



Universidade do Minho  
Escola de Engenharia

Ricardo Batista Lima

Nanofibras de Materiais Biológicos

Ricardo Batista Lima Nanofibras de Materiais Biológicos

UMinho | 2013

dezembro de 2013





Universidade do Minho  
Escola de Engenharia

Ricardo Batista Lima

Nanofibras de Materiais Biológicos

Tese de Mestrado  
Ciclo de Estudos Integrados Conducentes ao  
Grau de Mestre em Engenharia de Materiais

Trabalho efetuado sob a orientação da  
Professora Doutora Etelvina de Matos Gomes  
Professora Doutora Bernardo Almeida

dezembro de 2013

## DECLARAÇÃO

Nome: Ricardo Batista Lima

Correio electrónico: ricardolimamateriais@gmail.com

Tel./Tlm.: 963218047

Número do Bilhete de Identidade: 12850740

Título da dissertação:

Nanofibras de Materiais Biológicos

Ano de conclusão: 2013

Orientador(es): Pr. Dra. Etelvina de Matos Gomes

Pr. Dr. Bernardo Almeida

Designação do Mestrado:

Ciclo de Estudos Integrados Conducentes ao Grau de Mestre em Engenharia de Materiais

Área de Especialização: Engenharia de Materiais

Escola Escola de Engenharia

Departamento: Departamento de Física

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Guimarães, 19/12/2013

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **Agradecimentos:**

Agradeço ao Dr. Dmitry Isakov, à Dra. Etelvina Gomes e ao Dr. Bernardo Almeida por todo o apoio, disponibilidade, dedicação e paciência para que fosse possível a concretização deste trabalho, sendo fulcral os seus conhecimentos, orientação e críticas construtivas para o avanço e concretização do projeto abordado.

Aos meus pais e irmão, por me apoiarem, contribuírem positivamente para todas as etapas do meu percurso académico e por sempre acreditarem no meu sucesso.

A todos os meus colegas de curso, pelo companheirismo, prestabilidade e por se mostrarem sempre disponíveis para me auxiliarem nos momentos mais difíceis, em particular ao Tiago por todo o apoio a que se prestou.

Um especial agradecimento à Vânia por todas as horas de que foi privada para me auxiliar e apoiar, sempre com um sorriso nos lábios e pela sua inabalável crença no meu sucesso.

## **Resumo:**

Com a emergência da nanotecnologia tornou-se crítico estudar as propriedades de novos compostos, em particular os aminoácidos em escala nanométrica porque estes apresentam propriedades únicas ou propriedades realçadas comparativamente aos mesmos em escala macrométrica.

Este projeto visa desenvolver e estudar as propriedades dos materiais biológicos, em particular de aminoácidos, com potenciais propriedades piezoelétricas. Trata-se de compostos cristalinos com momentos dipolares permanentes e elevados que estão relacionados com propriedades fundamentais de conectividade entre ossos, dentes, vertebrae e tendões do corpo humano. Apresentam vantagens comparativamente com os materiais piezoelétricos inorgânicos normalmente utilizados porque são facilmente processados, têm boa solubilidade em diversos solventes, são transparentes, facilmente decompostos e amigos do ambiente.

As soluções preparadas são de Polivinil álcool (PVA), Óxido de polietileno (PEO) e Polivinilpirrolidona (PVP), todos fornecidos pela Sigma-Aldrich. A incorporação dos aminoácidos foi efetuada em percentagens distintas em peso para se tentar atingir a maior incorporação possível deste nas fibras sem alterar as suas propriedades físicas iniciais e atingir o máximo de realce das propriedades em estudo. As soluções foram produzidas utilizando como solvente água destilada porque esta apresenta-se como o melhor solvente para os materiais a utilizar, não alterando as suas propriedades e com um elevado rendimento na dissolução dos mesmos.

As nanofibras foram obtidas por electrospinning que é uma técnica de baixo custo, flexível para a síntese de fibras a partir de polímeros e com uma elevada compatibilidade com a formação de guias de onda para optoeletrónica. Esta é uma técnica em crescendo e já com elevadas aplicações no campo da engenharia de tecidos, biossensores, filtração, revestimentos de feridas, sistemas de distribuição de fármacos e imobilização de enzimas.

A caracterização morfológica e estrutural das nanofibras produzidas efetua-se através das técnicas de MEV e DRX. A verificação da piezoelectricidade foi levada a cabo na Universidade de Aveiro com recurso à técnica de PFM.

## **Abstract:**

With the rise of nanotechnology it is critical to study the properties of new compounds, particularly the amino acids in a nanometric scale because these compounds demonstrate unique properties or highlighted properties when compared to those in a macrometric scale.

The objective of this project is to develop and study the properties of biological materials, particularly amino acids, with potential piezoelectric properties. These are crystalline compounds with molecular dipolar moments which are permanent and in a high number and are among the fundamental properties of connective tissues reported for bones, teeth, vertebrate tendons, which might be related to the presence of a large number of charged amino acids.

These organic compounds have advantages when compared to the piezoelectric inorganic materials which are normally used, because they are easily processed, they have good solubility in several solvents, are transparent, easily decomposed and environmentally friendly. The prepared solutions are composed of Polyvinyl Alcohol (PVA), Polyethylene Oxide (PEO) and Poly (vinylpirrolidone) (PVP) supplied by Sigma-Aldrich. The incorporation of the amino acids was done on a distinct rate of weight in order to achieve the highest possible incorporation of it on fibers without modifying their initial physical properties and to highlight the properties being studied as much as possible. The solutions were prepared using distilled water as a solvent because it is the least harmful solvent for the materials being used, not modifying its properties and with a high yield on their dissolution.

The nanofibers were obtained by the electrospinning technique which is a low cost technique, flexible for the synthesis of fiber from polymers and with a high compatibility with the formulation of wave guides. Electrospinning is a globally rising technique already applied on several fields such as tissue engineering, biosensors, filtration, wound dressing, drug distribution systems and enzyme's immobilization.

The morphological and structural characterization of the produced nanofibers was performed through techniques such as SEM and XRD. The piezoelectric characterization was made in Aveiro University using the PFM technique.

**Índice**

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO .....	1
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Electrospinning.....	3
2.2.1 Parâmetros de solução.....	6
2.2.2 Parâmetros do processo .....	11
2.2.3 Parâmetros ambientais.....	13
2.3 Near-field Electrospinning .....	14
2.4 Polímeros.....	16
2.4.1 PVA.....	16
2.4.2 PEO .....	17
2.4.3 PVP.....	18
2.5 Compostos a incorporar.....	18
2.5.1 L-Alanina .....	19
2.5.2 DL-Alanina.....	21
2.5.3 L-Arginina.....	23
2.5.4 Sal de Rochelle.....	25
2.6 Piezoelectricidade.....	27
2.7 Ferroelectricidade.....	27
2.8 Caracterização.....	28
2.8.1 DRX .....	28
2.8.2 MEV .....	29
2.8.3 PFM.....	31
CAPÍTULO 3 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	35
3.1.1 Preparação das soluções de polímero e L-alanina .....	35
3.1.2 Electrospinning – parâmetros utilizados .....	37
3.1.3 Caracterização das fibras de PVA.....	38
3.1.4 Caracterização fibras polímero e glicina .....	41
3.1.5 Caracterização das fibras de PEO .....	43
3.2.1 Preparação das soluções de polímero e DL-alanina .....	46
3.2.2 Electrospinning – parâmetros utilizados .....	47
3.2.3 Caracterização das fibras de PVP.....	48
3.2.4 Caracterização das fibras de PVA.....	50

3.2.5 Caracterização das fibras de PEO .....	52
3.3.1 Preparação das soluções de polímero e L-arginina .....	56
3.3.2 Electrospinning – parâmetros utilizados .....	56
3.3.3 Caracterização das fibras de PVP .....	57
3.3.4 Caracterização das fibras de PEO .....	58
3.4.1 Preparação das soluções de polímero e sal de Rochelle .....	61
3.4.2 Electrospinning – parâmetros utilizados .....	62
3.4.3 Caracterização das fibras de PEO .....	62
3.4.4 Caracterização das fibras de PVP .....	63
3.5. Resposta piezoelétrica .....	67
3.6 Montagem do equipamento de near-field electrospinning.....	69
CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES.....	73
4.1 Trabalhos futuros .....	75
ANEXOS .....	80

## Índice de figuras

Figura 1 - Pesquisas com palavra-chave " <i>electrospinning</i> " .....	3
Figura 2 - Esquema tradicional de produção de fibras e respetivas fibras .....	4
Figura 3- Esquema de produção do primeiro equipamento de electrospinning patentado.....	5
Figura 4- Esquema de formação do cone de Taylor.....	5
Figura 5- Variação do diâmetro médio das fibras em função da concentração de polímero .....	6
Figura 6- Variação da constante dielétrica da água em função da temperatura .....	9
Figura 7 - Esquema de distribuição dos dipolos na gota de solução.....	9
Figura 8- Diferença de orientação das fibras em função da velocidade de rotação .....	13
Figura 9- Esquema da montagem experimental de near-field electrospinning.....	15
Figura 10- Esquema de produção de PVA.....	16
Figura 11- PEO disponível na forma granular .....	17
Figura 12- Esquema de produção de PVP.....	18
Figura 13- Distinção entre molécula L e D de alanina .....	19
Figura 14- Planos hidrofóbicos da L-alanina .....	20
Figura 15- Comportamento em solução da molécula de L-a.....	20
Figura 16- Difratoograma obtido através do software " <i>Mercury</i> " de cristais de L-alanina .....	21
Figura 17- Esquema da molécula de DL-alanina .....	22
Figura 18- Solubilidade da DL-A em função da temperatura .....	22
Figura 19- Difratoograma obtido através do <i>software</i> " <i>Mercury</i> " de cristais de DL-alanina.....	23
Figura 20- Esquema da molécula de L-arginina.....	24
Figura 21- Difratoograma obtido através do <i>software</i> " <i>Mercury</i> " de cristais de L-arginina.....	24
Figura 22- Esquema da molécula do sal de Rochelle .....	25
Figura 23- Diferentes estruturas do sal de Rochelle.....	26
Figura 24- Representação do efeito piezoelétrico no cristal de quartzo.....	27
Figura 25- Esquema representativo da incidência dos raios-X na amostra .....	29
Figura 26- Difratoograma tipo com orientação preferencial .....	29
Figura 27- Equipamento experimental e resultados obtidos por MEV .....	30
Figura 28- Ilustração do funcionamento da técnica de caracterização MEV.....	30
Figura 29- Esquema de análise PFM .....	32
Figura 30- Resultados tipo obtidos em fibras por análise PFM.....	33
Figura 31- Representação dos tipos de leitura possíveis em PFM .....	33
Figura 32- Interpretação do volume da amostra em estudo.....	34
Figura 33- Equipamento para produção de soluções de PVA.....	36
Figura 34- Soluções obtidas de PVA com L-a em diferentes percentagens .....	36
Figura 35 - Difratoograma obtido da solução 1/1 PVA/L-a.....	39
Figura 36- Imagens obtidas por MEV para a solução 1/1 PVA-La, da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x.....	39
Figura 37 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVA/-La .....	40
Figura 38 - Difratoograma da solução 2/1 PVA/L-a .....	40
Figura 39 - Imagens obtidas por MEV para a solução a 2/1 PVA/L-a da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x .....	41
Figura 40 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 2/1 PVA/-La .....	41
Figura 41 - Difratoograma obtido da solução de PVA/Glicina .....	42

