforme a TGA, figura 7, é possível visualizar três degraus de degradação térmica. A primeira faixa de degradação entre 66 - 111 °C é resultado da saída do solvente das camadas internas do polímero, que por sua vez representa aproximadamente 7,63% em perda massa. No segundo intervalo entre 230 - 368 °C podemos visualizar a degradação térmica predominante do PLGA que corresponde a 61,60% da perda de massa, na última faixa de temperatura entre 433 - 493 °C ocorre o processo final de degradação térmica do PI_{epox} e representa 29,23% de massa perdida.

Múltiplos picos de degradação do PI_{epox} são comuns em ensaios de TGA, como é reportado no trabalho de HE *et al.* (2013), onde foi avaliada a degradação térmica da BN e da BNE 50%. No estudo foi verificado a ocorrência da degradação em duas etapas para ambas as borrachas. HE *et al.* (2013) encontrou o primeiro estágio de degradação da BNE ocorrendo na faixa de 200 – 440 °C e o segundo entre 440 – 550 °C. Para o copolímero 85/15 de PLGA é reportado na literatura a temperatura da taxa máxima (T_{max}) de decomposição da DTG na temperatura de 341 °C, com 97% de perda de massa (RIBEIRO, D.F.S., 2019).

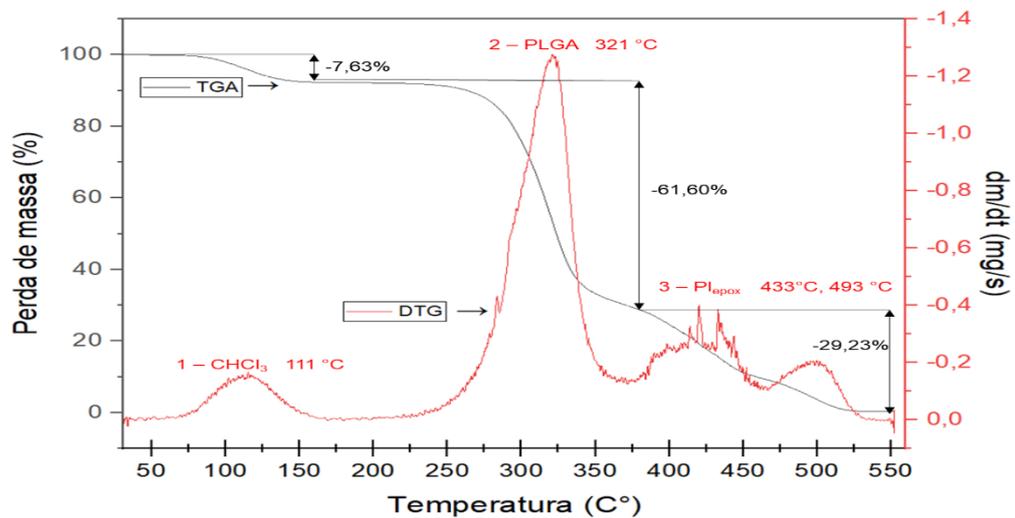


Figura 7 - Curva de decomposição térmica da blenda de PLGA/PI_{epox}. TGA – curva termogravimétrica e DTG – derivada da curva TGA.

Dessa forma, analisando os resultados obtidos na curva da DTG na figura 7, podemos verificar que na faixa entre 250 – 350 °C está ocorrendo uma perda de massa de ambos os polímeros PLGA e PI_{epox}, porém nesse intervalo de temperatura a maior perda de massa está associada ao PLGA, pois, conforme relatado na literatura o pico ou T_{max} é de 341 °C (RIBEIRO, 2019), quando misturado com o PI_{epox} podemos observar sua temperatura em 321 °C.

Do mesmo modo, os picos entre 360 – 550 °C são associados predominantemente à degradação do PI_{epox}, que também apresentou uma pequena variação em comparação com o valor da literatura de T_{max} próximos de 516 °C (HE *et al.*, 2013). O PI_{epox} na blenda polimérica exibiu dois T_{max}: um em ~433 °C e outro de 493 °C. A pequena variação dos valores de temperatura reportados neste trabalho em comparação com a literatura podem estar associados a fatores experimentais, como sensibilidade e outros parâmetros do equipamento.

O ensaio acoplado de TGA/FTIR nos possibilitou confirmar a partir dos espectros de infravermelho, figura 8, alguns dos compostos voláteis majoritários da degradação da blenda, principalmente na confirmação da presença de solvente residual na blenda. As bandas do espectro de FTIR na temperatura de 90 - 110 °C é associada diretamente com o espectro de clorofórmio (P.J. LINSTROM; W.G. MALLARD, 2018). A presença de clorofórmio nessa faixa de temperatura, é provavelmente relacionada ao fato de moléculas solventes presas no interior do

polímero, que conforme o aumento da temperatura podem evaporar devido a maior mobilidade da cadeia. Tal observação também foi constatada na análise termogravimétrica da blenda de PLGA/PI reportado por (MARQUES, D.R., 2015).

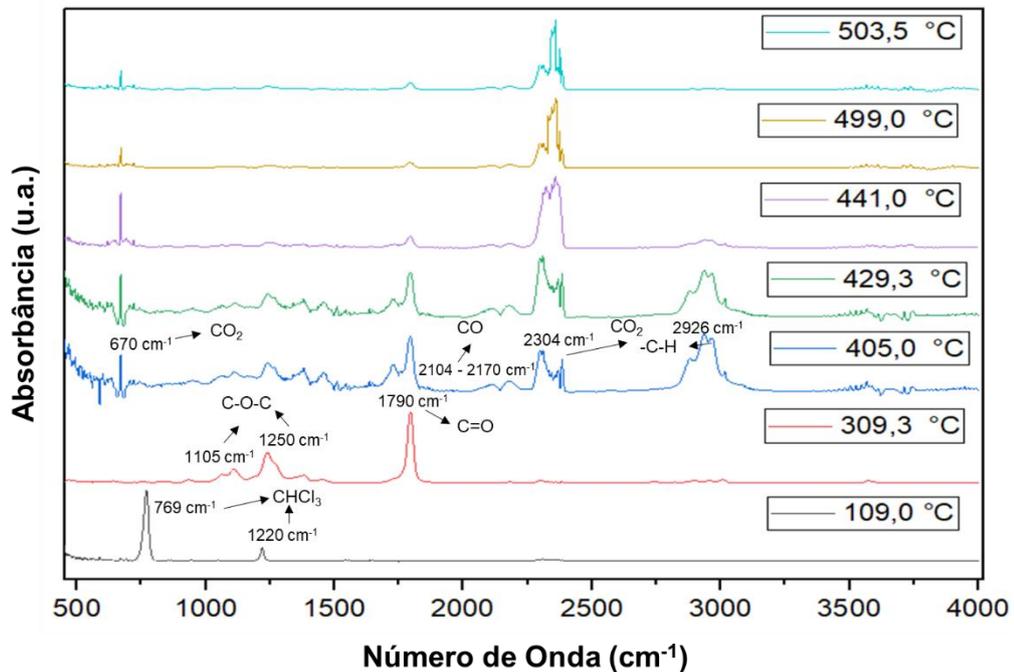


Figura 8 - Espectros de FTIR da blenda de PLGA/PI_{epox} em diferentes temperaturas de degradação térmica.

Nas temperaturas entre 250 – 350 °C os espectros de FTIR denotaram uma maior absorção de bandas relativas à vibração de éteres C-O-C (1100 a 1250 cm^{-1}) e carbonilas C=O (1790 cm^{-1}) que estão fortemente correlacionadas com as moléculas de degradação do PLGA. Na literatura é reportado que a degradação do PLGA é similar e resultante da degradação dos monômeros PLA e PGA, o principal mecanismo descrito é o rearranjo molecular ou “backbiting” não radicalar dos grupos ésteres envolvendo os grupos OH terminais da cadeia, originando oligômeros cíclicos, também são obtidos compostos voláteis que dependeram da temperatura de degradação e do mecanismo de cisão. Seja por “backbiting” ou por cisão aleatória da cadeia polimérica, as moléculas geradas são os lactídeos, acetaldeídos (PLA), glicolato de metila (PGA), dióxido de carbono, monóxido de carbono, metilceteno (PLA), ceteno e formaldeído (PGA) (MCNEILL; LEIPER, 1985; SILVA, M. F. *et al.*, 2015).

Em temperatura mais altas (405 °C – 429 °C) é possível visualizar a liberação de dióxido de carbono CO_2 (670 cm^{-1} e 2304 cm^{-1}) e monóxido de carbono CO (2104

cm^{-1} a 2170 cm^{-1}). A formação do dióxido de carbono é explicada a partir da descarboxilação de grupos carboxila terminais nas cadeias (SILVA, M. F. *et al.*, 2015). Nessa faixa de temperatura também ocorre o surgimento das bandas entre 2870 cm^{-1} a 3070 cm^{-1} , tipos de estiramentos simétricos e assimétricos de CH_2 e CH_3 , que podem estar relacionados principalmente às bandas isopreno da cadeia do PI_{epox} . A presença de outro pico (1715 cm^{-1}), na região da carbonila, evidencia outro componente, ácidos dimericos, os quais são reportado durante da degradação do PI (FERNÁNDEZ-BERRIDI *et al.*, 2006). Porém essas bandas também podem estar relacionadas às moléculas de degradação do PLGA (PGA e PLA).

Entre $441 \text{ }^\circ\text{C}$ a $\sim 503 \text{ }^\circ\text{C}$ observa-se que a degradação da blenda resulta principalmente da liberação CO e CO_2 , diminuindo a intensidade de absorção dos outros compostos.

Por tanto, é possível concluir que a propriedade e degradação térmica da blenda de PLGA/ PI_{epox} é combinação das características e estabilidade térmica de seus polímeros constituintes. Em temperaturas de degradação mais baixas, a blenda exibiu predominantemente compostos voláteis típicos de PLGA e posteriormente foram identificados os voláteis de PI_{epox} , porém como ambos os polímeros apresentam temperaturas de degradação intermediárias semelhantes, resultando em diversos tipos de moléculas liberadas, possivelmente esteja ocorrendo sobreposição das bandas e, dessa forma, dificultando na diferenciação dos compostos voláteis de resultantes da degradação térmica.

4.2.2. DSC

O ensaio térmico de DSC foi realizado na blenda para avaliar sua miscibilidade. A curva de DSC da blenda está exibida na figura 9-a) e evidencia a presença de duas T_g , correspondentes a do PI_{epox} ($-19,84^\circ\text{C}$) e do PLGA ($58,84 \text{ }^\circ\text{C}$). A T_g foi obtida do último ciclo de aquecimento e calculada conforme a Regra das Tangentes (CHEN, F.; QIAN, 2002; MARQUES, D. R., 2015).

A miscibilidade da blenda polimérica Cellprene® (PLGA/PI) foi avaliada por (MARQUES, D. R., 2011), onde foi estudado diferentes composições de PLGA:PI da blenda com as suas respectivas propriedades térmicas e mecânicas, ficou

evidenciado no estudo que a composição 60:40 correspondia com a função mecânica desejada, no caso, o aumento da ductilidade. Porém, tanto a composição de 60:40 quanto as outras, demonstraram indícios de miscibilidade entre os polímeros, porém, não sendo o suficiente para serem consideradas miscíveis, ou seja, houve um deslocamento pouco significativo da Tg em comparação a dos polímeros puros. Dessa

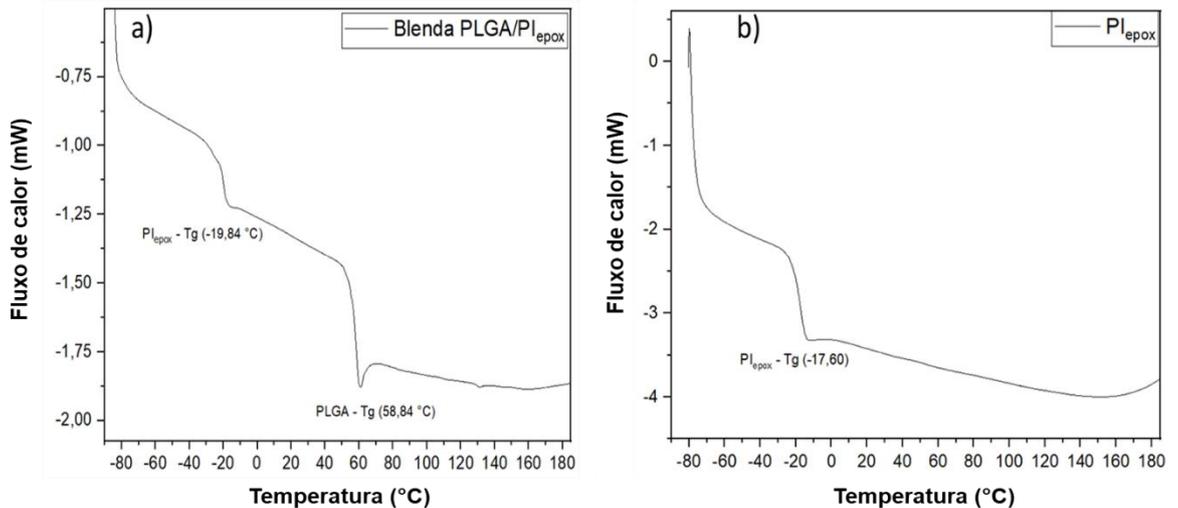


Figura 9 - Curva de DSC da blenda polimérica em (a) e do PI_{epox} em (b).

forma o Cellprene® é caracterizado como blenda parcialmente miscível, com pouca miscibilidade entre os polímeros.

No estudo realizado por (GUERRA, N.B., 2018) em que produziu a blenda polimérica de PLGA e PI_{epox} a 55% para fins de engenharia de tecido, os resultados demonstraram que houve uma melhora na compatibilidade da blenda quando houve substituição do PI pelo PI_{epox}. A epoxidação do poli-isopreno aumentou a interação entre as cadeias poliméricas pelo efeito da polarização, causando assim a redução do intervalo entre as Tg, porém ainda apresentou duas transições vítreas de segunda ordem e a blenda foi considerada parcialmente miscível.