Figura 42 - Imagens obtidas por MEV para solução PVA/Glicina, da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x.....	42
Figura 43 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PVA/Glicina.....	43
Figura 44- Difratoograma da solução 1/1 com PEO100/L-a.....	43
Figura 45 - Difratoograma solução 3/4 com PEO900/L-a.....	44
Figura 46- Imagens obtidas por MEV para solução 3/4 PEO900/L-a, da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x.....	44
Figura 47 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 3/4 PEO900/L-a.....	45
Figura 48 - Representação do plano obtido no <i>software</i> "Mercury" de L-alanina.....	45
Figura 49 - Presença de fungos em solução.....	47
Figura 50 - Tapete de PVA obtido no coletor a baixa rotação.....	48
Figura 51 - Imagens obtidas por MEV para solução de 2/1 PVP/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 4000x.....	49
Figura 52 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 2/1 PVP/DL-a.....	49
Figura 53 - Imagens obtidas por MEV para solução de 1/1 PVP/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x.....	50
Figura 54 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVP/DL-a.....	50
Figura 55 - Difratoograma solução 1/1 de PVA/DL-a.....	51
Figura 56 - Imagens obtidas por MEV para solução de 1/1 PVA/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x.....	51
Figura 57 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVA/DL-a.....	52
Figura 58 - Difratoograma solução 1/1 de PEO300/DL-a.....	52
Figura 59- Imagens obtidas por MEV para solução de PEO300/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 20000x.....	53
Figura 60 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PEO300/DL-a.....	53
Figura 61 - Difratoograma solução de PEO900/DL-a.....	54
Figura 62 - Imagens obtidas por MEV para solução de PEO900/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x.....	54
Figura 63- Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PEO900/DL-a.....	55
Figura 64 - Representação do plano obtido no <i>software</i> "Mercury" de DL-alanina.....	55
Figura 65 - Difratoograma solução de PVP/L-ag.....	58
Figura 66 - Imagens obtidas por MEV para solução de PVP/L-ag, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x.....	58
Figura 67 - Difratoograma solução de PEO300/L-ag.....	59
Figura 68 - Imagens obtidas por MEV para solução de PEO300/L-ag, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 20000x.....	59
Figura 69 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PEO300/L-ag.....	60
Figura 70 - Representação do plano obtido no <i>software</i> "Mercury" de L-arginina.....	60
Figura 71 - Difratoograma solução de 1/1 PEO300/Rx.....	63
Figura 72 - Difratoograma solução de 2/1 PEO300/Rx.....	63
Figura 73 - Difratoograma soluções de PVP/Rx.....	64
Figura 74 - Imagens obtidas por MEV para solução de 100/80 PVP/Rx, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 50000x.....	65
Figura 75 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 100/80 PVP/Rx.....	65
Figura 76 - Imagens obtidas por MEV para solução de 1/1 PVP/Rx, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 50000x.....	66

Figura 77 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVP/Rx .....	66
Figura 78 - Topografia das fibras obtida por PFM .....	67
Figura 79- Interface de controlo da base .....	69
Figura 80- Suporte condutor aplicado à base .....	69
Figura 81- Montagem experimental do equipamento de near-field electrospinning .....	70
Figura 82 - Imagem captada pela câmara de controlo .....	71
Figura 83 - Fonte de tensão <i>Hamatsu</i> .....	71

**Índice de tabelas**

Tabela 1 - Variáveis do processo .....	6
Tabela 2 - Solventes utilizados em polímeros que não são biodegradáveis.....	7
Tabela 3 - Solventes utilizados em polímeros biodegradáveis .....	7
Tabela 4 - Constantes dielétricas para os diversos solventes .....	8
Tabela 5 - Parâmetros de Hildebrand .....	11
Tabela 6 - Ângulos de reflexão e respectivos planos associados de L-alanina.....	21
Tabela 7 - Difrações de maior intensidade e planos associados de DL-A.....	23
Tabela 8 - Difrações de maior intensidade e planos associados de L-Ag .....	24
Tabela 9 - Compostos ferroelétricos.....	28
Tabela 10 - Ordem de produção das soluções de L-alanina.....	35
Tabela 11 - Parâmetros experimentais para soluções de L-alanina .....	37
Tabela 12 - Ordem de produção das soluções de DL-alanina .....	46
Tabela 13 - Parâmetros experimentais para soluções de DL-alanina.....	47
Tabela 14 - Ordem de produção das soluções de L-arginina.....	56
Tabela 15 - Parâmetros experimentais para soluções de L-arginina .....	57
Tabela 16 - Ordem de produção das soluções de sal de Rochelle.....	61
Tabela 17- Parâmetros experimentais para soluções de sal de Rochelle .....	62
Tabela 18- Soluções poliméricas produzidas.....	72

## **Motivação**

A análise de materiais a uma escala nanométrica tem vindo a adquirir papel de destaque na investigação, visto que o seu comportamento pode ser distinto quando comparado com o mesmo numa escala macrométrica. Os aminoácidos em particular revelam um comportamento de particular interesse quando se apresentam em solução aquosa, visto que se encontram na forma zwitterónica ou polarizada. A sua produção via electrospinning permite a total evaporação do solvente e conseqüente enclausuramento dos cristais nesta forma, tornando-se assim uma potencial fonte de energia. Atualmente esforços têm sido levados a cabo de forma a tentar obter formas de energia mais limpas e virtualmente inesgotáveis de forma a proteger o nosso meio ambiente e o ser humano, como tal, a captação de energia é uma área de investigação recente na qual se obtém energia via fontes externas tais como energia eólica ou solar e a possibilidade dos revestimentos de fibras apresentarem propriedades piezoelétricas enquadra-se nesta área de trabalho.

Na tentativa de tentar potenciar ao máximo estes avanços e de forma a dar continuidade a outros estudos que incidiram nas potencialidades de aminoácidos tais como a glicina, diversos aminoácidos foram selecionados de forma a compreender o seu potencial por comparação com o composto ferroelétrico mais conhecido, o sal de Rochelle.

## **Objetivos**

No contexto deste trabalho pretende-se estabelecer os parâmetros de produção de fibras com polímeros solúveis em água com incorporação de L-alanina, DL-alanina, L-arginina e tartarato de sódio e potássio, apelidado de sal de Rochelle. Posteriormente é pretendida uma caracterização das propriedades morfológicas e estruturais e após consolidação dos resultados obtidos adaptar a sua produção à técnica de near-field electrospinning que permite idealmente uma menor percentagem de polímero e uma melhor orientação. Como tal os objetivos específicos são:

- Produção de fibras pelo processo de electrospinning convencional dos diversos aminoácidos;
- Caracterização das fibras obtidas pelas técnicas de MEV, DRX e PFM;
- Co-montagem do sistema de near-field electrospinning e a sua otimização.

## **CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO**

O crescente aumento na procura de energias limpas e biocompatíveis é um ponto fundamental para a sustentabilidade do ser humano. A possibilidade de permitir obter energias limpas e idealmente inesgotáveis permite sustentar pequenos dispositivos eletrónicos de baixo consumo e poderia até a título de exemplo suplantando a necessidade da utilização de baterias potencialmente nocivas para o organismo como é o caso dos pacemakers, na qual a bateria dura aproximadamente entre 6 e 10 anos. A possibilidade de obter um substrato filamentar que permite a produção de energia por simples ação mecânica poderá permitir a substituição das baterias ou pelo menos prolongar a sua duração.

O recurso a polímeros e aminoácidos biocompatíveis conjugados na forma de fibra oferece alguma liberdade para as suas aplicações. Os aminoácidos quando se apresentam no estado sólido e cristalino são neutros, contudo, a dissolução em água permite que estes se encontrem em forma zwitterónica, ficando polarizados e a sua produção por electrospinning com recurso a uma matriz polimérica permite a sua orientação ao longo da fibra dos cristais e por força da rápida evaporação do solvente, o seu enclausuramento no estado que apenas seria possível em solução.

Atualmente já são realizados estudos em diversos aminoácidos e efetivamente já foi sugerida a possibilidade de estes se comportarem como materiais ferroelétricos, sendo esta posição discutida no decorrer deste trabalho.

No decorrer deste trabalho, a proporção dos compostos vai ser variada de forma a verificar para que composição se obtém resultados mais notórios e as amostras são coletadas num substrato de vidro, esterilizado, colocado na zona do coletor em cima de uma folha de papel vegetal para permitir uma melhor dispersão das fibras por toda a amostra e prevenir que estas se depositem nas zonas em que o coletor estaria exposto.

A análise das fibras produzidas incide na sua morfologia, ao nível do seu diâmetro, porosidade, presença de cristais no seu exterior e orientação dos cristais no seu interior, por análise dos planos difratados. A caracterização incide ainda na confirmação do confinamento dos cristais no interior da fibra na sua forma polar e a presença da componente ferroelétrica e piezoelétrica.

Finda a caracterização e a produção das fibras, com recurso à técnica de near-field electrospinning é teoricamente possível realçar ainda mais os efeitos obtidos, visto que a orientação induzida nas fibras é superior, participando no processo de montagem experimental do equipamento, verificando as dificuldades inerentes ao seu desenvolvimento e posterior utilização.

Esta dissertação foi desenvolvida ao longo de quatro capítulos, sendo este o **capítulo 1**, no qual foi descrito o contexto, o tema e os principais objetivos.

O **capítulo 2** incide na revisão bibliográfica, apresentando um enquadramento para a técnica de produção e respetivos parâmetros suscetíveis de induzir alterações ao processo e os fundamentos teóricos da produção de fibras por *near-field electrospinning*, considerando as diferenças para o processo convencional. Os polímeros e os compostos a incorporar são ainda descritos, assim como o seu comportamento.

De forma breve são abordadas as técnicas de caracterização necessárias, e é apresentada uma breve descrição dos fenómenos esperados, mediante caracterização.

No **capítulo 3** é abordado o procedimento experimental, incluindo a caracterização das amostras obtidas, comparação dos resultados mediante as diferentes matrizes poliméricas para cada composto. Este capítulo inclui ainda a interpretação dos resultados obtidos com recurso à técnica de PFM de forma a enquadrar as fibras produzidas.

No **capítulo 4** são apresentadas as conclusões retiradas ao longo da produção assim como as dificuldades obtidas no desenrolar do estudo experimental. Apresentam-se ainda propostas de trabalhos futuros, considerando os resultados obtidos.

## CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente revisão bibliográfica pretende fundamentar o trabalho de investigação desenvolvido. Neste capítulo pretende-se enquadrar o trabalho desenvolvido nesta dissertação no enquadramento científico desenvolvido até à data na área do electrospinning, estudo dos aminoácidos e as suas potenciais propriedades. Serão ainda abordados os fundamentos da técnica de near-field electrospinning.

### 2.1 Electrospinning

O electrospinning é uma técnica de produção de fibras na escala nanométrica de baixo custo e extremamente versátil, que permite a incorporação de outros materiais nos polímeros formadores de fibras, sendo idealmente estes enclausurados no seu interior. O impacto e desenvolvimento desta técnica podem ser acompanhados pela evolução do número de publicações nesta área através do motor de busca Scopus que foi obtido utilizando a palavra-chave "*electrospinning*" que regista um aumento significativo todos os anos como se pode verificar no gráfico seguinte:

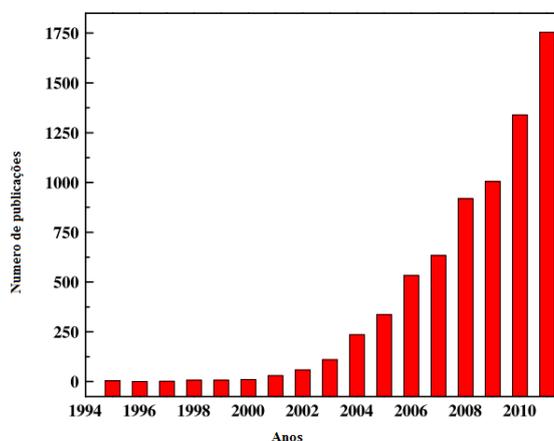
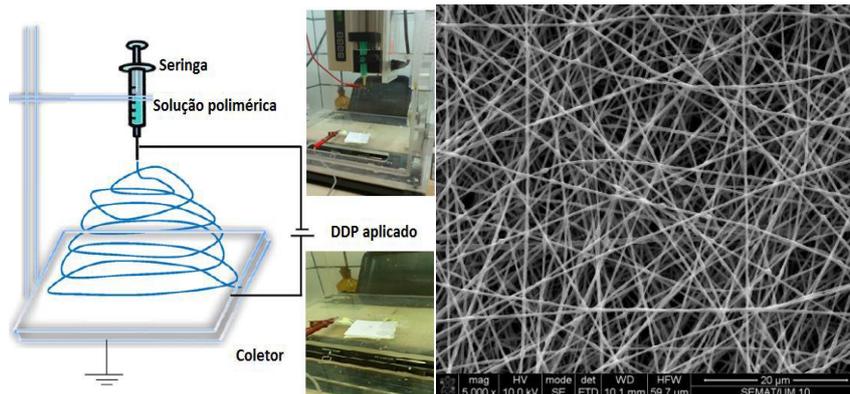


Figura 1 - Pesquisas com palavra-chave "*electrospinning*" [7]

Tecnicamente o electrospinning é um processo que utiliza um campo elétrico elevado para retirar de um fluido polimérico, por ação de forças electroestáticas, um filamento de reduzida espessura e com diâmetro esperado na ordem dos nanómetros. É aplicada uma pressão constante na seringa que contem a solução polimérica, que se encontra a uma distância fixa do coletor, induz-se uma diferença de potencial entre a seringa e o coletor na ordem dos kV e enquanto a solução vai abandonando a seringa, vai evaporando o solvente.

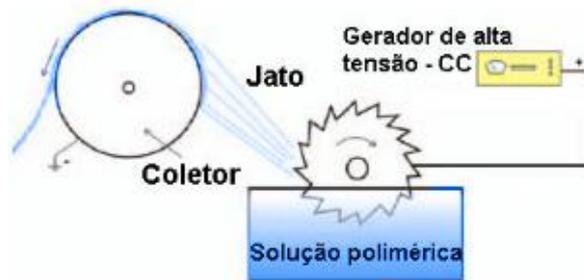
Mais detalhadamente o processo de electrospinning ocorre quando o campo aplicado transforma a gota formada na ponta da agulha em cone de Taylor. Quando a força elétrica se torna maior do que a tensão superficial, dá-se a formação de um jato e o cone é estável se a viscosidade e a tensão superficial geradas forem adequadas o que torna o jato estável. As fibras recolhidas no coletor têm uma orientação aleatória na imagem seguinte mas a orientação ou alinhamento das fibras pode ser induzido com recurso a um coletor em rotação, dependendo da aplicação pretendida.



**Figura 2 - Esquema tradicional de produção de fibras e respetivas fibras**

O processo pode ser efetuado na vertical ou horizontal, sendo que no âmbito desta dissertação apenas foi utilizada a direção vertical. Recorrendo a este método, é possível obter nanofibras de uma diversidade de polímeros que já se encontram aplicadas em áreas tais como a filtração por membranas, ramo biomédico, engenharia têxtil, entre outras [1].

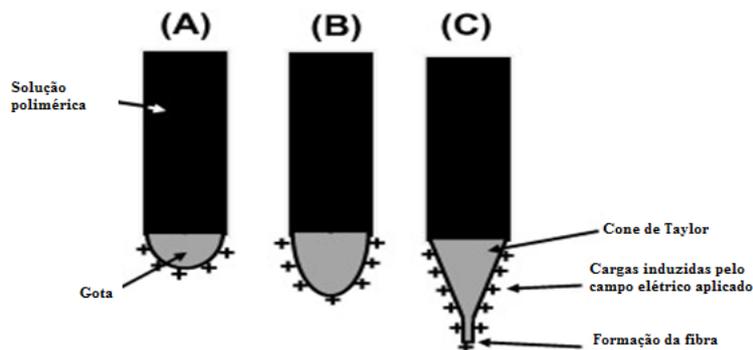
A primeira descrição do processo remonta a 1902 e é da autoria de J.F. Cooley que descreveu e patenteou um método por ele descrito como obter um fio com recurso a uma fonte de alta tensão e foi já consolidado o conhecimento de que a solução necessitava de uma viscosidade mínima para possibilitar o processo. O primeiro equipamento patenteado de electrospinning remonta a 1934 e a sua patente foi da autoria de Formhals. Foi possível produzir através de um equipamento experimental mais complexo que recorria a um depósito de solução e uma roda dentada parcialmente imersa que se encontrava em rotação e com carga aplicada como ilustra a figura seguinte:



**Figura 3- Esquema de produção do primeiro equipamento de electrospinning patenteado [5]**

Aqui a ação das forças eletroestáticas induz a formação dos filamentos poliméricos sendo que o nome electrospinning advém da utilização da referida força [2,3].

O desenvolvimento teórico que serviu de base para o processo foi demonstrado por Sir Geoffrey Ingram Taylor no ano de 1969 e consiste na modelação matemática do cone formado que se pode verificar na seguinte ilustração:



**Figura 4- Esquema de formação do cone de Taylor**

Aqui em (A) representam-se as cargas superficiais induzidas na solução polimérica pelo campo elétrico, em (B) ocorre o alongamento da gota e em (C) a deformação da gota na forma do cone de Taylor devido às interações de repulsão entre cargas. O jato inicia-se nesta fase da ponta do cone [4,5].

## 2.2 Variáveis do processo

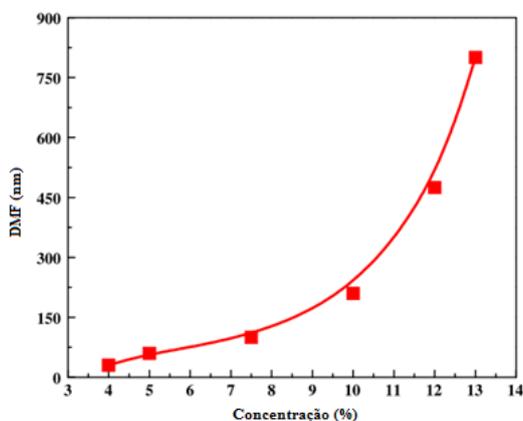
Existem diversos parâmetros que influenciam a processabilidade de fibras por electrospinning, Mituppatham *et al.* [5,6] dividiu-os em três categorias como se pode ver na tabela 1.

**Tabela 1 - Variáveis do processo**

<b>Solução</b>	<b>Processo</b>	<b>Ambientais</b>
Concentração	Potencial eletrostático	Temperatura
Viscosidade	Força do campo elétrico	Humidade
Tensão superficial	Forma do campo	Pressão
Condutividade	Distância agulha/coletor	Fluxo da atmosfera
Constante dielétrica	Taxa de alimentação	Composição da atmosfera
Volatilidade do solvente	Diâmetro interno da agulha	
	Velocidade de rotação do coletor	

### 2.2.1 Parâmetros de solução

Como foi referido anteriormente para se produzir fibras por electrospinning é necessário colocar na seringa uma solução polimérica com uma dada viscosidade para permitir a formação do processo. Como tal, diferentes polímeros requerem diferentes solventes e toleram a sua dissolução em diferentes percentagens o que implica alterações nos parâmetros utilizados. Quando se aumenta a concentração da solução, estamos a aumentar a sua viscosidade e conseqüentemente a aumentar o diâmetro das fibras como se pode ver na figura seguinte:



**Figura 5- Variação do diâmetro médio das fibras em função da concentração de polímero [7]**

Como os polímeros são na sua maioria não condutivos os iões carregados na solução polimérica promovem uma elevada influencia na formação do cone de Taylor e remoção da fibra. Estes iões aumentam a capacidade de transporte de cargas do jato, o que o sujeita a uma maior tensão devido ao campo aplicado. Shin *et al.* [8] concluiu que a estabilidade do processo numa solução de PEO é superior devido a uma maior condutividade do polímero utilizado. Quanto mais condutora for a solução polimérica mais facilmente se consegue recolher as fibras no coletor, quer sejam orientadas ou com sentido

aleatório. Lee *et al.* [9] observou que o aumento da condutividade elétrica da solução induz uma melhoria do rendimento do processo e Zong *et al.* [10] verificou que a presença de sal na solução também promove aumento de rendimento demonstrando o efeito dos íons na morfologia e diâmetro das fibras. Descobriram que a adição de sais iônicos à solução diminui a formação de aglomerados de fibras e permite a produção de fibras de tamanhos mais diminutos, entre 200 e 1000nm.

O solvente presente em solução tem igual importância na estabilidade do processo. Alguns dos fatores com maior impacto são a concentração, viscosidade, tensão superficial, ponto de ebulição, a sua condutividade, constante dielétrica e a sua capacidade de dissolver perfeitamente o polímero, assim como sais ou no âmbito desta dissertação os aminoácidos a incorporar. Nas tabelas seguintes estão referidos alguns solventes utilizados para cada polímero a partir dos quais já foi possível produzir fibras:

**Tabela 2 - Solventes utilizados em polímeros que não são biodegradáveis**

<b>Polímero</b>	<b>Solvente</b>	<b>Concentração</b>
<b>PU</b>	DMF	2,5 – 17,7%
<b>Nylon</b>	HFIP	10 – 15%
<b>PAN</b>	DMF	7,5 – 20%
<b>PVDF</b>	DMF	20 – 30%
<b>PS</b>	THF	15 – 25%
<b>PMMA</b>	Clorofórmio	15 – 25%
<b>PBI</b>	DMAc	10 – 20%
<b>PET</b>	TFA	4 – 20%

**Tabela 3 - Solventes utilizados em polímeros biodegradáveis**

<b>Polímero</b>	<b>Solvente</b>	<b>Concentração</b>
<b>PVA</b>	Água destilada	5 – 15%
<b>PVP</b>	Água destilada; Etanol	10%
<b>PVA/CA</b>	Água destilada; DMAc	10%
<b>PEO</b>	Água destilada; Etanol	2 – 20%
<b>PAA/PVA</b>	Água destilada	10 – 12,5%
<b>PDLA</b>	DMF; Clorofórmio	14%
<b>PLLA</b>	DCM; DMF	10%

Son *et al.* [11] verificou que o efeito das soluções poliméricas no electrospinning de PEO está relacionado com a constante dielétrica do solvente, ou seja, quanto maior a constante dielétrica do solvente, menor o diâmetro das fibras produzidas. A composição do solvente também afeta a morfologia das fibras, Lee *et al.* [9] comprovou que em fibras de PS e utilizando como solventes THF e DMF a quantidade de aglomerados presentes era diretamente influenciada pela percentagem de DMF presente

em solução, visto que utilizando apenas THF como solvente, apenas se verificavam aproximadamente metade dos aglomerados na amostra final.

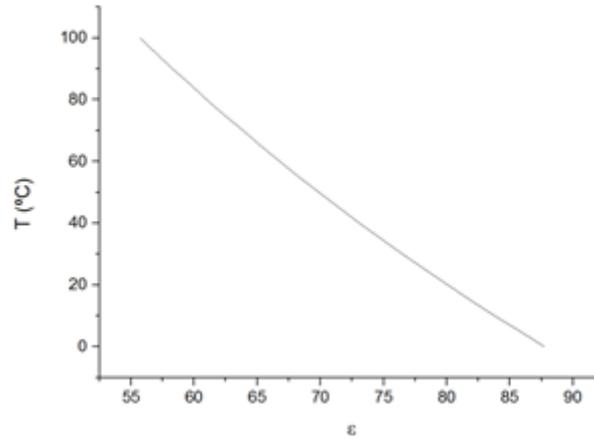
As concentrações presentes na tabela 1 e 2 são relativas a um valor de massa molecular distinto para cada polímero. No caso do PEO, é possível obter uma viscosidade aceitável para a produção de fibras com apenas 2% de polímero com um peso molecular de  $2 \times 10^6$  mas sendo necessário um valor em peso de polímero na ordem dos 10% para o peso molecular de  $1 \times 10^5$  [12].