O trabalho atual identifica a blenda polimérica de PLGA e PI_{epox} como imiscível nas proporções usadas, pois foi exibido duas transições vítreas (PI_{epox} (-19,84°C) e do PLGA (58,84 °C)) que estão próximos dos componentes isolados, sendo a Tg do PI_{epox} purificado caracterizada na figura 9-b) como -17,76 °C e a Tg do PLGA está semelhante à reportada por (MARQUES, D. R., 2011) como ~59 °C. A pequena discordância entre o valor do PI_{epox} reportado na blenda e do PI_{epox} isolado deve-se às diferentes taxas de varredura usadas na análise (SAEED et al., 2016).

4.2.3. ATR-FTIR

O espectro de FTIR da blenda de PLGA/PI_{epox} revelam bandas características individuais dos polímeros constituintes PI_{epox} e PLGA, o espectro está apresentado na figura 10. Analisando apenas o PLGA podemos visualizar uma banda acentuada entre 1745 cm^{-1} e 1750 cm^{-1} característica de carbonila (C=O) e outras bandas de heteroátomos de oxigênio (C-O-C) característica do grupo éster pode ser observada em 1181 cm^{-1} e 1083 cm^{-1} , as bandas entre 2947 cm^{-1} a 2995 cm^{-1} representa respectivamente o estiramento assimétrico dos grupos metilas (-CH₃) e metilenos (-CH₂), na região entre 1500 - 1250 cm^{-1} ocorre as deformações angulares simétricas dos grupos de -CH₂ e -CH₃; na região entre 1350 - 1150 cm^{-1} manifesta-se deformações angulares assimétricas de grupos -CH₂ e -CH. O PLGA possui similaridade com resultados de FTIR encontrados na literatura (ERBETTA *et al.*, 2012; SILVA, A. T. C. R. *et al.*, 2015; VEY *et al.*, 2011).

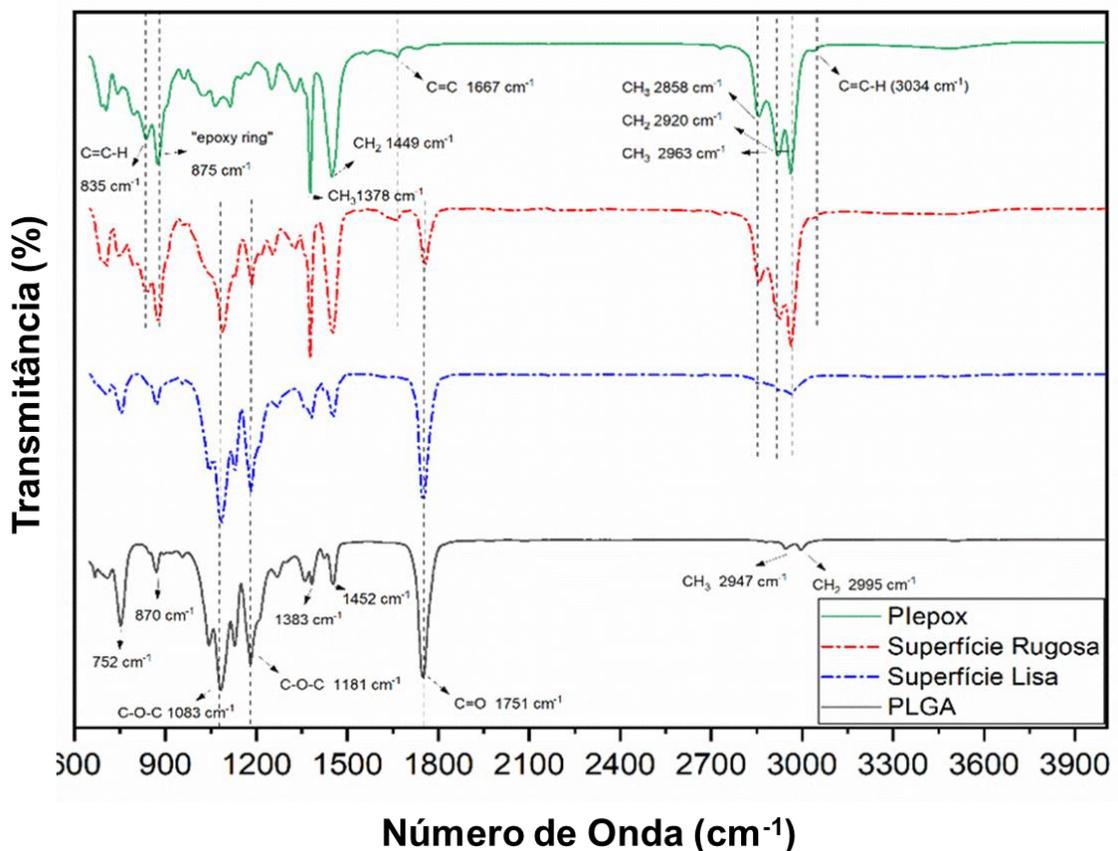


Figura 10 – Espectro no Infravermelho (FTIR-ATR) dos polímeros Plepox, PLGA e dos lados da blenda.

Para o PI_{epox}, a banda em 875 cm⁻¹ é a principal característica da epoxidação e é associada a presença do grupo epóxi ou oxirano. Quanto maior o grau de epoxidação maior será intensidade dessa banda e, conseqüentemente, ocorre a diminuição da intensidade das bandas que representam a dupla ligação (C=C) do poliisopreno, presentes em 835 cm⁻¹ e 1667 cm⁻¹ (XU *et al.*, 2012). As bandas entre 2858 – 2963 cm⁻¹ estão relacionadas às ligações de estiramento de -C-H (-CH₃, -CH₂, -CH), as bandas representadas são de estiramento assimétrico de -CH₃ em 2963 cm⁻¹, estiramento assimétrico de -CH₂- em 2920 cm⁻¹ e estiramento simétrico de -CH₂- em 2858 cm⁻¹; também é possível observar uma pequena banda em 3034 cm⁻¹ pertencendo ao estiramento de =C-H. (DOS SANTOS; SUAREZ; RUBIM, 2005; GUERRA *et al.*, 2018; HAMZAH *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2012).

Devido à sua heterogeneidade/imiscibilidade e o modo de preparação do filme, a blenda de PLGA/PI_{epox} foi caracterizada com duas superfícies, figura 11, uma superfície lisa e uma superfície rugosa, onde a superfície lisa conforme o FTIR da figura 10 apresenta bandas mais acentuadas do PLGA e em contrapartida a superfície rugosa que exibe as bandas de absorção para ambos os polímeros da blenda de PLGA/PI_{epox}, como o estiramento de carbonila (C=O) do grupo éster em 1748 cm⁻¹ do PLGA e bandas entre 1080 – 1190 cm⁻¹ relacionados aos grupos éter (C-O-C), os estiramentos de metila e metileno (-C-H) na faixa de 2858 cm⁻¹ a 2963 cm⁻¹, a banda em 875 cm⁻¹ do grupo epóxi, além da banda de absorção da ligação dupla (C=C) em 835 cm⁻¹ e 1667 cm⁻¹ relacionadas ao PI_{epox}. Na superfície lisa não foi possível visualizar as bandas do grupo epóxi e das duplas ligações, provavelmente pela sobreposição das bandas majoritárias do PLGA.

A figura 11 exibe as fotos de ambos os lados da blenda polimérica obtidos por microscópio digital. A formação do lado rugoso ocorreu devido à evaporação do solvente; como o lado liso está em contato direto com o recipiente, não sofre a ação da passagem de gás do solvente e retração, devido à restrição imposta pela superfície do recipiente. No trabalho (CESAR *et al.*, 2020) foi observado que composições imiscíveis da blenda de PLA e PI obtidas pelo método *solvent casting*, apresentaram superfícies lisas (para o PLA) e rugosas (no caso do PI). Além disso, foi relatado a presença de bolhas na superfície devido à evaporação do solvente. A presença de duas fases pode ser associada a diferença de densidade dos dois polímeros, onde o

PLGA mais denso ($1,34 \text{ g/cm}^3$ de acordo com a ficha técnica do produto) e com mais proporção da blenda está na mais propenso está no lado liso, enquanto é provável que ocorra a dispersão do PI_{epox} no PLGA no lado rugoso, pela menor densidade ($1,02 \text{ Mg/m}^3$ de acordo com a ficha técnica do produto) e proporção da composição.

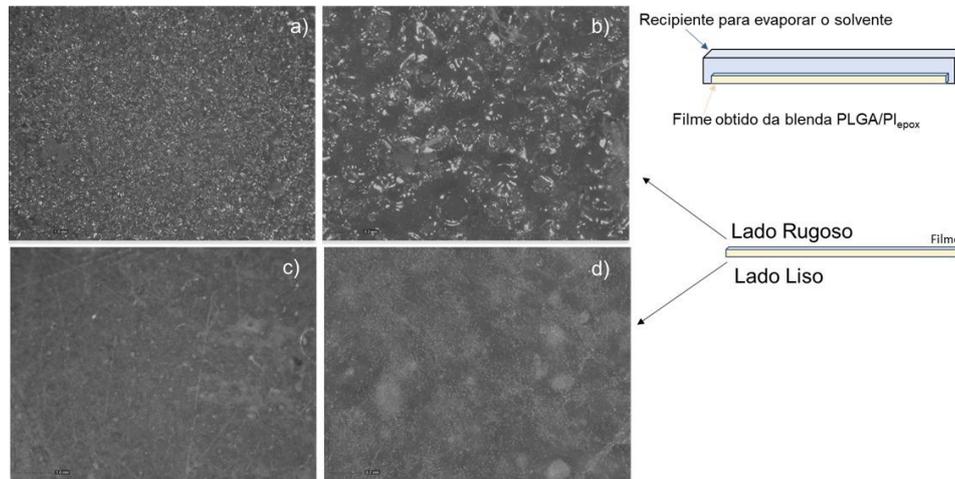


Figura 11 – Microscopia óptica dos lados da blenda polimérica PLGA/PI_{epox} e esquema de evaporação do solvente. Lado rugoso em a) e aumento em b) e lado liso em c) e aumento em d).

Para simplificar os resultados de FTIR das amostradas irradiadas por UV, foram realizadas modificações apenas no substrato rugoso, pois facilita a visualização das alterações nas principais bandas de ambos os polímeros da blenda.

Por fim, como não houve surgimento de novas banda no espectro de FTIR, é possível afirmar que não houve formação de ligações química entre os polímeros da blenda, como ligações covalentes. O resultado reportado de FTIR da síntese da blenda PLGA/PI_{epox} é compatível com os resultados obtidos por GUERRA *et al.* (2018).

4.3. Tratamento UV da blenda polimérica

4.3.1. WCA

Os filmes da blenda de PLGA/PI_{epox} obtidos por *solvente casting* foram tratados por irradiação ultravioleta afim de modificar sua molhabilidade. Foi utilizado para os tratamentos apenas a superfície rugosa, conforme descrito nos resultados de ATR-FTIR na caracterização da blenda. Vários tempos de tratamentos foram propostos e os resultados de ângulo de contato estão na figura 12. É possível observar a diminuição do WCA com o aumento do tempo de irradiação, alterando a superfície da blenda de hidrofóbica para um caráter mais hidrofílico. O tempo de irradiação de 90 e 120 min resultaram nos menores WCA.

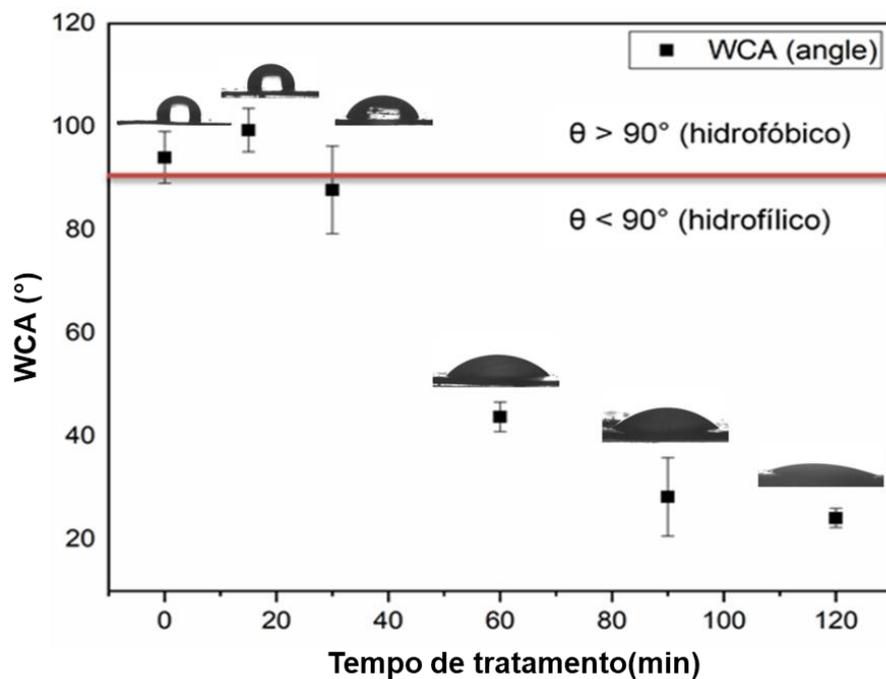


Figura 12 - Ângulo de contato da blenda tratada sob irradiação UV em diversos tempos (minutos).

Conforme a figura 12, a blenda possuía o WCA inicial de $94^{\circ} \pm 5$, exibindo uma superfície hidrofóbica. Porém, quando tratado por irradiação UV acima de 60 minutos, obteve-se WCA menores que 50° . O menor ângulo obtido foi para o tratamento de 120 minutos alcançando $24,18^{\circ} \pm 1,85$ e exibindo, assim, uma superfície hidrofílica. Alguns fatores podem influenciar no aumento da molhabilidade da blenda, como a presença de grupos funcionais mais polares, ou grupos mais eletronegativos, como hidroxilas, carbonilas e grupamentos aminas. Outros fatores como energia superficial e

porosidade também afetam o WCA. Como veremos mais adiante, essa diminuição do ângulo de contato pode ser atribuída à presença de grupos oxigenados como hidroxilas, carbonilas, ésteres e peróxidos na superfície do polímero. Esses grupos polares possuem maior capacidade de interagir com água por ligação de hidrogênio (DURÁN *et al.*, 2020).

Alguns trabalhos reportam que a diminuição do WCA pode melhorar a eficiência da adesão celular, como o estudo de (Khorasani, Mirzadeh, & Irani, 2008), em que avaliaram a utilização de um reator de plasma de radiofrequência com atmosfera de O₂ para modificar filmes de poliácido-L-láctico (PLLA) e PLGA, afim de aprimorar adesão de células nervosas. Eles obtiveram resultados de ângulo de contato de 78° graus para o PLGA não tratado, e 51° graus para o PLGA tratado, e os resultados de adesão de celular mostraram maior adesão de células e mais células em estágio de adesão passiva para o PLGA tratado.