Em regra, a escolha do solvente adotado é baseada maioritariamente na solubilidade do polímero, no entanto, uma elevada solubilidade não está diretamente relacionada com uma maior condutividade do fluido. Raghavan *et al.* [7] verificou que um bom solvente de electrospinning tem a capacidade de dissolver o polímero mas também possui ao mesmo tempo uma constante dielétrica elevada. Esta característica permite o transporte de cargas relativamente elevado, potenciando o esticamento contínuo do fluido resultando em diâmetros de fibras mais diminutos sem formação de aglomerados. A seguinte tabela reflete as constantes dielétricas a 20°C dos solventes mais utilizados no processo:

**Tabela 4 - Constantes dielétricas para os diversos solventes**

<b>Solvente</b>	<b>Constante dielétrica</b>
<b>2-propanol</b>	18,30
<b>Ácido acético</b>	6,15
<b>Acetona</b>	20,70
<b>Acetonitrile</b>	35,92
<b>Clorofórmio</b>	4,80
<b>Dichloromethane</b>	8,93
<b>DMF (Dimethylformamide)</b>	36,71
<b>Ethyl acetate</b>	6,0
<b>Etanol</b>	24,55
<b>m-Cresol</b>	11,80
<b>Metanol</b>	32,60
<b>Pyridine</b>	12,30
<b>Terahydrofuran</b>	7,47
<b>Tolueno</b>	2,44
<b>Trifluoroethanol</b>	27,0
<b>Água destilada</b>	80,20

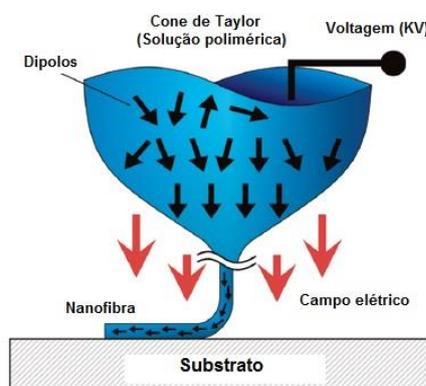
No caso da água a título de exemplo a constante dielétrica varia no intervalo de temperaturas compreendido entre [0, 100] °C como se pode verificar no gráfico seguinte:



**Figura 6- Variação da constante dielétrica da água em função da temperatura [13]**

Apesar da elevada variação devido ao campo elevado aplicado na ordem dos kV e considerando que o solvente evapora no decorrer do processo, podemos verificar que cruzando os dados da tabela com o gráfico, o valor da constante dielétrica da água mantém-se bastante acima dos restantes, tornando-a assim um dos solventes de eleição para o processo de electrospinning.

Outro fator a considerar e que influencia diretamente a processabilidade da solução prende-se com a relação entre polímero e composto introduzido, estando esta dependente do tipo de polímero, o seu peso molecular ou o tamanho de cristais dos compostos. Na situação em que o composto se encontra em solução e se apresenta na sua forma zwitterónica, ou seja, apresenta dipolos como se pode ver na figura 7, orientados de forma aleatória, após formação da fibra, ficam orientados no mesmo sentido, devido a uma rápida evaporação do solvente, o que impede a regressão à sua forma mais estável em estado sólido e com carga neutra. [14-16]



**Figura 7 - Esquema de distribuição dos dipolos na gota de solução**

Todos os parâmetros anteriormente referidos são influenciados pela solubilidade do polímero e como tal é necessário estimar as variáveis envolvidas. A solubilidade de um polímero num dado solvente está em regra relacionada com a sua estrutura molecular, sendo que alguns dissolvem à temperatura ambiente e outros para dissolverem necessitam de ser providos de aquecimento e agitação constante, podendo esta dissolução demorar várias horas. A sua dissolução é governada pela equação da energia livre da mistura onde  $\Delta G_m$  é a energia livre de Gibbs,  $\Delta H_m$  é a variação da entalpia da mistura,  $T$  a temperatura absoluta e  $\Delta S_m$  a variação da entropia.

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m \quad \text{Eq. 1}$$

Um valor negativo de energia livre de mistura significa que o processo de mistura ocorre espontaneamente, caso contrário duas ou mais fases resultam do processo. Quando se pretende dissolver polímeros com uma elevada massa molecular, a variação da entropia é muito baixa e sendo que o termo  $T\Delta S_m$  é sempre positivo, significa que o termo da entalpia é o fator crucial para a determinação do sinal.

Hildebrand verificou que a ordem de solubilidade de uma dada mistura se encontra relacionada com a pressão interna do solvente e a relação da variação da entalpia foi posteriormente verificada por Scartchard, Hildebrand e Scott na equação seguinte:

$$\Delta H_m = V_m \left[ \left( \frac{\Delta E_1^V}{V_1} \right)^{\frac{1}{2}} - \left( \frac{\Delta E_2^V}{V_2} \right)^{\frac{1}{2}} \right]^2 \theta_1 \theta_2 \quad \text{Eq. 2}$$

Aqui  $V_m$  corresponde ao volume da mistura,  $V_i$  é o volume molar de cada composto,  $\Delta E_i^V$  a energia de evaporação e  $\theta_i$  indica a fração volúmica de cada composto na mistura. O parâmetro de solubilidade foi então proposto e está relacionado com a densidade coesiva, nomeadamente a sua raiz quadrada e apresenta-se na seguinte equação:

$$\delta = \left( \frac{E}{V} \right)^{1/2} \quad \text{Eq. 3}$$

A equação 3 pode ser reescrita em função do parâmetro e sabendo que a energia livre de Gibbs deve de ser inferior ou igual a zero, implica que o termo  $(\delta_1 - \delta_2)$  deverá ser o mais baixo possível para possibilitar a miscibilidade da fração de volume pretendida. [26]

$$\Delta H_m = V_m [\delta_1 - \delta_2]^2 \theta_1 \theta_2 \quad \text{Eq. 4}$$

A tabela seguinte reflete alguns dos parâmetros de Hildebrand para solventes e polímeros.

**Tabela 5 - Parâmetros de Hildebrand**

<b>Solvente</b>	<b><math>\delta</math> (cal/cm<sup>3</sup>)<sup>1/2</sup></b>	<b>Polímero</b>	<b><math>\delta</math> (cal/cm<sup>3</sup>)<sup>1/2</sup></b>
Tolueno	8,9	Polietileno	7,9
Clorofórmio	9,2	Polipropileno	8,2
Acetona	9,9	Poliestireno	9,1
Etanol	12,9	PVC	9,5
Metanol	14,5	PMMA	9,6
Água	23,4	PVA	12,6

### 2.2.2 Parâmetros do processo

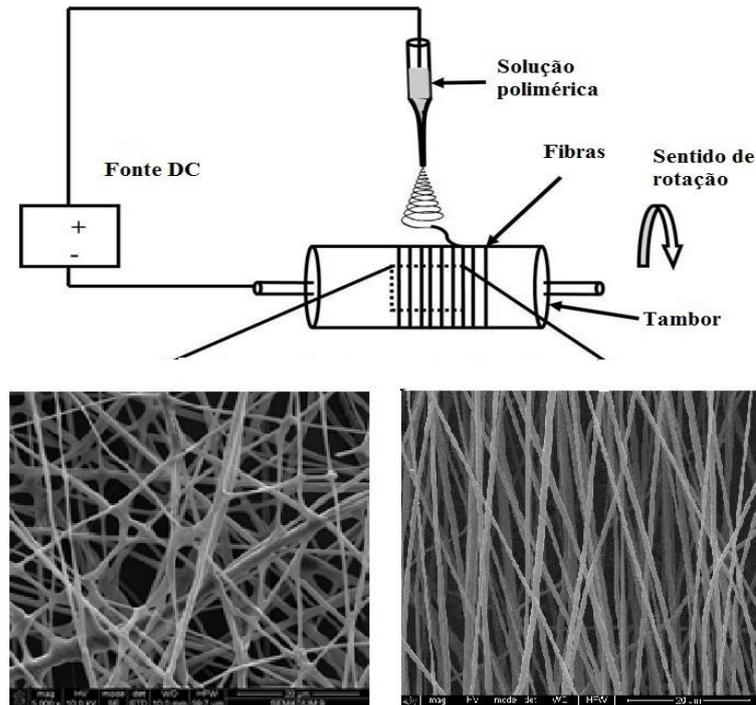
Para uma correta utilização do equipamento de electrospinning é necessário estimar as variáveis referentes ao campo elétrico induzido, a taxa de alimentação e o diâmetro da agulha.

Inicialmente é necessário referir que existe uma relação direta entre a tensão aplicada e a distância entre a agulha e coletor. O campo estima-se em unidades kV/cm, ou seja, variando um dos dois, estamos a promover uma variação no campo aplicado. Um aumento da distância de separação entre agulha e coletor vai induzir uma menor extração de filamentos da gota formada, no entanto com o aumento da distância promove-se uma melhor evaporação do solvente e a obtenção de fibras de menor diâmetro visto que se possibilita um maior alongamento do filamento. O campo pode no entanto não ser suficiente para promover a formação do cone de Taylor, o que quando associado a uma taxa de alimentação constante, vai promover o gotejamento da solução no coletor. Em sentido contrário um campo demasiado elevado vai promover uma remoção da solução, não na forma de filamento mas vai ser extraído na forma de spray, sem qualquer formação de fibras ou a extração de mais solução, originando fibras de maior dimensão [1, 17-20]. Nos polímeros mais comuns nesta área, o campo está regra geral compreendido entre 0,5 e 1,5kV/cm.

A taxa de alimentação constante permite a formação da gota a partir da qual se forma o cone de Taylor, assim quanto maior for a gota formada, maior será a sua área superficial e mais dispersas estão as cargas o que vai induzir instabilidade na formação do cone assim como promover a formação de aglomerados e ainda um possível acréscimo do diâmetro médio [21]. Um déficit na alimentação também se traduz em instabilidade do processo visto que o cone de Taylor ocorre mas no interior da agulha, levando a solidificação no seu interior, Tem então que existir um compromisso entre os diversos parâmetros para regular a taxa de alimentação, entre eles, o campo aplicado, a viscosidade da solução e o diâmetro da agulha.

O diâmetro interno da agulha tem também impacto no correto funcionamento do processo visto que como é o alimentador, o tamanho da gota formada está a ele associado. De forma similar à taxa de alimentação, um diâmetro elevado vai promover a formação de uma gota com uma elevada área superficial e um diâmetro demasiado baixo vai impedir a correta alimentação devido à viscosidade da solução ou a imediata solidificação da solução no seu interior.

Quando se pretende obter fibras com uma determinada orientação o coletor fixo é substituído por um tambor rotativo. Aqui a velocidade é crucial para induzir a orientação, visto que existe uma velocidade mínima a partir da qual se consegue induzir orientação às fibras, caso contrário, a sua dispersão é aleatória como se pode ver na figura 8. Esta velocidade está relacionada com a espessura das fibras e o campo utilizado, sendo que deverá ser tal que promova uma boa orientação como se pode ver na figura 8 mas quando excessiva também promove a rotura da fibra quando associado a uma rápida adesão da fibra ao coletor e uma evaporação incompleta do solvente.



**Figura 8- Diferença de orientação das fibras em função da velocidade de rotação**

### 2.2.3 Parâmetros ambientais

Os parâmetros ambientais são de igual importância, nomeadamente a temperatura, humidade e o fluxo atmosférico em torno do equipamento. A temperatura tem uma relação inversa com a tensão superficial e a viscosidade e a condutividade da solução aumenta com o aumento da temperatura, promovendo melhores condições de processamento. A evaporação do solvente vai ser diretamente afetada e pode-se apresentar como vantajoso em casos de solventes com elevado ponto de ebulição tal como a água, no entanto um aumento significativo da temperatura ambiente pode potencialmente inviabilizar a produção de fibras a partir de soluções que são obtidas utilizando como solvente base etanol ou clorofórmio por exemplo [22,23].

A humidade atmosférica tem um efeito similar à temperatura na produção de fibras por electrospinning, sendo que taxas baixas de humidade promovem uma melhor evaporação do solvente, que permite uma solidificação das fibras mais eficiente mas que também pode promover uma solidificação da solução no interior da agulha impedindo o processo [1,23,24].

Em sentido inverso quando se apresenta uma elevada humidade relativa do ar, a solução polimérica removida do cone de Taylor, tende a adsorver as moléculas de água da atmosfera devido às diferenças de pressão o que inviabiliza totalmente o processo visto que o campo aplicado não tem

capacidade para evaporar na totalidade o solvente e as fibras depositadas não estão no seu estado sólido e derretem quando em contacto com o coletor e entre elas ou então ocorre formação mas as fibras são porosas na sua superfície [1,23].

O fluxo de ar no compartimento é de igual importância uma vez que as fibras apresentam dimensões na ordem dos nanómetros de espessura e a sua massa é diminuta. Uma movimentação mínima no ar pode promover interrupções na deposição e até impedir a coleta de fibras no substrato pretendido. Alguns autores têm vindo a tentar ajustar a produção por variação do fluxo de ar na câmara [25].

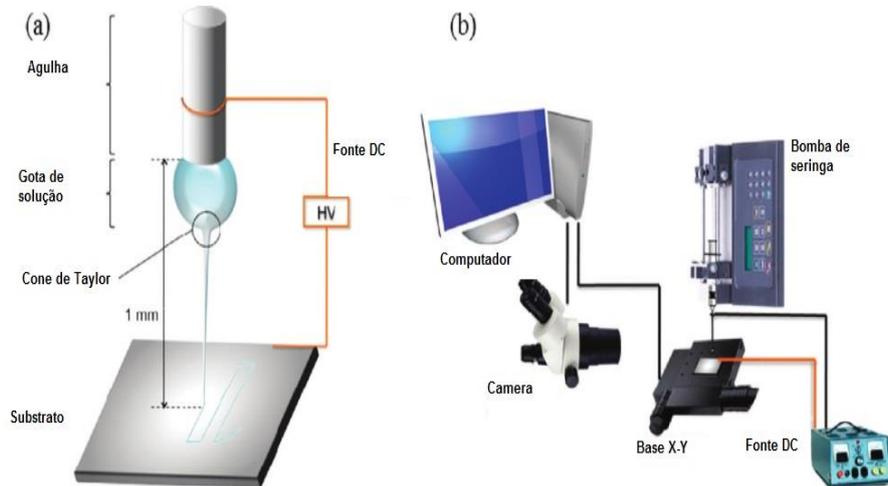
### **2.3 Near-field Electrospinning**

Um dos fatores chave na utilização de soluções poliméricas em nanofibras em diversas aplicações prende-se com a possibilidade de controlar com precisão as propriedades físicas e o seu posicionamento espacial. Atualmente algumas técnicas como a EBL, do inglês "*Electron-Beam Lithography*" permitem a produção com elevada precisão de padrão, contudo o equipamento laboratorial necessário devido entre outros fatores à necessidade de o processo decorrer em alto vácuo e o custo das lentes, torna o processo dispendioso e com um elevado grau de dificuldade envolvido. Uma outra variante é uma técnica similar ao DPL do inglês "*Dip Pen Lithography*" mas uma das suas limitações é a impossibilidade de operar de forma continuada. A variante mais conhecida e estudada é a técnica de FFES do inglês "*Far Field Electrospinning*" e normalmente conhecida simplesmente por Electrospinning e permite a produção de fibras em grande escala, no entanto, devido a instabilidades elétricas que são inerentes ao processo, o seu controlo espacial torna-se mais complexo, tendo sido desenvolvidas técnicas tais como a utilização de um tambor rotativo em substituição do coletor estático. A técnica tal como demonstrado anteriormente, permite então induzir uma orientação nas fibras produzidas mas produzir padrões 2D e 3D é extremamente complexo [27].

A técnica de near-field permite uma abordagem mais precisa ao processo de formação de fibras. A técnica é em tudo similar ao processo de electrospinning referido anteriormente mas com diferenças notórias ao nível da distância entre a agulha e o coletor, diâmetro da agulha e percentagem de polímero necessário para promover a formação de fibras [28].

Estudos conduzidos anteriormente demonstraram que o diâmetro da agulha pode ser até uma ordem de grandeza inferior ou utilizando ainda um fio de tungsténio maciço com diâmetros de 25 $\mu$ m. Enquanto no processo tradicional as distâncias típicas são na ordem dos centímetros, aqui podem descer até aos micrómetros aumentando a influência das forças eletrostáticas sobre a solução o que permite uma

redução substancial do polímero formador e oferece particular destaque às propriedades dos aminoácidos que se pretendem realçar. No geral quando se obtém fibras na escala nanométrica conseguimos obter o tal realce das propriedades neste caso piezoelétricas ou piroelétricas dos aminoácidos e quando se consegue uma redução do tamanho médio das fibras de 250nm para os 50nm é esperado também uma melhoria significativa da sua resposta [29].



**Figura 9- Esquema da montagem experimental de near-field electrospinning [27]**

A figura 9 a) esquematiza o processo já a decorrer, no qual se pode verificar a distância, cerca de duas ordens de grandeza inferior ao electrospinning tradicional e a dispersão ordenada das fibras no substrato. Esta dispersão pode ser controlada com a utilização de um suporte variável segundo dois eixos perpendiculares ao processo (figura 9b) e controlados com precisão com recurso a uma câmara digital. A bomba e a fonte de tensão têm a mesma função que no processo mais tradicional e o computador pretende disponibilizar uma interface de controlo da base, assim como de controlo da fonte de tensão.

A montagem que se apresenta acarreta um novo parâmetro a considerar para a produção de fibras que é a velocidade de avanço do suporte. Bisht *et al.* [27] verificou que um aumento da velocidade do suporte de 20 para 80mm/s promovia uma diminuição no diâmetro das fibras de 500nm para 200nm. Esta diminuição ocorre devido ao alongamento das fibras antes de ocorrer a evaporação total do solvente promovendo um decréscimo do diâmetro médio como pretendido, no entanto a velocidade não pode exceder a velocidade associada ao diâmetro mínimo das fibras dado que pode ocorrer rotura das mesmas.

## 2.4 Polímeros

A produção de fibras só é possível devido às propriedades únicas dos polímeros, como tal, neste contexto são descritos os polímeros aos quais se recorreu no decorrer deste trabalho para servirem de matriz para os compostos em estudo.

### 2.4.1 PVA

O PVA,acrónimo do inglês “*polyvinyl alcohol*” é um polímero relativamente único porque não é obtido por reações de polimerização a partir de um monómero mas sim partindo de um PVAc (do inglês “*polyvinyl acetate*”) que é dissolvido num álcool como o metanol e tratado com um catalisador alcalino como o hidróxido de sódio. A hidrólise resultante remove os grupos acetil sem destruir a estrutura das longas cadeias poliméricas. O grau de hidrólise do processo influencia na solubilidade em água do PVA e na insolubilidade em praticamente qualquer solvente líquido.

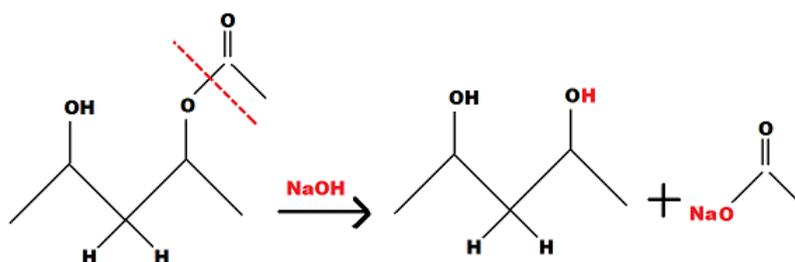


Figura 10- Esquema de produção de PVA

Como se trata de um polímero atóxico, totalmente degradável e com elevada solubilidade em água permite a sua preparação em solução em conjunto com os aminoácidos. Apresenta uma temperatura de transição vítrea em torno dos 85°C que se deve atingir para promover a interrupção das ligações entre cadeias e aumentar a solubilidade, uma vez que só a partir dos 300°C é que este se degrada termicamente. Utilizado como formador na técnica de electrospinning, permite obter fibras com dimensões na ordem dos 250 – 300nm e no seu estado fibroso já tem algumas aplicações nomeadamente na área dos biomateriais [1]. Quando é estudado numa escala nanométrica revela um aumento significativo das suas propriedades químicas, físicas e biológicas [30]. O PVA utilizado foi adquirido na Sigma-Aldrich , apresenta um grau de hidrólise de 99% e um peso molecular de  $57 \times 10^3$  [31].

### 2.4.2 PEO

O PEO é obtido a partir do óxido de etileno com recurso a um catalisador e apresenta-se como um anel epóxido que contém em dois dos extremos as ligações  $\text{CH}_2$  e no terceiro um átomo de oxigénio. A presença do catalisador induz o monómero a formar cadeias com esta unidade repetitiva. Como a sua temperatura de transição vítrea é de  $-67^\circ\text{C}$ , permite produzir soluções à temperatura ambiente, não sendo necessário o seu aquecimento.

Trata-se também de um polímero semicristalino, totalmente solúvel em água e bom formador de fibras de dimensão inferior a 300nm, o que levou à sua escolha. Foi adquirido na Sigma-Aldrich com pesos moleculares distintos para promover uma maior incorporação dos aminoácidos, nomeadamente nas proporções de  $100 \times 10^3$ ,  $300 \times 10^3$  e  $900 \times 10^3$  de peso molecular respetivamente [32,33].

O óxido de polietileno tem como característica o facto de tanto a sua temperatura de fusão, assim como a sua temperatura de transição vítrea, variarem com o grau de cristalinidade e o seu peso molecular, sendo que quando a cristalinidade é máxima e o peso molecular é de  $6 \times 10^3$ , a sua  $T_g$  situa-se a  $17^\circ\text{C}$ , sendo este valor superior aos valores apresentados para os restantes óxidos de polietileno utilizados.

As suas aplicações estão diretamente ligadas à sua solubilidade em água, baixa toxicidade, baixo ponto de fusão e capacidade de interagir com superfícies polarizadas. É amplamente utilizado na área biomédica, na indústria como agente de aumento de viscosidade de soluções aquosas, como agente floculante em soluções adesivas e ainda, mediante devido tratamento, ao nível da agricultura como absorvente [34].



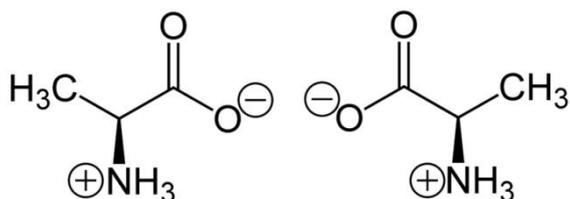
**Figura 11- PEO disponível na forma granular**



potencialidades dos aminoácidos, um exemplo importante é o sulfato de triglicina (TGS) que é um derivado da glicina e apresenta-se como um cristal com boas propriedades ferroelétricas e ótimas propriedades piezoelétricas. No âmbito deste trabalho são abordados três compostos orgânicos e um semi-orgânico, referidos de seguida dado que na componente orgânica são compostos pouco estudados e o sal de Rochelle apesar de amplamente estudado não é possível, no âmbito de aplicações, de manusear à temperatura ambiente no seu estado ferroelétrico e conseqüentemente piezoelétrico. [36]

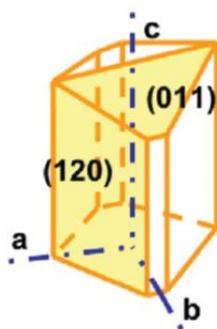
### 2.5.1 L-Alanina

A alanina é um aminoácido que apresenta variações na posição do seu grupo metil não reativo podendo adotar a forma L ou D, o que implica situar-se na face esquerda ou direita da molécula respetivamente.