Liu *et al.*, (2018) avaliou a modificação superficial de PLGA poroso utilizando plasma afim de promover interações entre o *scaffold* com a célula/tecido e verificaram a diminuição do ângulo de contato do PLGA de aproximadamente 90° graus para 0° graus com 300 segundos de tratamento. Além disso, os experimentos de adesão celular *in vitro* e a implantação subcutânea de *scaffolds* porosos em ratos, demonstraram vantagens do tratamento do *scaffold* com plasma na melhoria da afinidade/integração célula/tecido.

4.3.2. ATR-FTIR

No espectro de FTIR da blenda tratada (do lado rugoso) na figura 13 é apresentado que a blenda polimérica sofreu oxidação conforme o tempo de irradiação do UV. A principal evidencia da oxidação da superfície é dada pela presença de grupos funcionais oxigenados entre 3200 – 3600 cm⁻¹ que é recorrente de grupos hidroxilas (O-H), peróxidos (-O-O-) ou hidroperóxidos (-O-O-H) e pela diminuição da intensidade dos grupos metilenos (-CH₂-) e metilas (-CH₃) na região entre 2800 – 3000 cm⁻¹.

O que provavelmente está ocorrendo é a formação de radicais livre (C^{*}) pela quebra das ligações das cadeias carbônicas de PI_{epox}/PLGA devido à radiação ultravioleta. Os radicais livres gerados reagem com o oxigênio da atmosfera para formar grupos

oxigenados (peróxidos, hidróxidos, ésteres, ácidos carboxílicos, etc). Como veremos adiante, esses tipos de reações por efeito de radiação eletromagnética são reportados na literatura tanto para a BNE quanto para o PLGA.

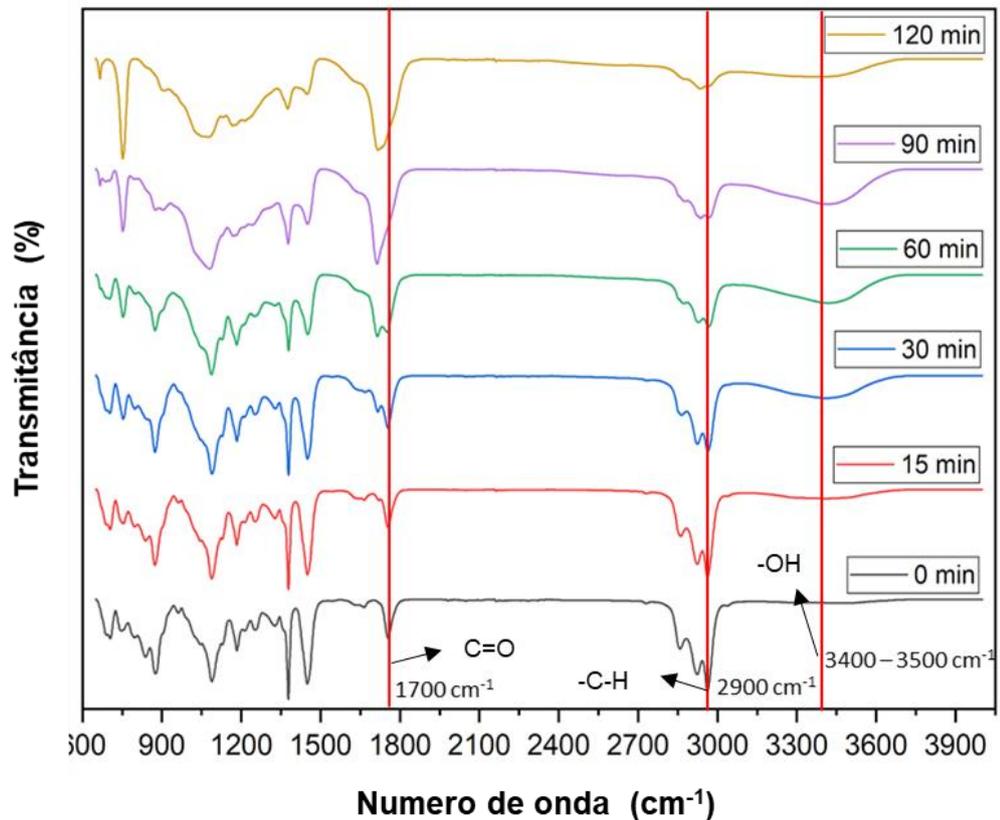
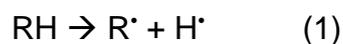


Figura 13 - Espectro de FTIR da blenda tratada em diversos tempos.

O mecanismo de oxidação da blenda polimérica por UV pode ser descrito pelas reações do processo de oxidação que são usais em polímeros por efeitos de irradiação (DOLE, 1972, 1974; RATNAM *et al.*, 2001b), sendo R a cadeia polimérica e R[•] o radical da cadeia:

Iniciação:



Propagação da cadeia:



Ramificação da cadeia



Reações de transferência de cadeia



Reações de terminação



Esquema 1 - Esquema geral das reações do processo de oxidação da cadeia polimérica por efeito da radiação eletromagnética (traduzido e adaptado de (RATNAM *et al.* 2001).

Nos trabalhos na literatura que relatam a oxidação do PI_{epox} quando submetido a estresse oxidativo por irradiação por feixe de elétrons e temperatura, geralmente exibem o mecanismo de radicais livres (B.T.POH; K.S.LEE, 1994; KUMAR, N. R. *et al.*, 1992; RATNAM *et al.*, 2000).

Uma das consequências encontradas durante a cisão das cadeias de PI_{epox}, é a abertura do anel epóxi que geralmente envolve um processo homolítico e resulta na formação de radicais livres (KUMAR, N. R. *et al.*, 1992; RATNAM *et al.*, 2000, 2001b). Na figura 14 está apresentado dois radicais propostos que são gerados na abertura do anel epóxi para o PI_{epox} conforme o estudo que avaliou sua oxidação térmica (B.T.POH; K.S.LEE, 1994).

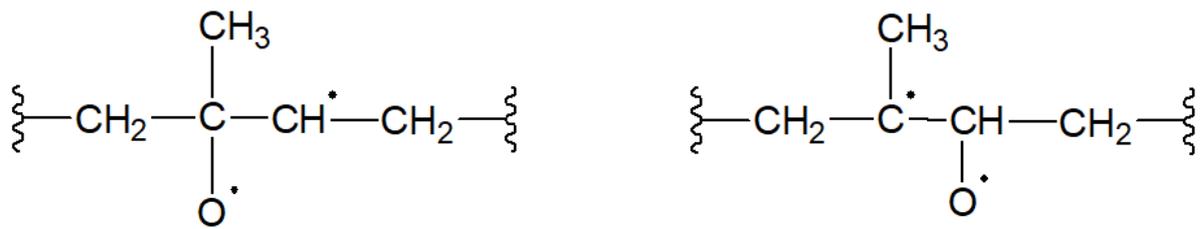


Figura 14 – Radicais livres originados na abertura do anel epóxi do PI_{epox} (B.T.POH; K.S.LEE, 1994).

Além dos anéis epóxis, a presença de ligações duplas (C=C) na cadeia polimérica do PI_{epox} também propiciam as reações por radicais livres (B.T.POH; K.S.LEE, 1994; RATNAM *et al.*, 2000). Conforme os resultados de FTIR ficou visível as alterações na cadeia principal do PI_{epox}, como é caso das bandas da dupla ligação cis (C=C-H) ou (C=C) que está apresentado na Fig 15 – a) e c) com respectivos comprimentos de onda 835 cm⁻¹ e 1665 cm⁻¹ (B.T.POH; K.S.LEE, 1994; DOS SANTOS; SUAREZ; RUBIM, 2005; RATNAM *et al.*, 2000). Observa-se na figura 15 – a) que ocorreu uma variação desuniforme na região do grupo oxirano, em 875 cm⁻¹, com o aumento do tempo de tratamento é possível visualizar uma diminuição acentuada desse estiramento, sugerindo que a cisão grupamento epóxi torna-se mais evidente com maiores tempos de tratamento.

O perfil da banda de (C=C) está diminuindo com o aumento do tempo de irradiação UV, porém, devido a sobreposição de outras bandas surgindo na região de 1665 cm⁻¹, como grupos hidroxilas e carbonilas, é perceptível apenas a alteração no perfil do pico. A alteração dessas bandas sugere que está havendo a cisão das ligações duplas cis para geração de radicais livres induzidos por irradiação UV, conforme reportado em outros estudos (B.T.POH; K.S.LEE, 1994; CIBULKOVÁ *et al.*, 2006; DOS SANTOS; SUAREZ; RUBIM, 2005; RATNAM *et al.*, 2000).

Entre 1100 – 1183 cm⁻¹, figura 15 - b), temos o aumento vibrações típicas de grupos éteres (C-O-C) que podem estar associados ao dos grupos carbonilas (C=O) formando grupos ésteres e ácidos carboxílicos. A novas ligações de éter também podem indicar a formação de ligações cruzadas do tipo éter entre as cadeias poliméricas (RATNAM *et al.*, 2001a). As diminuições dos grupos metilenos (-CH₂) em 1449 cm⁻¹ e metilas (-CH₃) 1378 cm⁻¹, figura 15 - b), confirma novamente a cisão das cadeias carbônica polimérica seja do PLGA ou PI_{epox}.

A presença uma banda de alta intensidade do estiramento de carbonila (C=O) em 1714 cm^{-1} , figura 15 – c), com 120 minutos de tratamento é atribuída a presença de grupos carbonilas de cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos na blenda polimérica (RATNAM *et al.*, 2000). As carbonilas são reportadas como um principais grupos formados na oxidação do PI_{epox} (B.T.POH; K.S.LEE, 1994; RATNAM *et al.*, 2000). Na figura 8 – c) é exposto um aumento nas bandas das funções carbonílicas conforme o aumento do tempo irradiação, onde houve um surgimento de um pico na região de 1714 cm^{-1} , como também um aumento da intensidade do pico em 1754 cm^{-1} . O pico em 1714 cm^{-1} é característico de compostos carbonílicos como os ácidos carbóxilos (C=O) e o pico em 1754 cm^{-1} é típico para carbonila de ésteres (O-C=O) (RATNAM *et al.*, 2000).

Na região entre 1680 cm^{-1} a 1790 cm^{-1} podem estar ocorrendo a sobreposição de outros grupos com carbonila, como peréster, anidridos, carbonilas α,β -insaturadas e metilcetonas (CIBULKOVÁ *et al.*, 2006).

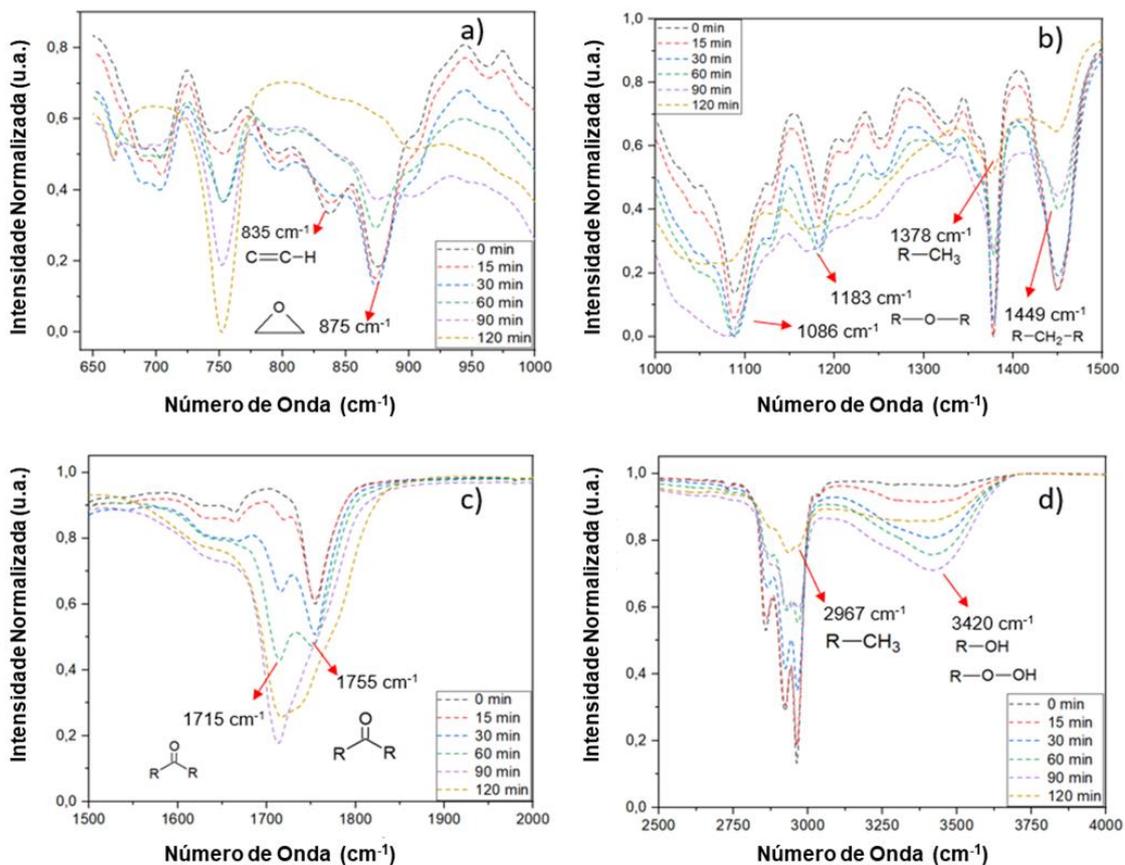


Figura 15 - Espectros de FTIR normalizados da blenda tratada nas regiões de interesse conforme os números de onda, a) entre 2500 a 4000 cm^{-1} ; b) entre 1500 a 2000 cm^{-1} , c) entre 1000 a 1500 cm^{-1} e d) entre 700 a 1000 cm^{-1} .

O aumento das bandas entre 3200 – 3600 cm^{-1} na figura 15 - d) são explicadas pela ocorrência de interações entre as cadeias poliméricas, sendo essas interações provocadas pelas ligações de hidrogênio através dos grupos hidroxilas, hidroperóxidos e carbonilas formados durante a oxidação do PI_{epox} e do PLGA (LEE *et al.*, 2015; LOO, S. C. J.; OOI; BOEY, 2004; RATNAM *et al.*, 2001b).