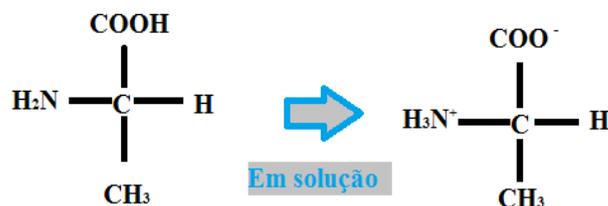
**Figura 13- Distinção entre molécula L e D de alanina [37]**

A escolha da L-Alanina incidiu entre outros fatores, por ser um aminoácido produzido pelo músculo humano, o que pode facilitar e ampliar o leque de aplicações. Trata-se de um dos aminoácidos mais pequenos, apresentando um grupo metil  $\text{CH}_3$  hidrofóbico não reativo como cadeia lateral. Apesar de ser tradicionalmente classificado como um aminoácido hidrofóbico, apresenta uma elevada solubilidade em água, sendo que o carácter hidrofóbico deve-se ao fato dos planos cristalográficos (120) e (011) conterem os grupos metil. Este carácter está patente apenas numa molécula, logo com a devida orientação cristalográfica pode conferir propriedades assinaláveis em conjunto com outros cristais, visto que se pretende aplicações de escala nanométrica.



**Figura 14- Planos hidrofóbicos da L-alanina [38]**

A molécula apresenta um dipolo permanente pois o grupo amónia ( $\text{NH}_3^+$ ) está carregado positivamente e o grupo carboxílico ( $\text{COO}^-$ ) está carregado negativamente sempre que se encontra em solução aquosa. O dipolo surge porque se dá a transferência de um eletrão entre os dois grupos reativos, tornando-se o grupo amónia recetor e o grupo carboxílico o dador [38].



**Figura 15- Comportamento em solução da molécula de L-a**

Esta configuração dipolar, conhecida pela forma zwitterónica é dominante em solução e pretende-se conservar a sua existência no estado sólido, porque a conjugação deste composto com a técnica de electrospinning permite uma rápida evaporação do solvente.

Aqui apresenta-se o difratograma do cristal de L-alanina e respetivos planos associados aos picos de maior intensidade (tabela 6), obtido a partir do software “Mercury” no qual estão expressos os picos de Bragg deste cristal.

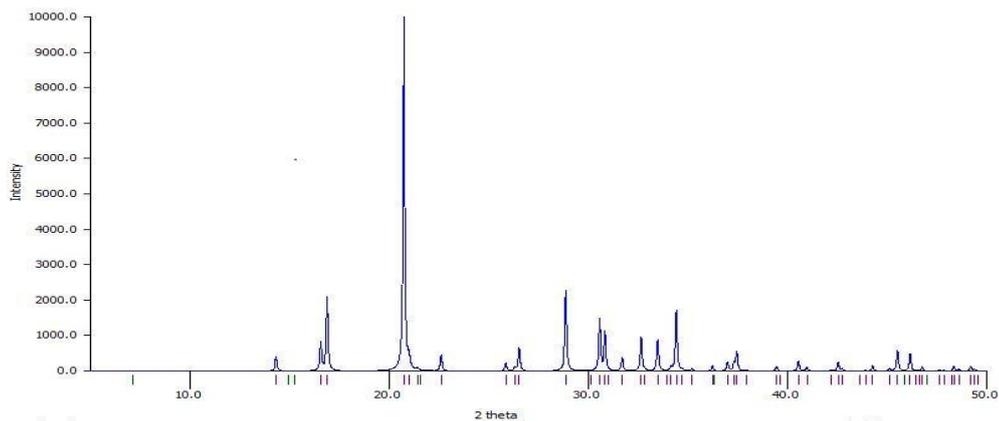


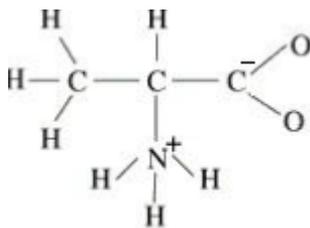
Figura 16- difratograma obtido através do software "Mercury" de cristais de L-alanina

Tabela 6 - Ângulos de reflexão e respectivos planos associados de L-alanina

Angulo de reflexão (2θ)	Plano (hkl)
16,980	(101)
20,748	(012)
20,931	(102)
28,943	(004)
30,590	(113)
30,865	(021)
32,742	(014)
33,520	(022)
34,435	(210)

### 2.5.2 DL-Alanina

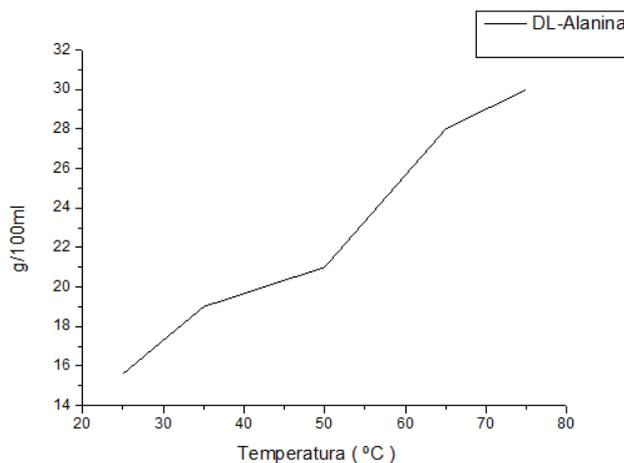
A DL-Alanina é um aminoácido raro porque cristaliza numa forma não centrossimétrica num grupo polar do tipo  $mm2$  e é obtida através de uma conjugação entre a L e a D-Alanina. A sua fórmula química é  $C_3H_7NO_2$  e apresenta um comportamento quando se encontra em solução aquosa idêntico ao do seu par, a L-Alanina [39]. Neste meio, o grupo carboxílico liberta o átomo de hidrogénio que é captado no grupo amónia, produzindo assim o dipolo. A figura 17 apresenta a molécula de DL-Alanina na sua forma zwitterónica depois da transição do átomo de hidrogénio entre os grupos.



**Figura 17-Esquema da molécula de DL-alanina**

Quando na forma zwitterónica apresenta-se na forma de  $[\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-]$  e quando cristaliza, estas moléculas tendem a arranjar-se no espaço ao longo do eixo polar  $c$  com orientação cabeça-cauda

Esta transição do hidrogénio é responsável pelos fenómenos de não linearidade observados em estudos anteriores e referentes unicamente aos cristais. Em igual sentido, trata-se de mais um aminoácido que tem solubilidade elevada em água e insolubilidade quase total noutros solventes como etanol ou tolueno. Quando dissolvida a temperatura ambiente o aminoácido apresenta uma solubilidade de 0,156g/ml sendo que esta aumenta com o aumento da temperatura como se pode verificar no gráfico da figura 18, de forma similar à L-alanina e L-arginina.



**Figura 18-Solubilidade da DL-A em função da temperatura**

Aqui apresenta-se o difratograma do cristal de DL-alanina (figura 19) obtido a partir do *software* “Mercury” no qual estão expressos os picos deste cristal no qual se destaca um pico de maior intensidade e na tabela 7 algumas das difrações de maior intensidade.

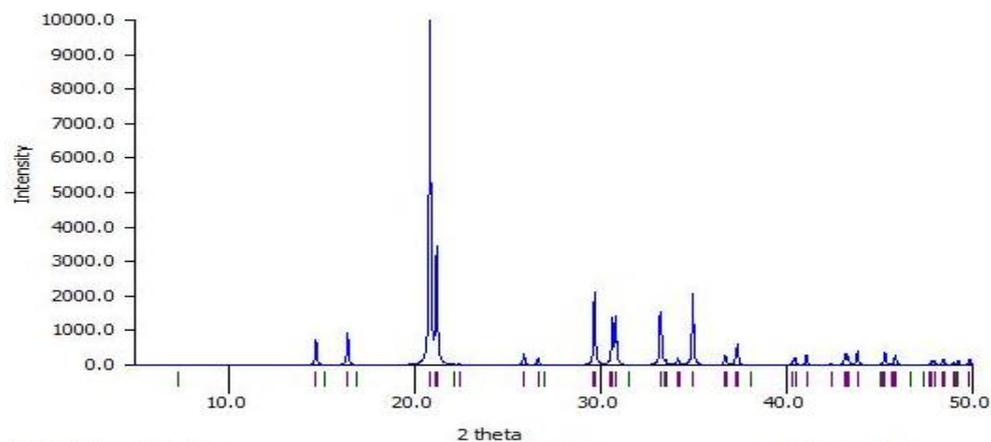


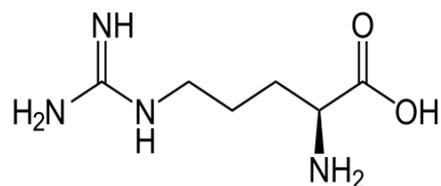
Figura 19- Difratoograma obtido através do *software* "Mercury" de cristais de DL-alanina

Tabela 7 - Difrações de maior intensidade e planos associados de DL-A

Angulo de reflexão (2θ)	Plano (hkl)
16,480	(110)
20,851	(210)
21,231	(201)
29,783	(400)
30,690	(002)
30,865	(311)
33,260	(410)
34,985	(112)

### 2.5.3 L-Arginina

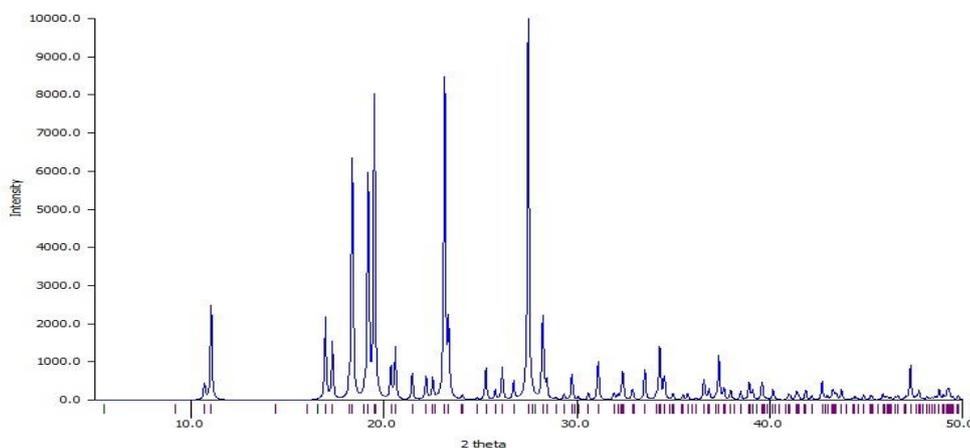
A L-arginina foi um dos últimos aminoácidos a ser catalogado devido à dificuldade de desenvolvimento dos seus cristais e a sua fórmula química é  $C_6H_{14}N_4O_2$ . De uma forma semelhante aos aminoácidos referidos anteriormente, a molécula apresenta um grupo carboxílico e dois grupos amónia (figura 20), que quando se apresentam em solução permutam um átomo de hidrogénio, polarizando a molécula e atingindo o seu estado zwitterónico. Aqui o carácter hidrofóbico também existe devido à presença dos grupos metil mas o composto apresenta uma elevada solubilidade em água, 148,7g/L à temperatura ambiente [44].



**Figura 20- Esquema da molécula de L-arginina**

Trata-se de um aminoácido produzido pelo corpo humano e frequentemente promove reações enzimáticas no nosso organismo, contudo pode ser biosintetizado a partir da citrulina recorrendo ao glutamato como precursor.

A figura 21 demonstra o difratograma do cristal de L-arginina obtido no software Mercury e a tabela 8 alguns dos planos referentes aos picos de maior intensidade.



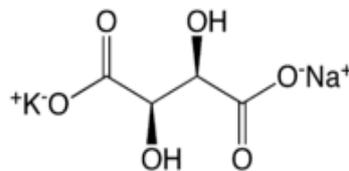
**Figura 21- Difratograma obtido através do *software* "Mercury" de cristais de L-arginina**

**Tabela 8 - Difrações de maior intensidade e planos associados de L-Ag**

Angulo de reflexão (2θ)	Plano (hkl)
11,080	(020)
18,381	(200)
19,226	(210)
19,523	(021)
23,190	(031)
27,537	(041)

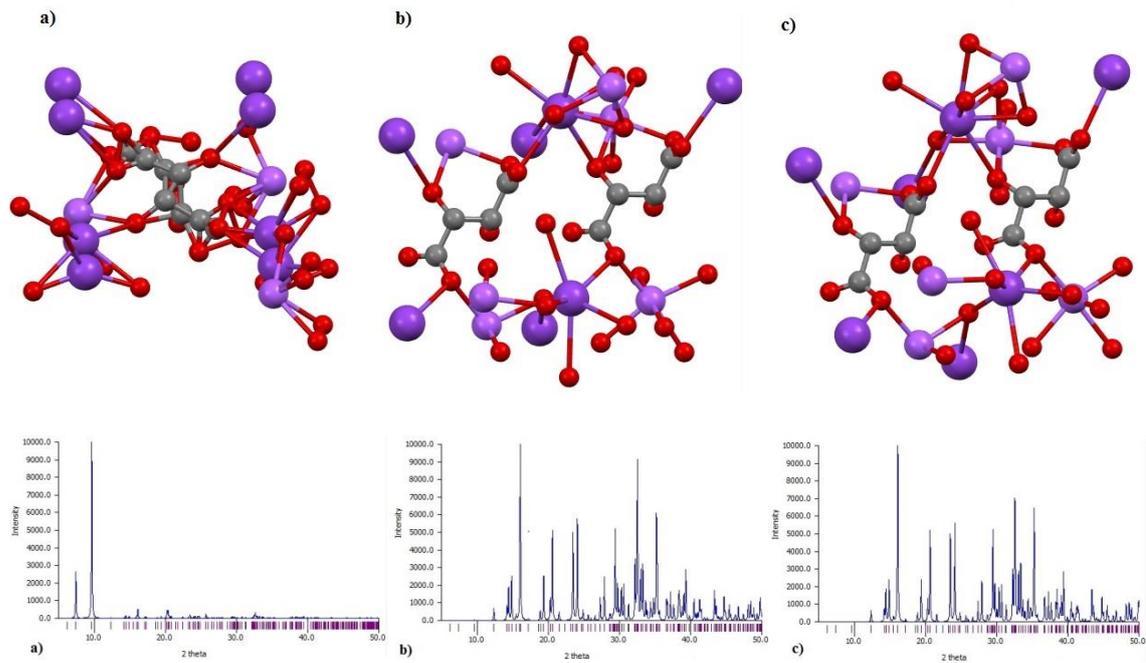
### 2.5.4 Sal de Rochelle

O tartarato de sódio e potássio, vulgarmente apelidado de sal de Rochelle é um ferroelétrico que data a sua descoberta do ano de 1675. Trata-se do primeiro ferroelétrico descoberto e como tal apresenta uma resposta piezoelétrica já amplamente estudada ao nível do cristal. Com a sua aplicação em nanofibras espera-se poder verificar um incremento elevado das suas propriedades como nos aminoácidos anteriores. No decorrer dos anos este já foi aplicado em diversos equipamentos que necessitavam de um determinada sensibilidade à pressão, tais como leitores de vinil ou fonógrafos. [40] O sal de Rochelle apresenta a seguinte fórmula química,  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , a sua estrutura química é a apresentada na figura 22 e é um semi-orgânico. A sua aplicação em fibras vai permitir comparar com os materiais orgânicos referidos anteriormente, visto que a sua origem não é natural e os efeitos óticos e físicos são em teoria mais acentuados.



**Figura 22- Esquema da molécula do sal de Rochelle**

A sua característica mais interessante é de que apresenta dois pontos de Curie e o seu estado ferroelétrico está confinado na região de  $-24^{\circ}\text{C}$  e  $18^{\circ}\text{C}$ . Considerando este fator, é possível então verificar que se pode apresentar em três estruturas distintas o que se reflete nos difratogramas como é possível constatar na figura 23. A figura 23 a) corresponde à estrutura do composto para temperaturas inferiores a  $-18^{\circ}\text{C}$ , a figura b) pretende demonstrar a estrutura no intervalo ferroelétrico e a figura c) reflete a estrutura para temperaturas superiores a  $18^{\circ}\text{C}$  e conseqüente fase não ferroelétrica.



**Figura 23- Diferentes estruturas do sal de Rochelle**

O mecanismo de ferroeletricidade do sal de Rochelle foi explicado por Mitsui e Pepinsky [41] nas quais estes autores assumiram que a sua estrutura cristalina se trata de uma conjugação de dois tipos distintos de cadeias ao longo do eixo a da célula unitária, nomeados de P e R. Cada cadeia apresenta uma polarização e a sua magnitude é também representada por P e R respetivamente. Estes assumem que as duas fases paraelétricas, quando  $T < -24^{\circ}\text{C}$  e  $T > 18^{\circ}\text{C}$  são uma solução de cadeias P e R e que cada unidade assimétrica uma mistura das duas cadeias e sem orientação. A sua polarização será então:

$$R' = \frac{1}{2} \cdot (P + R) \quad \text{Eq. 5}$$

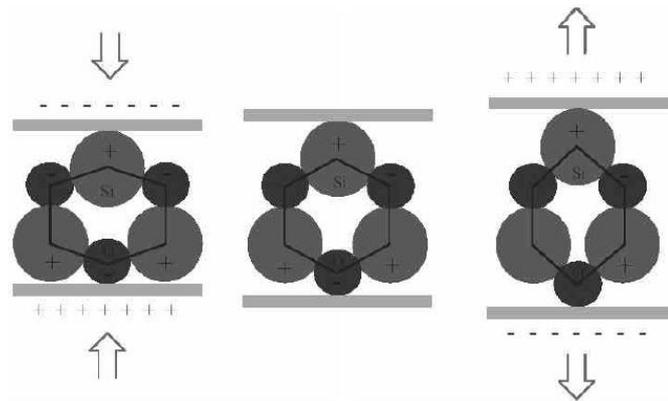
A polarização total será igual a zero por simetria do cristal, no entanto quando a fase ferroelétrica se encontra presente, a polarização total será:

$$R' = P + R \quad \text{Eq. 6}$$

O objetivo da incorporação deste composto será então confinar os cristais de sal de Rochelle no interior das fibras e ao longo destas, de forma a potenciar este efeito de polarização, tal como nos compostos anteriormente referidos e obtendo uma polarização em teoria proporcional ao número de cristais confinados.

## 2.6 Piezoelectricidade

A piezoelectricidade é um fenômeno que ocorre mediante um dado estímulo mecânico, mediante o qual se obtém uma resposta elétrica. No caso de cristais, este fenômeno está relacionado com a sua estrutura cristalina, na qual é necessário que exista alguma anisotropia, ou seja, em cristais centrossimétricos este fenômeno não ocorre como se pode verificar na figura 24.



**Figura 24- Representação do efeito piezoelétrico no cristal de quartzo**

Este fenômeno também ocorre em sentido inverso, quando é aplicada uma dada diferença de potencial ao cristal, este vai responder de forma mecânica, por expansão ou contração, dependendo do sentido do campo aplicado.

## 2.7 Ferroelectricidade

Trata-se de um fenômeno em que um material desenvolve a uma polarização espontânea e esta pode ser invertida pela aplicação de um campo elétrico externo. O ponto principal não é a presença do dipolo, mas sim a possibilidade de o inverter externamente. As propriedades elásticas, térmicas ou ópticas realçadas são indicativas deste comportamento [42].

Alguns materiais que apresentam comportamento ferroelétrico são desvantajosos porque são inorgânicos e limitam as aplicações, como por exemplo:

**Tabela 9 - Compostos ferroelétricos**

<b>Material</b>	<b>Origem</b>
BaTiO <sub>3</sub>	Inorgânica
LiNbO <sub>3</sub>	Inorgânica
KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> ·4H <sub>2</sub> O	Semi orgânica

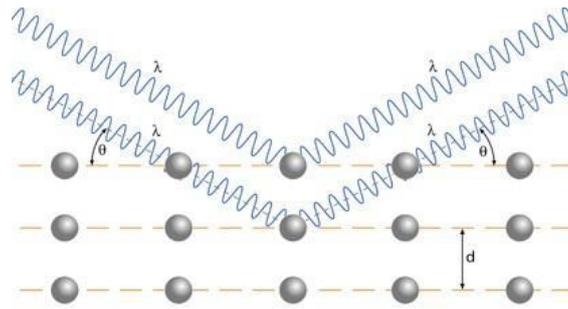
## 2.8 Caracterização

### 2.8.1 DRX

A difração por raio-X é uma técnica de caracterização que permite determinar as fases cristalinas presentes na amostra e a existência de orientação preferencial. Este método recorre à incidência da radiação sobre a superfície da amostra que é posteriormente difratada pelos planos cristalinos e captados pelo equipamento (figura 24). Quando a interferência ocorre, origina um pico de difração que se verifica no difratograma. Aqui aplica-se a lei de Bragg que permite relacionar o comprimento de onda ( $\lambda$ ) com o ângulo de difração ( $\theta$ ) e a distância interplanar ( $d$ ) que é definida pelos seus índices de Miller (hkl). A relação é então:

$$n\lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta \quad \text{Eq. 7}$$

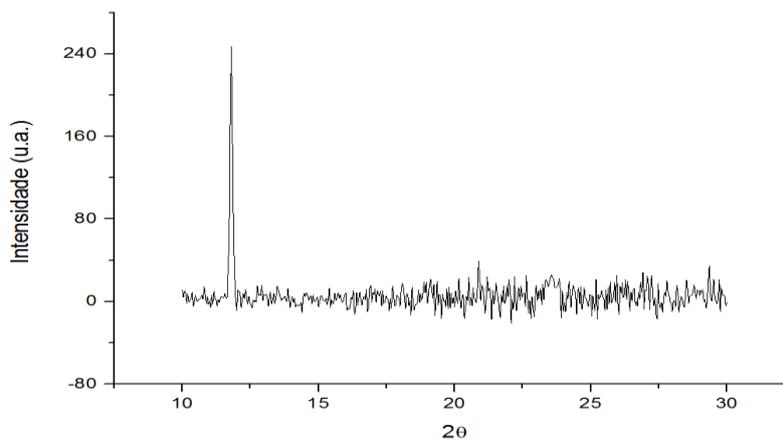
Estes planos atômicos que constituem os materiais cristalinos encontram-se espaçados pelo valor da distância interplanar ( $d_{hkl}$ ), pelo que a interferência dos feixes difratados nos planos cristalinos da amostra resulta num pico de difração.



**Figura 25- Esquema representativo da incidência dos raios-X na amostra**

Quando existe orientação preferencial verifica-se pela presença de um só ou mais picos em que a intensidade relativa é diferente daquela que se obtém para uma amostra policristalina com uma distribuição aleatória de cristais como se pode verificar na figura 26.

Os ensaios foram efetuados no laboratório de serviços de caracterização de materiais da Escola de Ciências (SEMAT), Universidade do Minho, Guimarães com o equipamento Bruker D8 Discover que utiliza uma radiação  $\text{CuK}\alpha$ , com comprimento de onda de 1,5406 Å.