Além do PI_{epox} , a oxidação do PLGA também contribui para o aumento da intensidade na região da carbonila, éteres e hidroxilas. Em estudos que utilizaram feixe de elétrons e radiação gama, demonstraram que o PLGA quando submetidos a essas fontes de energia sofre cisão das cadeias do poliéster, dessa forma rompendo as ligações químicas do PLGA (abstração de hidrogênio ou cisão β), que em presença de oxigênio reagiram formando dois principais tipos de radicais peroxilas, conforme a figura 16 (LOO, J. S. C.; OOI; BOEY, 2005; MONTANARI, L. *et al.*, 2001; MONTANARI, LUISA *et al.*, 1998). Em reações posteriores esses radicais podem formar grupos funcionais de álcool, ácidos carboxílicos, e perácidos.

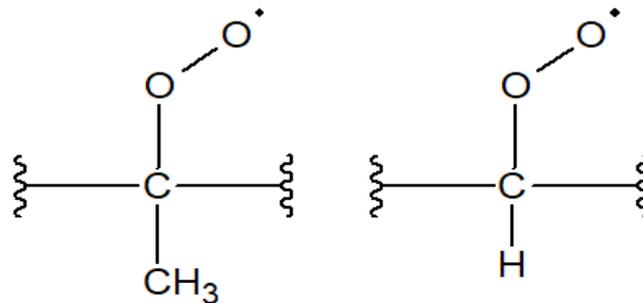


Figura 16 – Sugestão de radicais peroxilas gerados durante radiólise do PLGA, um com grupo metileno e outro com grupo hidrogênio. (LOO, J. S. C.; OOI; BOEY, 2005; MONTANARI, L. *et al.*, 2001; MONTANARI, LUISA *et al.*, 1998)

No estudo de LEE *et al.*, 2015 que investigou a modificação superficial de nanofibras de PLGA usando irradiação de feixe de elétrons e averiguou-se a presença de grupos em hidroxilas (OH) na região entre 3100 – 3600 cm^{-1} e o acréscimo de grupos carbonílicos (C=O) na região de 1750 cm^{-1} , essas bandas foram se tornando mais evidentes com o aumento da intensidade do feixe de elétrons.

O tratamento também demonstrou que as fibras de PLGA tratadas se tornaram mais molháveis exibindo inicialmente WCA de 71° graus e foi reduzido para 57° graus com o tratamento. O autor cita que é possível explicar oxidação do PLGA pela ocorrência da cisão da cadeia principal do polímero devido à irradiação do feixe

eletrônico, ocorrendo a quebra das ligações entre os átomos, resultando em formações maciças de radicais livres. Na presença de oxigênio, esses radicais livres são convertidos em radicais livre de peróxidos. A formação de radicais livres de peróxidos iniciará um processo hidropoxidativo em cadeia (CHYE JOACHIM LOO; PING OOI; CHIANG FREDDY BOEY, 2005).

Para evidenciar a oxidação da blenda polimérica e o aumento da presença de grupos oxigenados a figura 17 apresenta a relação entre o tempo de tratamento UV e a absorção dos grupos funcionais com mudanças mais aparentes, os valores de absorções foram são referentes aos números de ondas determinados (2962 cm^{-1} , 3400 cm^{-1} e 1740 cm^{-1}) pelos grupos de interesse baseado nos espectros da figura 13.

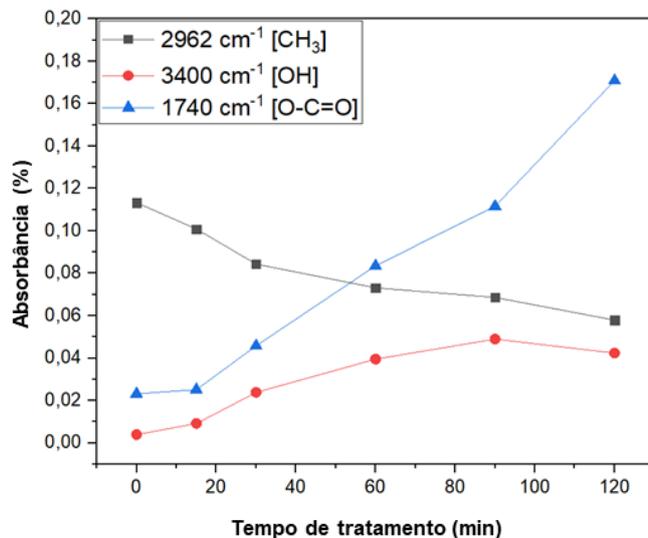


Figura 17 – Relação entre o tempo de tratamento por UV das amostras tratadas com as respectivas absorbâncias no FTIR dos grupos metil (CH_3), hidroxilas (OH) e carbonilas de ésteres (O-C=O).

Os resultados de ATR- FTIR reportam que o tratamento com irradiação UV corrobora com o esquema 1, onde a blenda apresentou os principais radicais livres gerados por oxidação de cadeias poliméricas, sendo radicais hidróxidos (ROH), ésteres (ROOR), peróxidos (ROO), hidroperoxídicos (ROOH) e cetonas/aldeídos (RO). É importante salientar que as etapas das reações por radicais livres não são controladas e/ou finalizadas, tal que os produtos intermediários podem ser conservados na blenda.

4.3.3. Perfilometria ótica

Conforme os resultados anteriores de FTIR e WCA, é correto afirmar que houve a alteração química da superfície da blenda polimérica, ocorrendo principalmente um aumento dos grupos polares. Porém, da mesma maneira como a química da superfície altera a molhabilidade, a topografia da superfície, devido consequências da porosidade do material, contribui para alterações do caráter hidrofílico/hidrofóbico do substrato (KUBIAK *et al.*, 2011; KUMAR, S. S.; HIREMATH, 2019; RAMÓN-TORREGROSA *et al.*, 2008). Na figura 18 é possível visualizar a perfilometria ótica da blenda não tratada e tratada a 120 min e na tabela 2 os dados de rugosidade.

Tabela 2 – Dados de rugosidade da superfície da blenda tratada com irradiação ultravioleta. Qual R_a = Rugosidade Média Aritmética, R_q = raiz do valor quadrático médio, S_a = média aritmética da rugosidade 3D, S_q = raiz do valor quadrático médio 3D e σ o desvio-padrão das medidas.

Tempo de tratamento	$S_a (\bar{X} = 3)$	σ	$S_q (\bar{X} = 3)$	σ	$R_a (\bar{X} = 3)$	σ	$R_q (\bar{X} = 3)$	σ
0 min	1,045	0,084	1,372	0,077	1,026	0,095	1,336	0,067
15 min	1,075	0,594	1,617	0,434	1,038	0,599	1,485	0,470
30 min	0,721	0,275	1,113	0,218	0,699	0,276	1,035	0,234
60 min	0,655	0,128	1,053	0,337	0,611	0,095	0,966	0,252
90 min	1,409	0,691	2,419	1,320	1,355	0,655	2,356	1,319
120 min	2,223	0,472	2,873	0,633	2,191	0,454	2,830	0,600

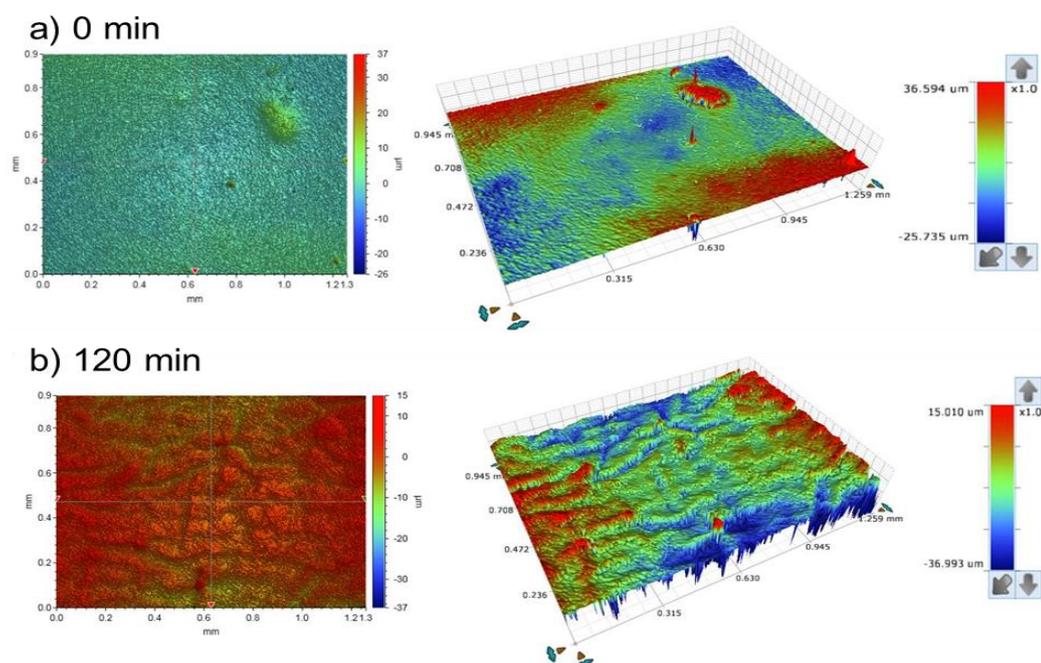


Figura 18 - Perfilometria da blenda não tratada a) e da blenda tratada sob irradiação UV por 120 min b).

A partir dos valores da tabela 2 nota-se que o desvio padrão das medidas de rugosidade média 2D e 3D conservam-se praticamente constante até 120 minutos de tratamento superficial, e somente em 120 min surge uma superfície com maior rugosidade. A diferença de rugosidade da blenda tratada com 120 minutos e sem tratamento é mostrada na figura 18, onde demonstra claramente uma alteração da topografia. É necessário pontuar que a topografia da superfície não apresentou caráter primário de análise, pois não houve controle desse parâmetro durante a obtenção dos filmes da blenda polimérica de PLGA/PI_{epox}. Contudo, a análise realizada demonstra em princípio que o tratamento superficial usando irradiação UV pode possibilitar esse aumento da rugosidade em tempos elevados de irradiação. A respeito da molhabilidade, como não houve alteração significativa da rugosidade para as amostras tratadas intermediárias, é possível dizer que o aumento da hidrofiliabilidade é influenciado majoritariamente pela alteração química da superfície e pela energia superficial.

4.3.4. Ensaio de envelhecimento

Realizou-se o teste de envelhecimento afim de verificar a durabilidade do tratamento de irradiação UV na blenda polimérica. As amostras foram analisadas semanalmente por WCA. A figura 19 demonstra o resultado. Pode-se verificar de maneira geral que ocorre um aumento do WCA para o material tratado com o tempo de envelhecimento.

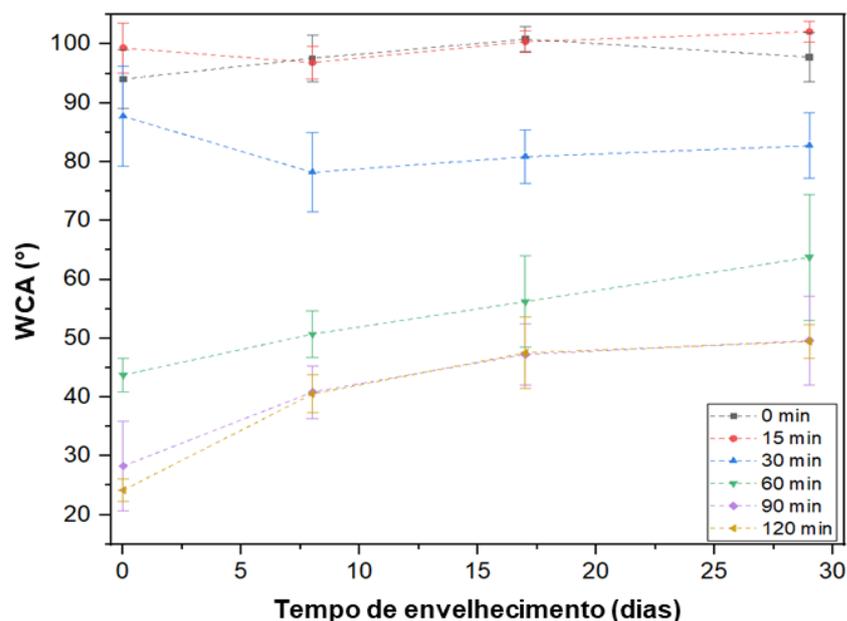


Figura 19 - Envelhecimento do tratamento superficial da blenda polimérica PLGA/PI_{epox}.

As amostras tratadas e posteriormente envelhecidas em ambiente aberto sugerem que a estabilidade do tratamento superficial é perdida em poucos dias. A duração ou estabilidade do tratamento depende do tempo de irradiação UV. As amostras com 30 min de tratamento exibiram pouca alteração da molhabilidade, onde a amostra inicialmente possuía WCA de $87,75^\circ \pm 8,5$ e após 29 dias apresentou $82,74^\circ \pm 5,55$. Os WCA para os tempos de tratamentos maiores que 30 minutos demonstram maior variação da molhabilidade com o envelhecimento, as blendas tratadas com 90 e 120 minutos exibiram um aumento de $\sim 20^\circ$ de WCA após 29 dias de envelhecimento. Especificamente para 120 minutos, a amostra possuía WCA de $24,18^\circ \pm 1,82$ e após 29 dias o ângulo foi de $49,44^\circ \pm 2,85$.

Geralmente os materiais tratados usando UV permitem durabilidade do WCA modificado em tempo de envelhecimento extensos e similares ao tratamento por plasma (WANG; LIAN; CHEN, 2015). Porém, como a análise de ângulo de contato foi realizada sobre a mesma amostra sucessivamente, observa-se esse aumento da hidrofobicidade do material. Uma das explicações possíveis é que apesar da secagem com ar pressurizado para retirar a gota água depositada após os ensaios de WCA, a superfície exposta a esse período de envelhecimento tanto a umidade ambiente quando aos resíduos de água do ensaio, tenha ocasionado a reorganização das cadeias poliméricas, de modo que permitiu a superfície tratada retomar sua estrutura inicial com menor ângulo de contato (BELMONTE, 2015). Outro modo de explicar esse aumento do WCA, é que após o tratamento, as amostras apresentam grupos polares, os quais armazenam uma grande quantidade de energia superficial instável. Logo, a diminuição da molhabilidade está associada à estabilização da energia superficial (WANG; LIAN; CHEN, 2015).

Além disso, a forma de preservação das amostras também pode afetar a duração ou a estabilidade do tratamento superficial. Em um estudo realizado por WANG, LIAN, CHEN (2015) avaliando o tempo de envelhecimento do PLGA usando tratamento por plasma e UV, demonstraram que as amostras tratadas e conservadas em temperatura ambiente possuem uma rápida recuperação ou aumento do WCA, porém as amostras armazenadas em *freezer* conservaram por mais tempo a molhabilidade do material tratado.

Por fim, apesar do aumento do WCA, as amostras irradiadas com tempo acima de 60 minutos continuaram a apresentar caráter hidrofílico no 29º dia, pela possível conservação dos grupos polares na superfície.

4.2.5. XPS

Os resultados da análise de XPS da figura 20 e na tabela 3. Os resultados da tabela 3 expõe que a porcentagem de oxigênio na superfície aumenta em comparação ao material não tratado. O aumento da composição de oxigênio se dá em consequência da diminuição da composição de carbono, que ocorre pela cisão das ligações das cadeias poliméricas da blenda e subsequente oxidação, como citado anteriormente na análise de FTIR.

Foram encontrados picos referentes ao silício (Si 2p) no espectro de XPS da figura 20. Conforme a tabela 3, podemos verificar que houve presença de silício em baixa concentração na superfície de 4 amostras, sendo uma delas a amostra de PLGA. Esse pico de Si 2p também é reportado em outros trabalhos de análise de superfície de polímeros e pode estar relacionados a presença de partículas de poeira ou algum tipo de contaminação da vidraria ou do processo original de produção do polímero (BELMONTE, 2015; CHUNG; GAMCSIK; KING, 2011; KESSLER; MARCONATTO; *et al.*, 2014).

Tabela 3 – Composição da superfície das amostras da blenda PLGA/PI_{epox} não tratada e tratada por irradiação UV obtidas pelo espectro de varredura (*survey*) do XPS.

Tempo de tratamento	C 1s %	O 1s %	Si 2p %	[O/C] ^(a)
PLGA	88,84 %	11,16 %	-	0,13
PI_{epox}	69,84 %	27,21 %	2,95 %	0,39
0 min	82,54%	14,02 %	3,44 %	0,17
15 min	82,60 %	17,40 %	-	0,21
30 min	60,45 %	36,52 %	3,03 %	0,60
60 min	52,30 %	43,94 %	3,73 %	0,84
90 min	56,31 %	43,69 %	-	0,78
120 min	56,06 %	43,94 %	-	0,78

(a) Não foi considerado a porcentagem de Si na razão.

Os resultados da tabela 3 exibem que a partir do tempo de tratamento de 60 min ocorre uma saturação dos níveis de oxidação que a blenda adquire pela UV, onde de 60 min até 120 min de tratamento a presença de oxigênio (O%) estabiliza em valores aproximados de 44%, apresentando valores similares da razão oxigênio/carbono [O/C] ~80. A razão de [O/C] na superfície da blenda tratada a partir de 30 minutos (0,60) é superior em comparação com o PLGA (0,39) e o PI_{epox} (0,13).

Foram realizadas deconvoluções ou “*fitting*” das curvas relacionadas ao C 1s em alta resolução para adquirir mais detalhes da composição dos grupos químicos das amostras tratadas. Geralmente são especificados alguns picos importantes como os grupos alquil (C-C/C-H) em ~285 eV, os grupos de hidroxilas, éteres e epóxidos (C-O-C/C-OH) em ~286 eV, os grupos ésteres ou ácidos carboxílicos (O-C=O) em ~288 eV e um novo grupo oxigenado (C=O*) em ~287 eV para amostras tratadas foi incluído para se obter um melhor ajuste das curvas (KESSLER; MARCONATTO; *et al.*, 2014; LÓPEZ-SANTOS *et al.*, 2015).

O ajuste das curvas de O 1s foram realizados com dois grupos majoritários, sendo as carbonilas (O=C) de diversas natureza químicas em ~532 eV e os grupos de hidroxilas, ésteres e etc (O-C) em ~533 eV (KESSLER; MARCONATTO; *et al.*,

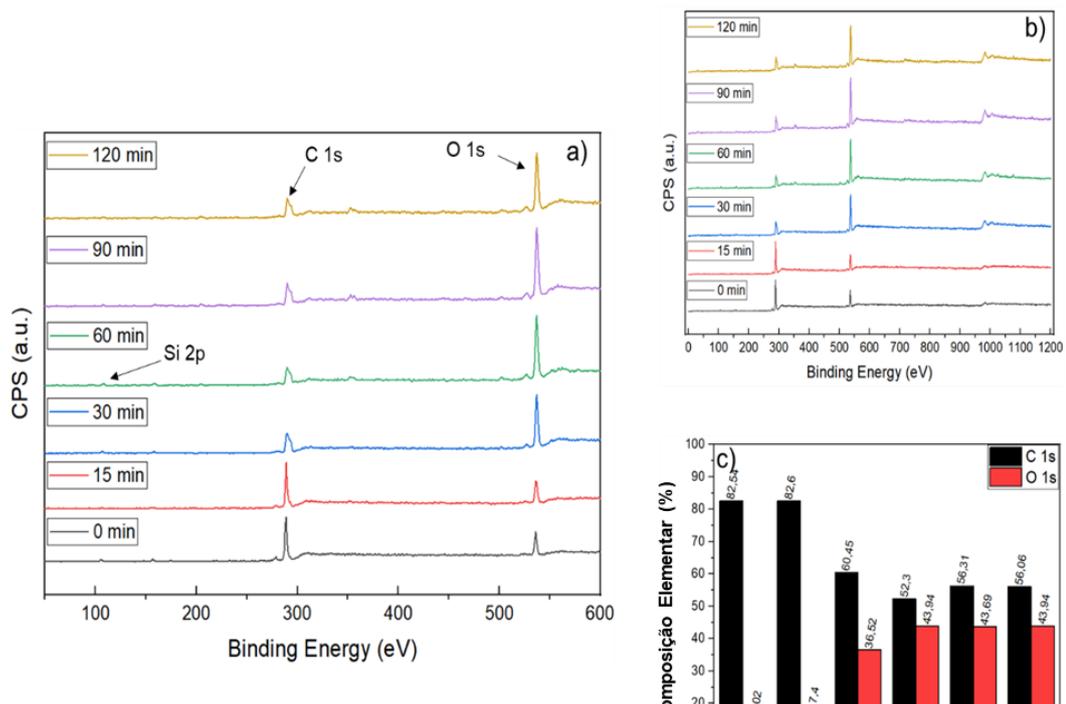


Figura 20 - Espectro de XPS do tratamento superficial da blenda polimérica. a) Aumento na região do estudo, b) espectro de varredura (*survey*) e c) gráfico da composição elemental da superfície das amostras tratadas e não tratadas, desconsiderando o Si 2p.

2014; LÓPEZ-SANTOS *et al.*, 2015; LÓPEZ; CASTNER; RATNER, 1991). Os possíveis grupos relacionados ao Si 2p, como O-Si, não foram considerados.

As posições dos picos ou sinais variam e dependem do ambiente químico que podem ser alterados pelo tipo de tratamento superficial e pela natureza do polímero. O resultado está apresentado na figura 21 para o carbono e 22 para o oxigênio.

Conforme a figura 21 os grupos alifáticos (C-C/C-H), de forma geral, descresem para as amostras tratadas e proporcionalmente os grupos oxigenados (C-OH/C-O-C) e (O-C=O) crescem, o mesmo foi observado no resultado do espectro geral de XPS (figura 19) que demonstra o aumento do sinal O 1s, corroborando também com os resultados obtidos por FTIR (figura 15) verificado pela diminuição das bandas de absorção dos grupos metilas e afins conforme o tempo de exposição ao

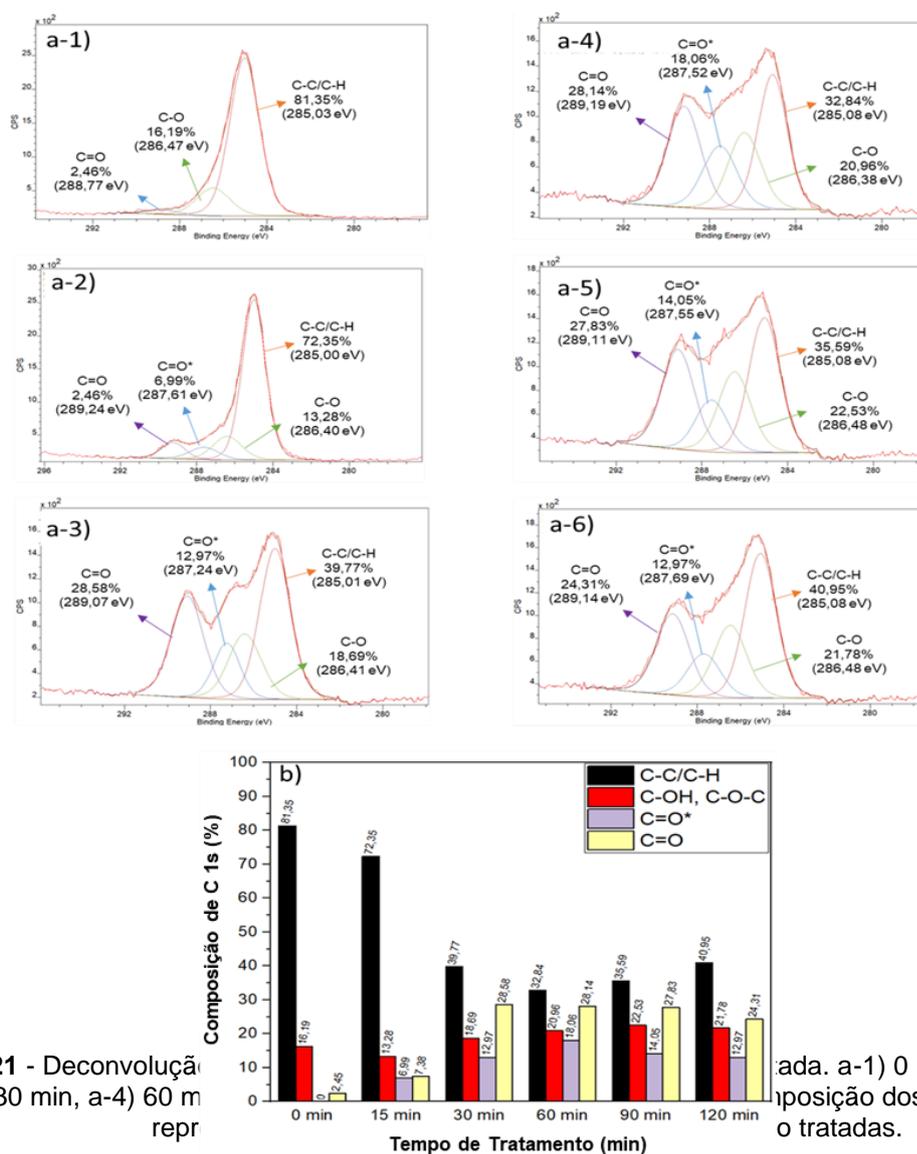


Figura 21 - Deconvolução dos espectros de XPS para o carbono (a-1) 0 min, a-2) 15 min, a-3) 30 min, a-4) 60 min, a-5) 90 min, a-6) 120 min. b) Composição dos componentes de C 1s (%) para as amostras tratadas.

UV. A presença do grupo (C-O-C) em 286,47 eV para amostra não tratada está relacionado a presença dos grupos epóxis do PI_{epox}, assim como dos grupos ésteres do PLGA (LÓPEZ; CASTNER; RATNER, 1991; NIETZOLD *et al.*, 2014).

Conforme o aumento do tempo exposição a irradiação UV ocorre o acréscimo do sinal de (C-OH/C-O-C), naturalmente pelo aumento dos grupos hidroxilas. Também teve o aumento dos grupos ésteres ou/e ácidos carboxílicos (O-C=O), assim como houve o surgimento de um novo grupo funcional oxigenado C=O*, possivelmente uma novo grupo carbonila menos eletronegativo, pois o sinal apareceu em valores de energias mais baixos ~287 eV, eventualmente esse grupo carbonila possui carbonos não ligado a átomos de oxigênio lateralmente. Esse tipo de fenômeno foi observado durante a fotólise UV do poli-3-hidroxi-butirato (KESSLER; MARCONATTO; *et al.*, 2014).

Na região de absorção da carbonila do espectro de FTIR (figura 15-C) é possível verificar o surgimento de um segundo pico em 1715 cm⁻¹, correlacionado à presença de grupos de ácidos carboxílicos, assim como está ocorrendo o alargamento da banda, sugerindo outros tipos de picos de carbonilas que estão sobrepostos.

Para composição química do O 1s, figura 21, podemos verificar um aumento da quantidade de grupos O-C/HO-C para amostras tratadas, qual é explicado pelo aumento das hidroxilas e ácidos carboxílicos. Ocorreu uma ligeira diminuição dos grupos O=C qual pode estar relacionada à cisão dos grupamentos ésteres do PLGA e ocorrência de novos grupamentos oxigenados.

De forma geral, podemos validar por FTIR e XPS a oxidação da blenda com o aumento dos grupos oxigenados, principalmente de hidroxilas, ésteres, ácidos carbóxicos e peróxidos. Considerando 120 minutos de tratamento a superfície blenda exibe um acréscimo aproximado de 30% de oxigênio e um decréscimo de 40% da composição de carbono. Manifestando também um acréscimo superior a 5% de grupos C-OH/C-O-C e 20% de O-C=O e por consequência um decréscimo de 40% de C-C/C-H. Para os componentes do O 1s as ligações O-C aumentaram 12% com a diminuição de 12% dos grupamentos O=C, ocorrendo variação desses componentes durante o tratamento.

O efeito da oxidação da superfície explica parcialmente o resultado do aumento da molhabilidade da blenda conforme o tempo de UV, revelando que o resultado não é óbvio. Logo o caráter “molhável” da superfície pode estar correlacionado a outros efeitos de maneira secundária, como a energia superficial e a modificação da topografia (KUBIAK *et al.*, 2011; KUMAR, S. S.; HIREMATH, 2019; RAMÓN-TORREGROSA *et al.*, 2008).

Esse resultado é de extrema relevância, pois exibem diversas consequências na aplicação da blenda em engenharia de tecidos. De maneira geral é conhecido que as células e as proteínas respondem bioquimicamente pela interação com diferentes tipos de substratos funcionalizados. É reportado que alguns polímeros tratados superficialmente e funcionalizados com grupos oxigenados e com caráter superficial hidrofílico possuem maior aderência e viabilidade celular (KESSLER; STEFFENS; *et al.*, 2014; KHORASANI; MIRZADEH; IRANI, 2008).

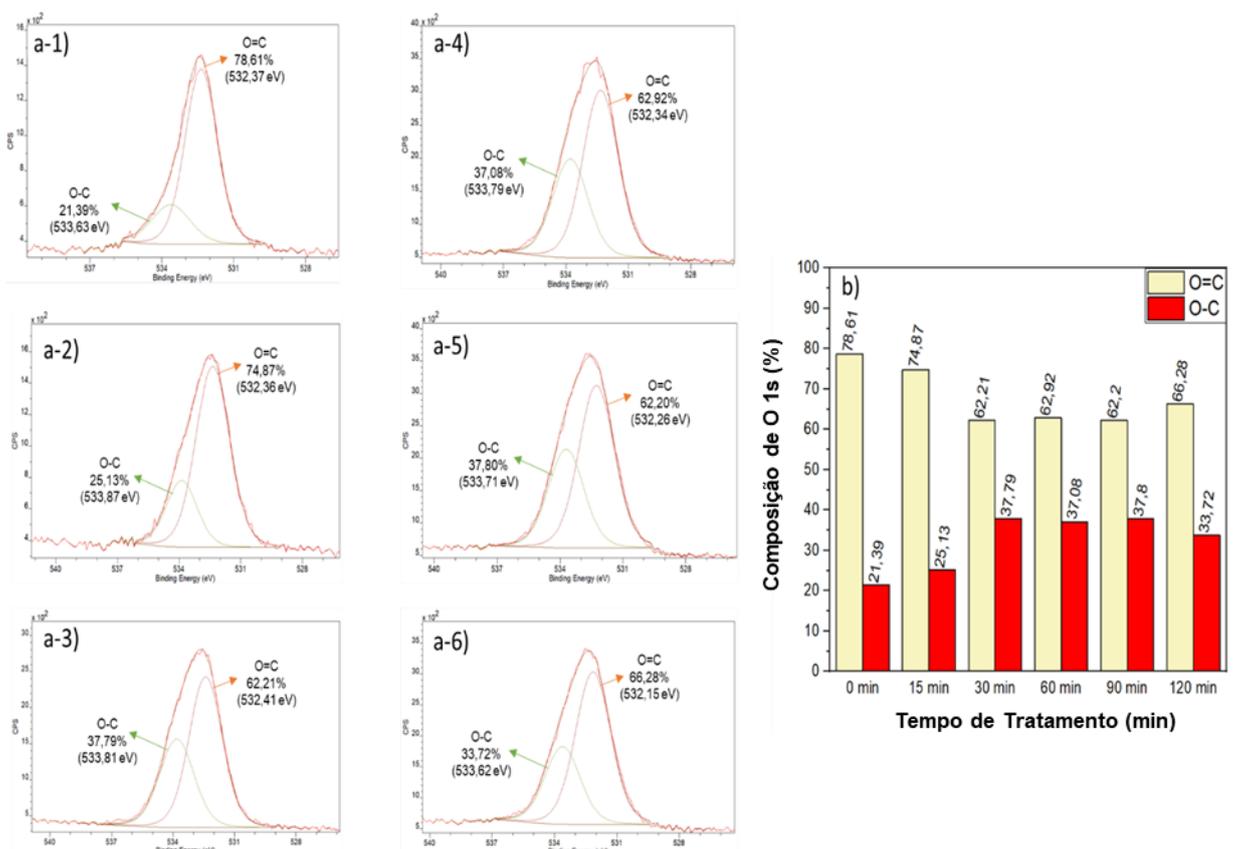


Figura 22 - Deconvolução do sinal O 1s para amostras tratadas e não tratada. a-1) 0 min, a-2) 15 min, a-3) 30 min, a-4) 60 min, a-5) 90 min e a-6) 120 min. b) Gráfico da composição dos componentes representativos de O 1s para amostras tratadas e não tratadas.

Como citado anteriormente, o trabalho de LIU, P. *et al.* (2018) demonstra que a modificação superficial do PLGA poroso usando plasma altera a molhabilidade pelo acréscimo de grupos oxigenados, onde a análise de XPS revela que houve uma redução de 40% das espécies de C-C/C-H e aumento de 5% de C=O e C-O, comprovando a oxidação do polímero. O autor realizou um estudo *in vivo* onde constatou as vantagens do implante tratado por UV na melhoria da afinidade/integração da célula/tecido.

4.2.7. Análise de DSC para amostras irradiadas por UV

Para analisar o efeito da irradiação UV nas propriedades térmicas associadas ao interior da blenda foi avaliado as Tg conforme o tempo de tratamento. Conforme a figura 23, consegue-se visualizar que ocorre variação da Tg conforme o aumento de tratamento UV, onde a primeira Tg associada ao PI_{epox} aumento 6,5 °C, corresponde a variação de -19,84 °C (0 min) para -13,34 °C (120 min) e a Tg relacionada ao PLGA diminuiu 2,16 °C, onde a temperatura inicial foi de 58,84 °C (0 min) e reduziu para 56,68 °C (120 min).

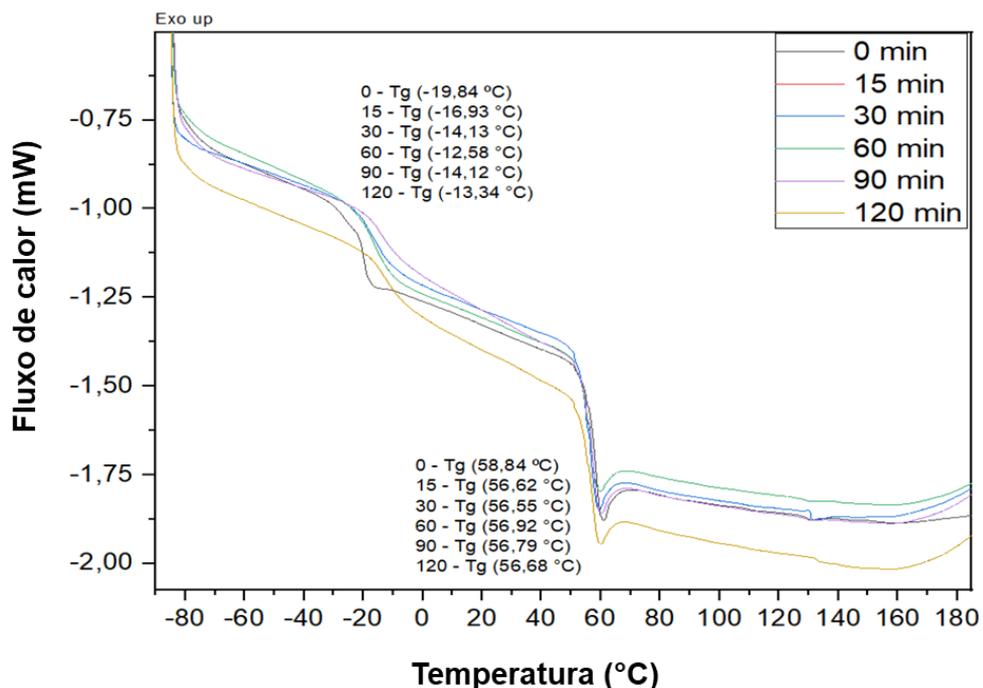


Figura 23 – Análise de DSC da blenda com as Tg identificadas para cada tempo de tratamento sob irradiação UV.

A diminuição entre os intervalos de Tg correspondente a blenda está associada diretamente ao aumento das interações intermoleculares entre as cadeias

poliméricas, principalmente por interações de hidrogênio, pois, como caracterizado, houve um aumento da quantidade grupos oxigenados como hidroxilas, carbonilas e ésteres com aumento da irradiação UV. Outra explicação é a ocorrência de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, conforme as evidências do aumento das vibrações (C-O-C) e também de ligações C-O, caracterizadas conforme os resultados de FTIR e XPS, respectivamente. Podemos presumir que a irradiação UV esteja causando ligações cruzadas tipo éter na blenda polimérica, seja entre os polímeros isolados (PLGA-PLGA/PI_{epox}-PI_{epox}) ou entre seus componentes (PLGA-PI_{epox}).

No estudo realizado por RATNAM *et al.* (2001b), expôs que o aumento da Tg do PI_{epox}, quando irradiado por feixe de elétrons, é explicada pelo aumento das interações de hidrogênios em decorrência das reações por radicais livre que aumentou a presença de grupos éteres, álcoois e hidroperóxidos. Também se caracterizou o aumento da fração gel devido à formação de ligações cruzadas entre as cadeias de PI_{epox} quando irradiadas, sendo os locais de reticulação propostos foram as reticulações do tipo éter (C-O-C), devido às reações de abertura de anel do grupo epóxi, e as ligações duplas, qual também oferecem locais apropriados para formação de reticulados (RATNAM *et al.*, 2000, 2001b).

No estudo que avaliou o efeito de feixe de elétrons no PLGA, foi evidenciado que a Tg do polímero irradiado diminui devido à cisão da cadeia polimérica, caracterizado a partir da diminuição da massa molecular do polímero. A diminuição dos valores de Tg foi explicada pela aumento da cisão da cadeia da fase amorfa, que resulta em um menor emaranhamento entre as cadeias e um aumento da mobilidade, portanto, exigindo uma menor quantidade de energia para reorientar essas curtas cadeias amorfas (LOO, J. S. C.; OOI; BOEY, 2005).

Dessa forma, como é conhecido, os efeitos das radiações podem alterar as propriedades físicas do interior da blenda, seja através da cisão da cadeia principal (degradação) ou por ligações cruzadas (polimerização) (CHYE JOACHIM LOO; PING OOI; CHIANG FREDDY BOEY, 2005). Por fim, são necessárias mais análises para verificar por quais tipos de modificações físicas o efeito UV promove sobre o interior da blenda polimérica.

4.2.8. Ensaio de degradação *in vitro*

Afim de avaliar a biodegradabilidade das amostras estudadas, figura 24-a), foram realizados ensaios de degradação em solução tampão de fosfato com pH = 7,4. Para avaliar os efeitos da irradiação no ensaio de degradabilidade, foram selecionadas as amostras com valor de WCA inicial (0 min), intermediário (60 min) e final (120 min). Durante o ensaio, as amostras tratadas por UV submergiam com facilidade na solução, enquanto as amostras sem tratamento exibiram dificuldade de imersão (flutuaram).

As amostras tratadas com UV, figura 24-b), independentemente do tempo de tratamento, promoveram maior absorção da solução tampão (~1,5%), efeito claro do aumento da molhabilidade, assim como pela possibilidade de inchamento devido ao surgimento de ligações cruzadas, conforme discutido na análise de DSC da blenda tratada. PHONG *et al.*, (2010) analisou as propriedades e hidrólise das ligações cruzadas de PLGA e PLA por feixe de elétrons, foi demonstrando que amostras irradiadas e que possuíam ligações cruzadas aumentaram a absorção de solução tampão e as amostras não irradiadas apresentaram maior perda de massa. Estes resultados foram obtidos para o ensaio de hidrólise em solução tampão de fosfato. As amostras de blenda PLGA/PI_{epox} não irradiada, figura 24 -b), exibiram valores de perda de massa similar aos reportados por GUERRA, N.B. (2018).

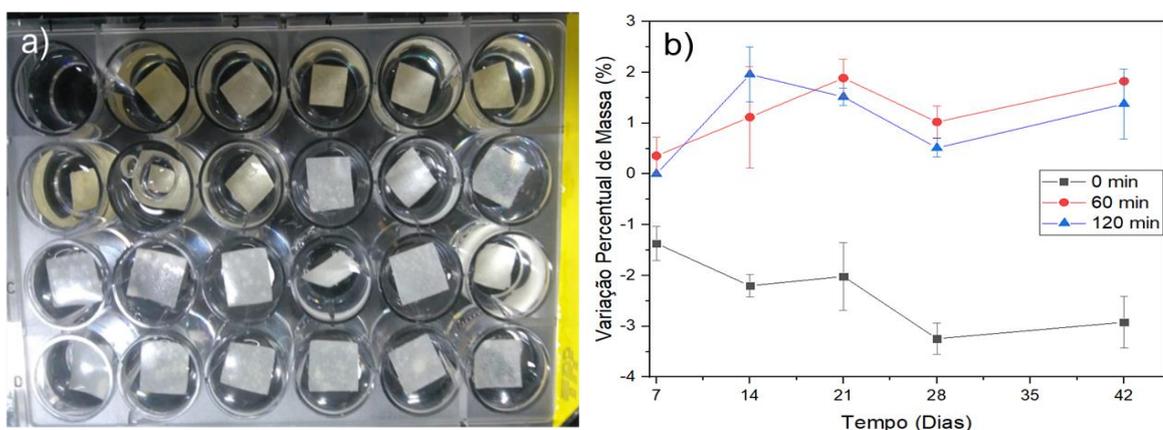


Figura 24 - Ensaio de degradação *in vitro* para amostras de blenda não tratadas e tratadas sob UV. a) Amostras em solução buffer e b) resultados de variação percentual de massa pelo tempo em dias.

A resistência à hidrólise da blenda tratada por UV é semelhante a trabalhos que avaliaram a hidrólise de polímeros com ligações cruzadas (PHONG *et al.*, 2010; QUYNH *et al.*, 2007). Essa resistência é explicada pelas densas redes poliméricas conectadas, as quais são formadas por meio das reticulações, e possivelmente pelo aumento da Tg do PI_{epox}, o que dificulta a penetração de água, sendo que ambos os fatores protegem as ligações ésteres de hidrolisar (PHONG *et al.*, 2010). A facilidade de absorção de água da blenda tratada facilita a hidratação do material, melhorando a permeabilidade e estimulando a resposta de interação celular (HENCKES *et al.*, 2019; O'BRIEN, 2011).

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho avaliou a modificação do caráter hidrofóbico/hidrofílico ou molhabilidade da blenda polimérica de PLGA/PI_{epox} utilizando o tratamento de UV.

A blenda polimérica de PLGA/PI_{epox} demonstrou ser do tipo imiscível a partir dos valores de T_g. A estabilidade térmica da blenda é compatível com dados da literatura, porém foi encontrado uma porcentagem de clorofórmio residual no polímero. Por sua heterogeneidade e pelo método de preparação do filme, foi possível caracterizar dois lados de superfícies nos resultados de ATR-FTIR, utilizando o tratamento UV no lado que exibia as bandas de absorção para ambos os polímeros, foi possível determinar as principais mudanças químicas relacionadas a oxidação da superfície.

Foi possível afirmar que o método UV foi eficaz na alteração da molhabilidade da blenda, onde a superfície inicialmente apresentava caráter hidrofóbico (WCA = $94^{\circ} \pm 5$) e após tempo 120 min de tratamento por UV, denotou caráter hidrofílico (WCA = $24,18^{\circ} \pm 1,85$).

A partir das análises de XPS e ATR-FTIR foi possível concluir que a blenda polimérica sofreu oxidação e cisão da cadeia polimérica, visto que houve o aumento dos grupos oxigenados na superfície, justificando o aumento da molhabilidade. O material tratado expressou o surgimento de bandas no infravermelho principalmente de hidroxilas, ácidos carboxílicos e peróxidos.

Da mesma maneira, os espectros de XPS demonstraram que a blenda tratada teve acréscimo de componentes químicos de oxigênio e, conseqüentemente, decréscimo de carbono. Os espectros de alta resolução do C 1s exibiram aumento dos tipos de ligações de componentes de hidróxidos, éter, ésteres, ácidos carboxílicos e cetonas/aldeídos (aumento de grupos C-OH/C-O-C, O-C=O e surgimento de ligações C=O), também ficou evidente a redução das componentes de ligações alquil (grupos C-H/C-C).

As análises de perfilometria ótica não foram precisas para avaliar a mudança da topografia, visto que os desvios e médias da rugosidade foram similares para os valores de tratamento abaixo de 90 min, somente a partir da amostra tratada com 120

min é possível presumir que o tratamento UV aumenta a rugosidade média do material.

A partir do ensaio de envelhecimento foi demonstrado que as amostras modificadas não preservaram o valor de WCA obtidos inicialmente, onde no 28° dia de envelhecimento, para o tempo de tratamento 120 min, o WCA aumentou aproximadamente 49°, porém as características hidrofílicas da superfície foram mantidas.

Os resultados de DSC evidenciaram alterações nos valores da Tg para blenda irradiada por UV, demonstrando modificações na mobilidade das cadeias poliméricas, uma vez que houve aumento das interações de hidrogênio e possivelmente o surgimento de ligações cruzadas tipo éter. No ensaio de degradação *in vitro* foi verificado que o tratamento UV na blenda promove a absorção de água, acarretando em menor degradabilidade quando comparado a blenda não irradiada, fenômeno ocasionado pela maior estabilidade de hidrólise.

É possível concluir que o tratamento UV da blenda polimérica de PLGA/PI_{epox} altera suas características superficiais, promovendo um caráter mais hidrofílico e, assim, propiciando futuras investigações na área de engenharia de tecidos.

6. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Tratamento UV da blenda de PLGA/PI_{epox} utilizando comprimentos de ondas fixos da região UV.
- Avaliação da viabilidade celular da blenda tratada por UV.
- Caracterização da nanofibras de blenda de PLGA/PI_{epox} obtidas por eletrofição e fição por centrifugação tratadas por irradiação UV.
- Avaliação das propriedades mecânicas da blenda de PLGA/PI_{epox} irradiada por UV.
- Avaliação da morfologia da blenda de PLGA/PI_{epox}.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANIA, F. *et al.* Interaction of different types of cells on physicochemically treated poly(L-lactide-co-glycolide) surfaces. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 85, n. 6, p. 1253–1262, 2002.

AYYOUB, M.; KIM, Y. J. Effect of chemical composition variant and oxygen plasma treatments on the wettability of PLGA thin films, synthesized by direct copolycondensation. *Polymers*, v. 10, n. 10, 2018.

AZARIAN, M. H.; BOOCHATHUM, P. Nanofiber films of chloroacetylated natural rubber/poly(vinyl alcohol) by electrospinning technique: Silica effects on biodegradation. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 135, n. 27, p. 1–10, 2018.

B.T.POH; K.S.LEE. FTIR Study of Thermal Oxidation of ENR. *European Polymer Journal*, v. 30, n. 1, p. 17–23, 1994.

BEHRENS, A. M. *et al.* In situ deposition of PLGA nanofibers via solution blow spinning. *ACS Macro Letters*, v. 3, n. 3, p. 249–254, 2014.

BELMONTE, G. K. *Modificação Superficial De Polímeros Fotoinduzida Por Radiação UV, VUV E EUV*. Dissertação (Mestrado). 127 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

BELMONTE, G. K. *et al.* Permanent hydrophilic modification of polypropylene and poly(vinyl alcohol) films by vacuum ultraviolet radiation. *Applied Surface Science*, v. 382, p. 93–100, 2016.

BORGES, F. A. *et al.* Application of natural rubber latex as scaffold for osteoblast to guided bone regeneration. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 134, n. 39, p. 1–10, 2017.

BRENNAN, W. J. *et al.* Investigation of the ageing of plasma oxidized PEEK. *Polymer*, v. 32, n. 8, p. 1527–1530, jan. 1991.

BRIGGS, D. *Surface Analysis of Polymers by XPS and Static SIMS*. Cambridge, University Press, 1998.

BURFIELD, D. R.; LIM, K. -L; LAW, K. -S. Epoxidation of natural rubber latices:

Methods of preparation and properties of modified rubbers. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 29, n. 5, p. 1661–1673, 1984.

CESAR, M. B. *et al.* Development and Characterization of Natural Rubber Latex and Polylactic Acid Membranes for Biomedical Application. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 28, n. 1, p. 220–230, 2020.

CHEN, F.; QIAN, J. Studies on the thermal degradation of cis-1,4-polyisoprene. *Fuel*, v. 81, n. 16, p. 2071–2077, 1 nov. 2002.

CHEN, L.; YAN, C.; ZHENG, Z. Functional polymer surfaces for controlling cell behaviors. *Materials Today*, v. 21, n. 1, p. 38–59, 2018.

CHUNG, S.; GAMCSIK, M. P.; KING, M. W. Novel scaffold design with multi-grooved PLA fibers. *Biomedical Materials*, v. 6, n. 4, 2011.

CHYE JOACHIM LOO, S.; PING OOI, C.; CHIANG FREDDY BOEY, Y. Influence of electron-beam radiation on the hydrolytic degradation behaviour of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA). *Biomaterials*, v. 26, n. 18, p. 3809–3817, 2005.

CIBULKOVÁ, Z. *et al.* DSC and FTIR study of the gamma radiation effect on cis-1,4-polyisoprene. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 84, n. 3, p. 709–713, 2006.

COSME, J. G. L. *et al.* Development of Biobased Poly(Lactic Acid)/Epoxidized Natural Rubber Blends Processed by Electrospinning: Morphological, Structural and Thermal Properties. *Materials Sciences and Applications*, v. 07, n. 04, p. 210–219, 2016.

COSTA, R. M.; RAUF, S.; HAUSER, C. A. E. Towards biologically relevant synthetic designer matrices in 3D bioprinting for tissue engineering and regenerative medicine. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, v. 2, p. 90–98, jun. 2017.

COURTNEY, J. M.; GILCHRIST, T. Silicone rubber and natural rubber as biomaterials. *Medical & Biological Engineering & Computing*, v. 18, n. 4, p. 538–540, 1980.

CUNNIFFE, G. M. *et al.* Three-Dimensional Bioprinting of Polycaprolactone Reinforced Gene Activated Bioinks for Bone Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part A*, v. 23, n. 17–18, p. 891–900, set. 2017.

DA SILVA, V. M.; NUNES, R. C. R.; DE SOUSA, A. M. F. Epoxidized natural rubber

and hydrotalcite compounds: rheological and thermal characterization. *Polimeros*, v. 27, n. 3, p. 208–212, 2017.

DAHAM, O. S. *et al.* Synthesis and structural studies of an epoxidized natural rubber/titania (ENR-50/TiO₂) hybrid under mild acid conditions. *Polymer Testing*, v. 65, p. 10–20, fev. 2018.

DHANDAYUTHAPANI, B. *et al.* Polymeric scaffolds in tissue engineering application: A review. *International Journal of Polymer Science*, v. 2011, n. ii, 2011.

DÍEZ-BUITRAGO, B. *et al.* Modification of chlorosulfonated polystyrene substrates for bioanalytical applications. *Materials Science and Engineering C*, v. 112, n. March, p. 110912, 2020.

DOLCI, L. S. *et al.* Carboxyl surface functionalization of poly(L-lactic acid) electrospun nanofibers through atmospheric non-thermal plasma affects fibroblast morphology. *Plasma Processes and Polymers*, v. 11, n. 3, p. 203–213, 2014.

DOLE, M. *The Radiation Chemistry Of Macromolecules*. v. 2, New York, Academic Press, 1974.

DOLE, M. *The Radiation Chemistry of Macromolecules*. v.1, New York, Academic Press New York and London, 1972.

DOS SANTOS, K. A. M.; SUAREZ, P. A. Z.; RUBIM, J. C. Photo-degradation of synthetic and natural polyisoprenes at specific UV radiations. *Polymer Degradation and Stability*, v. 90, n. 1, p. 34–43, 2005.

DURÁN, I. R. *et al.* Atmospheric pressure cold plasma versus wet-chemical surface treatments for carboxyl functionalization of polylactic acid: A first step toward covalent immobilization of bioactive molecules. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 189, 2020.

ERBETTA, C. D. C. *et al.* Synthesis and Characterization of Poly(D,L-Lactide-co-Glycolide) Copolymer. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, v. 03, n. 02, p. 208–225, 2012.

FABBRI, P.; MESSORI, M. Surface Modification of Polymers. *Modification of Polymer Properties*. Elsevier, p. 109–130, 2017.

- FERNÁNDEZ-BERRIDI, M. J. *et al.* Pyrolysis-FTIR and TGA techniques as tools in the characterization of blends of natural rubber and SBR. *Thermochimica Acta*, v. 444, n. 1, p. 65–70, 2006.
- FERREIRA, M. *et al.* Angiogenic properties of natural rubber latex biomembranes and the serum fraction of *Hevea brasiliensis*. *Brazilian Journal of Physics*, v. 39, n. 3, p. 564–569, 2009.
- FLORIANO, J. F. *et al.* Biocompatibility studies of natural rubber latex from different tree clones and collection methods. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 25, n. 2, p. 461–470, 2014.
- GAUVIN, R.; KHADEMHOSEINI, A. Microscale Technologies and Modular Approaches for Tissue Engineering: Moving toward the Fabrication of Complex Functional Structures. *ACS Nano*, v. 5, n. 6, p. 4258–4264, jun. 2011.
- GELLING, I. R. Modification of Natural Rubber Latex with Peracetic Acid. *Rubber Chemistry and Technology*, v. 58, n. 1, p. 86–96, 1 mar. 1985.
- GHASEMI-MOBARAKEH, L. *et al.* Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, v. 10, p. 45–50, 2019.
- GOMES, M. E.; REIS, R. L. Biodegradable polymers and composites in biomedical applications: from catgut to tissue engineering. Part 1 Available systems and their properties. *International Materials Reviews*, v. 49, n. 5, p. 261–273, 18 out. 2004a.
- GOMES, M. E.; REIS, R. L. Biodegradable polymers and composites in biomedical applications: from catgut to tissue engineering. Part 2 Systems for temporary replacement and advanced tissue regeneration. *International Materials Reviews*, v. 49, n. 5, p. 274–285, out. 2004b.
- GOONOO, N.; BHAW-LUXIMON, A.; JHURRY, D. Biodegradable polymer blends: Miscibility, physicochemical properties and biological response of scaffolds. *Polymer International*, v. 64, n. 10, p. 1289–1302, 2015.
- GRAVE, H.-H.; BAYER, A.; LEVERKUSEN, A. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. p 221-35, 1993.
- GUERRA, N. B. *et al.* Chemical and in vitro characterization of epoxidized natural rubber blends for biomedical applications. *Journal of Polymer Research*, v. 25, n. 8,

2018.

GUERRA, N. B. *Obtenção E Avaliação Da Blenda Poli (Isopreno) Epoxidado - Poli (Ácido Lático- Co-Glicólico) Para Engenharia De Tecidos*. Tese (Doutorado). Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, 2018.

HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. *Thermal Analysis — Fundamentals and Applications to Polymer Science*. 2. ed. Chichester: Wiley, 1999. v. 51.

HE, C. *et al.* Thermal degradation kinetics and mechanism of epoxidized natural rubber. *Journal of Polymer Engineering*, v. 33, n. 4, p. 331–335, 2013.

HENCKES, N. A. C. *et al.* Tissue-engineered solution containing cells and biomaterials—an in vitro study: A perspective as a novel therapeutic application. *International Journal of Artificial Organs*, v. 42, n. 6, p. 307–314, 2019.

HETEMI, D.; PINSON, J. Surface functionalisation of polymers. *Chemical Society Reviews*, v. 46, n. 19, p. 5701–5713, 2017.

HOSOYA, K.; OYA, K.; IWAMORI, S. Depth direction analysis of polystyrene surface modified by active oxygen species generated by ultraviolet irradiation. *Chemistry Letters*, v. 49, n. 4, p. 350–353, 2020.

INOUE, T.; SAITO, H. Polymer-polymer miscibility. *Kobunshi*, v. 38, n. 4, p. 288–291, 1989.

IQBAL, N. *et al.* Recent concepts in biodegradable polymers for tissue engineering paradigms: a critical review. *International Materials Reviews*, v. 64, n. 2, p. 91–126, 2019.

JELIL, R. A. A review of low-temperature plasma treatment of textile materials. *Journal of Materials Science*, v. 50, n. 18, p. 5913–5943, 2015.

KEIROUZ, A. *et al.* 2D and 3D electrospinning technologies for the fabrication of nanofibrous scaffolds for skin tissue engineering: A review. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 12, n. 4, p. 1–32, 2020.

KESSLER, F.; MARCONATTO, L.; *et al.* Biodegradation improvement of poly(3-hydroxy-butyrate) films by entomopathogenic fungi and UV-assisted surface functionalization. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 130, p.

57–67, 2014.

KESSLER, F. *et al.* Controlling the surface wettability of poly(sulfone) films by UV-assisted treatment: Benefits in relation to plasma treatment. *Polymer International*, v. 62, n. 2, p. 310–318, 2013.

KESSLER, F.; STEFFENS, D.; *et al.* Wettability and cell spreading enhancement in poly(sulfone) and polyurethane surfaces by uv-assisted treatment for tissue engineering purposes. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v. 11, n. 1, p. 23–31, 2014.

KHAN, A. S. *et al.* Fabrication and in vivo evaluation of hydroxyapatite/carbon nanotube electrospun fibers for biomedical/dental application. *Materials Science and Engineering: C*, v. 80, p. 387–396, nov. 2017.

KHORASANI, M. T.; MIRZADEH, H.; IRANI, S. Plasma surface modification of poly (l-lactic acid) and poly (lactic-co-glycolic acid) films for improvement of nerve cells adhesion. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 77, n. 3, p. 280–287, 2008.

KIM, H. *et al.* Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Stem Cell in Poly(Lactic-co-Glycolic Acid) Scaffold Loaded Various Ratio of Hydroxyapatite. *International Journal of Stem Cells*, v. 6, n. 1, p. 67–74, 30 maio 2013.

KIM, J. H. *et al.* Experimental Comparative Study of the Histotoxicity of Poly (Lactic-co-Glycolic Acid) copolymer and Poly (Lactic- co-Glycolic Acid) -Poly (Isoprene) Blend. *Polímeros*, v. 24, n. 5, p. 529–535, 2014.

KONDO, T. *et al.* Effect of reactive oxygen species generated with ultraviolet lamp and plasma on polyimide surface modification. *Surface and Interface Analysis*, v. 49, n. 11, p. 1069–1077, 2017.

KOO, G. H.; JANG, J. Surface modification of poly(lactic acid) by UV/Ozone irradiation. *Fibers and Polymers*, v. 9, n. 6, p. 674–678, 2008.

KUBIAK, K. J. *et al.* Wettability versus roughness of engineering surfaces. *Wear*, v. 271, n. 3–4, p. 523–528, 2011.

KUMAR, N. R. *et al.* Structural changes in rubber during milling. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 45, n. 6, p. 937–945, 1992.

KUMAR, S. S.; HIREMATH, S. S. Effect of surface roughness and surface topography on wettability of machined biomaterials using flexible viscoelastic polymer abrasive media. *Surface Topography: Metrology and Properties*, v. 7, n. 1, 2019.

KWOK, D. Y. *et al.* Contact angle measurements and contact angle interpretation. 1. Contact angle measurements by axisymmetric drop shape analysis and a goniometer sessile drop technique. *Langmuir*, v. 13, n. 10, p. 2880–2894, 1997.

LAMBERT, J. B.; MAZZOLA, E. P. *Nuclear magnetic resonance spectroscopy An Introduction to Principles, Applications, and Experimental Methods*. New Jersey, Person Education, 2004.

LEE, J. B. *et al.* Modification of PLGA nanofibrous mats by electron beam irradiation for soft tissue regeneration. *Journal of Nanomaterials*, v. 2015, 2015.

LIM, J. *et al.* Polymer powder processing of cryomilled polycaprolactone for solvent-free generation of homogeneous bioactive tissue engineering scaffolds. *Small*, v. 10, n. 12, p. 2495–2502, 2014.

LINSTROM, P.J.; MALLARD, W.G. NIST Chemistry Webbook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute Of Standards And Technology, Gaithersburg MD, 20899, 2018. Disponível em: <<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C67663&Type=IR-SPEC&Index=1#IR-SPEC>>. Acesso em: 1 Setembro 2020.

LIN, T. *et al.* Renewable conjugated acids as curatives for high-performance rubber/silica composites. *Green Chemistry*, v. 17, n. 6, p. 3301–3305, 2015.

LIU, C. *et al.* Enhanced cell colonization of collagen scaffold by ultraviolet/ozone surface processing. *Tissue Engineering - Part C: Methods*, v. 16, n. 6, p. 1305–1314, 2010.

LIU, P. *et al.* Surface modification of porous PLGA scaffolds with plasma for preventing dimensional shrinkage and promoting scaffold-cell/tissue interactions. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 6, n. 46, p. 7605–7613, 2018.

LOO, J. S. C.; OOI, C. P.; BOEY, F. Y. C. Degradation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA) by electron beam radiation. *Biomaterials*, v. 26, n. 12, p. 1359–1367, 2005.

LOO, S. C. J.; OOI, C. P.; BOEY, Y. C. F. Radiation effects on poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA). *Polymer Degradation and Stability*, v. 83, n. 2, p. 259–265, 2004.

LÓPEZ-SANTOS, C. *et al.* Physiological Degradation Mechanisms of PLGA Membrane Films under Oxygen Plasma Treatment. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 119, n. 35, p. 20446–20452, 2015.

LÓPEZ, G. P.; CASTNER, D. G.; RATNER, B. D. XPS O 1s binding energies for polymers containing hydroxyl, ether, ketone and ester groups. *Surface and Interface Analysis*, v. 17, n. 5, p. 267–272, 1991.

MARQUES, DOUGLAS R. *et al.* In vitro evaluation of poly (lactic-co-glycolic acid)/polyisoprene fibers for soft tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, v. 105, n. 8, p. 2581–2591, 2017.

MARQUES, DOUGLAS RAMOS *et al.* Analysis of Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)/Poly(Isoprene) Polymeric Blend for Application as Biomaterial. *Polímeros Ciência e Tecnologia*, v. 23, n. 5, p. 579–584, 2013.

MARQUES, D. R. Fibras De Poli (Ácido Láctico-Co-Glicólico)/Poliisopreno Para Aplicação Em Engenharia De Tecidos. Tese (Doutorado). 130 f. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, 2015.

MARQUES, D. R. *Obtenção E Caracterização De Blendas Poliméricas De Poli (Ácido Láctico-Co-Glicólico) E Poli (Isopreno) Para Aplicação Como Biomaterial.* Dissertação (Mestrado). 121 f. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, 2011.

MARQUES, D. R.; DOS SANTOS, L. A.; SOUSA, V. C.; SANCHES, P. R. S.; MACEDO NETO, A. V. Blendas Poliméricas de Poli (Ácido Láctico-coGlicólico) e Poliisopreno. Número de Registro de Patente: 0000221010682444, 2011a.

MCNEILL, I. C.; LEIPER, H. A. Degradation studies of some polyesters and polycarbonates—2. Polylactide: Degradation under isothermal conditions, thermal degradation mechanism and photolysis of the polymer. *Polymer Degradation and Stability*, v. 11, n. 4, p. 309–326, jan. 1985.

MOBASSERI, S. A.; TERENCEHI, G.; DOWNES, S. Schwann cell interactions with polymer films are affected by groove geometry and film hydrophilicity. *Biomedical*

Materials (Bristol), v. 9, n. 5, 2014.

MONTANARI, L. *et al.* Gamma irradiation effects on stability of poly(lactide-co-glycolide) microspheres containing clonazepam. *Journal of Controlled Release*, v. 75, n. 3, p. 317–330, 2001.

MONTANARI, LUISA *et al.* Gamma irradiation effects on poly(DL-lactide-co-glycolide) microspheres. *Journal of Controlled Release*, v. 56, n. 1–3, p. 219–229, 1998.

MORENT, R. *et al.* Study of the ageing behaviour of polymer films treated with a dielectric barrier discharge in air, helium and argon at medium pressure. *Surface and Coatings Technology*, v. 201, n. 18, p. 7847–7854, jun. 2007.

MORRA, M.; OCCHIELLO, E.; GARBASSI, F. Contact angle hysteresis on oxygen plasma treated polypropylene surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 132, n. 2, p. 504–508, out. 1989.

MURAKAMI, T.; KURODA, S.; OSAWA, Z. Dynamics of Polymeric Solid Surfaces Treated with Oxygen Plasma: Effect of Aging Media after Plasma Treatment. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 202, n. 1, p. 37–44, jun. 1998.

NEDELA, O.; SLEPICKA, P.; ŠVORCÍK, V. Surface modification of polymer substrates for biomedical applications. *Materials*, v. 10, n. 10, 2017.

NEMANI, S. K. *et al.* Surface Modification of Polymers: Methods and Applications. *Advanced Materials Interfaces*, v. 5, n. 24, p. 1–26, 2018.

NIETZOLD, C. *et al.* Functional group quantification on epoxy surfaces by chemical derivatization (CD)-XPS. *Surface and Interface Analysis*, v. 46, n. 10–11, p. 668–672, 2014.

O'BRIEN, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, v. 14, n. 3, p. 88–95, mar. 2011.

OLIVEIRA, P. S. *et al.* Obtenção de scaffolds bioabsorvíveis a partir de blenda de PLGA e IR com adição de hidroxiapatita. *Matéria (Rio de Janeiro)*, v. 24, n. 3, 2019.

PAHUJA, R. *et al.* Trans-blood brain barrier delivery of dopamine-loaded nanoparticles reverses functional deficits in parkinsonian rats. *ACS Nano*, v. 9, n. 5, p. 4850–4871,

2015.

PHONG, L. *et al.* Properties and hydrolysis of PLGA and PLLA cross-linked with electron beam radiation. *Polymer Degradation and Stability*, v. 95, n. 5, p. 771–777, 2010.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado. *Quimica Nova*, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.

PRADAS, M. M.; VICENT, M. J. *Polymers in regenerative medicine*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. v. 1.

QUYNH, T. M. *et al.* Properties of crosslinked polylactides (PLLA & PDLA) by radiation and its biodegradability. *European Polymer Journal*, v. 43, n. 5, p. 1779–1785, 2007.

RAMÓN-TORREGROSA, P. J. *et al.* Factors affecting the measurement of roughness factor of surfaces and its implications for wetting studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 323, n. 1–3, p. 83–93, 2008.

RATNAM, C. T. *et al.* Electron beam irradiation of epoxidized natural rubber. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, v. 171, n. 4, p. 455–464, 2000.

RATNAM, C. T. *et al.* Evidence of irradiation-induced crosslinking in miscible blends of poly(vinyl chloride)/epoxidized natural rubber in presence of trimethylolpropane triacrylate. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 81, n. 8, p. 1914–1925, 2001a.

RATNAM, C. T. *et al.* The effect of electron beam irradiation on the tensile and dynamic mechanical properties of epoxidized natural rubber. *European Polymer Journal*, v. 37, n. 8, p. 1667–1676, 2001b.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; MCARTHUR, S. L. Physicochemical Surface Modification of Materials Used in Medicine. *Biomaterials Science*. Fourth Edition. [S.l.]: Elsevier, 2020. p. 487–505.

RIBEIRO, D. F. DA S. *Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas inaláveis para vetorização de macrófagos e tratamento da tuberculose*. 2019. 88 f. Universidade Estadual de Goiás, 2019.

RUDOLPH, A. *et al.* Surface modification of biodegradable polymers towards better

- biocompatibility and lower thrombogenicity. *PLoS ONE*, v. 10, n. 12, p. 1–17, 2015.
- RUSU, R. D. *et al.* Polyimide films tailored by UV irradiation: Surface evaluation and structure-properties relationship. *Polymer Degradation and Stability*, v. 177, 2020.
- SILVA, A. T. C. R. *et al.* Synthesis, Characterization, and Study of PLGA Copolymer in Vitro Degradation. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, v. 06, n. 01, p. 8–19, 2015.
- SILVA, M. F. *et al.* Study of thermal degradation of PLGA, PLGA nanospheres and PLGA/maghemite superparamagnetic nanospheres. *Materials Research*, v. 18, n. 6, p. 1400–1406, 2015.
- STEVENS, M. M. Exploring and Engineering the Cell Surface Interface. *Science*, v. 310, n. 5751, p. 1135–1138, 18 nov. 2005.
- SUBRAMANIAN, M. N. *Polymer Blends and Composites*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2017. v. 52.
- SUN, W. *et al.* Chemical Surface Modification of Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications. *Macromolecular Rapid Communications*, v. 41, n. 8, p. 1–26, 2020.
- SUSSMAN, G. L.; BEEZHOLD, D. H.; KURUP, V. P. Allergens and natural rubber proteins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 110, n. 2 SUPPL., p. 33–39, 2002.
- TANG, BEN ZHONG, A. S. A.-E.-A. *Natural Rubber Materials* (Polymer Chemistry Series). Cambridge: Royal Society of Chemistry, v. 1, 2013.
- VECHIETTI, F. A. *et al.* Fibers Obtaining and Characterization Using Poly (Lactic-co-Glycolic Acid) and Poly (Isoprene) Containing Hydroxyapatite and α TCP Calcium Phosphate by Electrospinning Method. *Key Engineering Materials*, v. 631, n. November, p. 173–178, 2014.
- VEY, E. *et al.* Degradation kinetics of poly(lactic-co-glycolic) acid block copolymer cast films in phosphate buffer solution as revealed by infrared and Raman spectroscopies. *Polymer Degradation and Stability*, v. 96, n. 10, p. 1882–1889, 2011.
- VICKERMAN, J. C.; GILMORE, I. S. *Surface Analysis - The Principal Techniques*. Chichester, Wiley, 2. ed, 2009.

VISSCHER, M.; STRUIK, K. G. Optical profilometry and its application to mechanically inaccessible surfaces Part I : Principles of focus error detection. v. 16, n. 3, 1994.

WANG, X.; LIAN, K.; CHEN, T. Experiment research on bonding effect of poly(lactic-co-glycolic acid) device by surface treatment method. *International Journal of Polymer Science*, 2015.

WU, S. *et al.* Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, v. 80, p. 1–36, jun. 2014.

XU, K. *et al.* Preparation and characterization of epoxidized natural rubber. *Advanced Materials Research*, v. 396–398, p. 478–481, 2012.

YIXIANG, D. *et al.* Degradation of electrospun nanofiber scaffold by short wave length ultraviolet radiation treatment and its potential applications in tissue engineering. *Tissue Engineering - Part A.*, v. 14, n. 8, p. 1321–1329, 2008.

YUN, Y. IL *et al.* Aging behavior of oxygen plasma-treated polypropylene with different crystallinities. *Journal of Adhesion Science and Technology*, v. 18, n. 11, p. 1279–1291, jan. 2004.