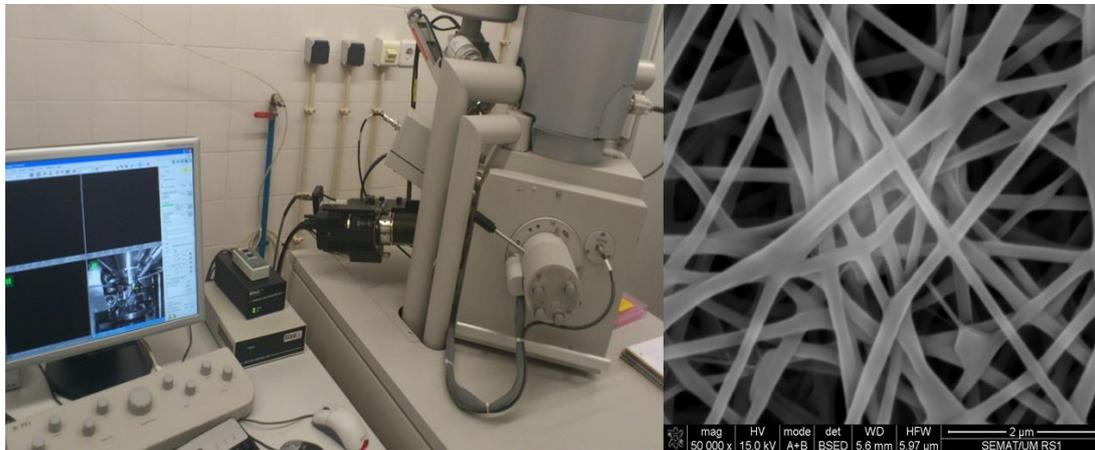


**Figura 26- Difratograma tipo com orientação preferencial**

### 2.8.2 MEV

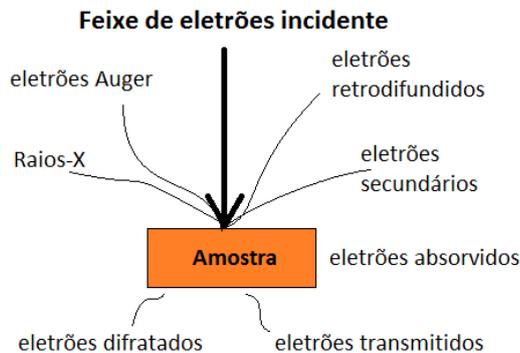
A técnica de microscopia eletrónica de varrimento (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) permite efetuar uma análise topográfica e morfológica, tal como a deteção de defeitos microestruturais nos materiais em análise e obter informações da sua composição química. Esta técnica de caracterização

morfológica permite ampliações até 500000x e vai possibilitar a verificação da distribuição neste caso em particular das fibras e estimar o seu tamanho (figura 27). Foi levada a cabo no laboratório de serviços de caracterização de materiais da Universidade do Minho.



**Figura 27- Equipamento experimental e resultados obtidos por MEV**

O processo consiste em fazer incidir um feixe de eletrões na superfície da amostra (figura 28) levando a que liberte eletrões retro difundidos, secundários e raio-X. O sinal derivado da interação entre os eletrões e a amostra é o que permite revelar informações sobre a sua morfologia e os dados recolhidos são na forma de uma imagem a duas dimensões.



**Figura 28- Ilustração do funcionamento da técnica de caracterização MEV**

Trata-se uma técnica aplicável a todo o tipo de materiais mas com algumas distinções ao nível da sua preparação dependendo da existência de condutividade ou não da amostra. No caso de as amostras serem condutoras, estas podem ser diretamente analisadas. Quando se pretende estudar amostras isoladoras, tais como as amostras poliméricas depositadas em lamelas de vidro, existem alguns requisitos para as condições de ensaio. Nas superfícies isoladoras tende a haver acumulação de cargas o

que impossibilita a obtenção da imagem. Desta forma as superfícies devem ser previamente revestidas com uma fina camada de material condutor utilizando-se normalmente ouro ou carbono por meio de uma deposição. Na escolha do material do revestimento é necessário ter em conta que no caso de se pretender analisar a composição química, o elemento do revestimento não mascare os picos de elementos presentes na amostra.

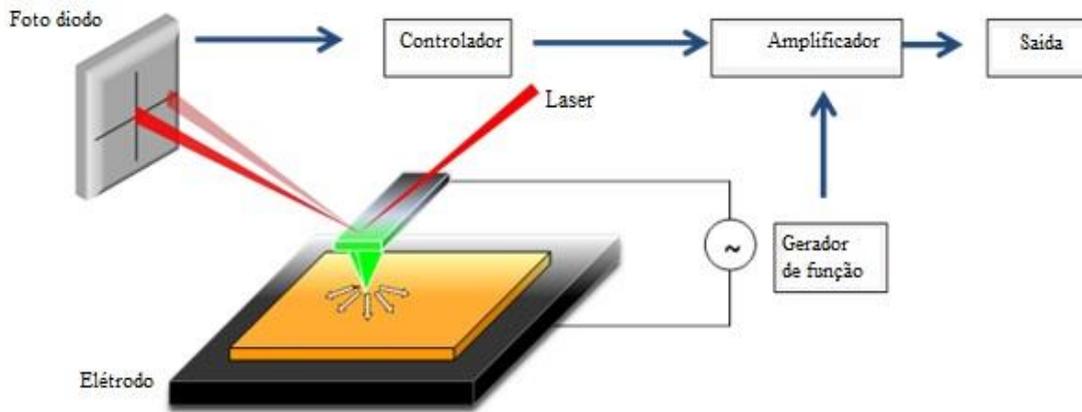
Quanto às dimensões das amostras estas encontram-se normalmente limitadas pela dimensão da câmara onde a mesma é colocada, sendo que a mesma normalmente apresenta dimensões reduzidas sendo que as amostras preparadas tinham uma área de análise até 1cm<sup>2</sup>.

A análise foi levada a cabo no laboratório de serviços de caracterização de materiais da Escola de Ciências(SEMAT), Universidade do Minho, Guimarães no equipamento, FGI NOVA 200 e FEG-SEM.

### **2.8.3 PFM**

A técnica de PFM (do inglês *Piezoresponse Force Microscopy*) é uma variante do SPM (do inglês *Scanning Probe Microscopy*). O SPM permite o estudo topográfico e das propriedades físicas, permitindo verificar propriedades ferroelétricas em filmes finos ou cristais. Atualmente o método mais comum de análise de materiais ferroelétricos e materiais sem centro de simetria é o PFM que funciona num regime de contacto, baseado na deteção de uma deformação superficial, que ocorre devido à polarização induzida.

O equipamento experimental utilizado é idêntico ao utilizado no AFM (do inglês *Atomic Force Microscopy*) no qual uma ponta é colocada em contacto com a superfície da amostra, sendo exercida uma força constante como se pode verificar na figura 29.



**Figura 29- Esquema de análise PFM**

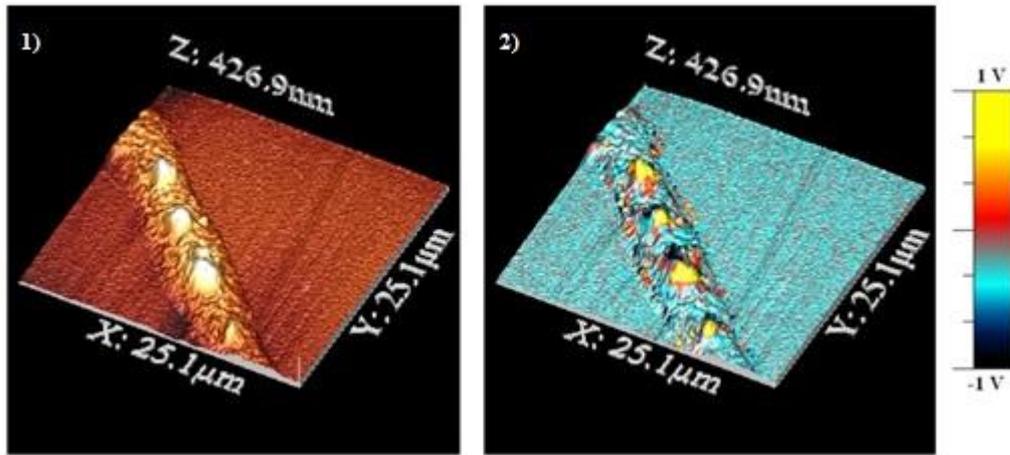
A amostra é posicionada por cima do eletrodo macroscópico e a ponta funciona como o nano eletrodo superior e variável em posição. O varrimento de toda a superfície da amostra é iniciado e simultaneamente é aplicada uma voltagem contínua à amostra através da ponta.

$$V_{tp} = V_{dc} + V_{ac} \cos(\omega t) \quad \text{Eq. 8}$$

A deformação mecânica localizada que pode ser de contração ou expansão devida ao efeito piezoelétrico é verificada no braço que sustenta a ponta (cantilever) é detetada pelo movimento do laser refletido para o foto diodo.

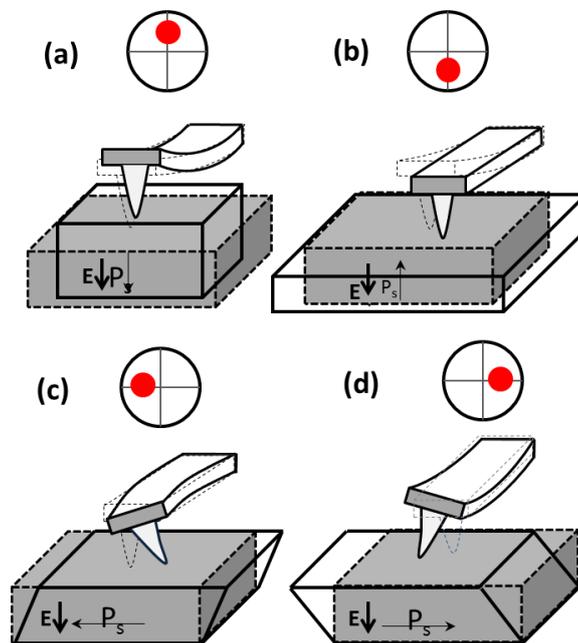
$$A = A_0 + A_{1,\omega} \cos(\omega t + \phi) \quad \text{Eq.9}$$

O recurso ao amplificador permite que a fase e amplitude da resposta sejam obtidas simultaneamente com a topografia (figura 30-1). A fase da resposta eletromecânica ( $\phi$ ), providencia a informação sobre a direção da polarização que se verifica na amostra e a amplitude ( $A = A_{1,\omega}/V_{ac}$ ) caracteriza a força da resposta piezoelétrica na superfície como mostra na figura 30-2.



**Figura 30- Resultados tipo obtidos em fibras por análise PFM**

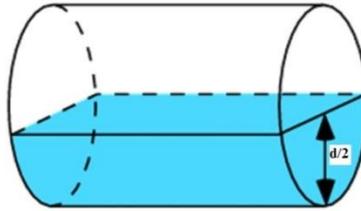
Existem dois métodos de caracterização, nomeadamente o PFM vertical, no qual a ponta está perpendicular ao plano da amostra, formando constantemente um ângulo de  $90^\circ$ , como se pode verificar na figura 31 a) e b) e o PFM lateral, que por torção do braço permite medidas fora do eixo da amostra, neste caso a fibra e geralmente vai criar ângulos diferentes de  $90^\circ$  (figura 31 c) e d)).



**Figura 31- Representação dos tipos de leitura possíveis em PFM [45]**

No geral quando o vetor polarização está orientado perpendicularmente com a superfície, a aplicação de uma voltagem positiva vai resultar na expansão da amostra. Neste caso, as oscilações vão estar em fase com a voltagem da ponta, sendo  $\phi = 0$ . A torção máxima do braço é verificada em  $0^\circ$  ou  $180^\circ$ ,

sendo que as imagens obtidas representam apenas metade da fibra, ou seja, se a fibra foi abordada como um cilindro perfeito como demonstra a figura 31, o volume em estudo é a metade superior.



**Figura 32- Interpretação do volume da amostra em estudo**

A conjugação das técnicas, permite criar um mapa de vetores das orientações moleculares em biomateriais piezoelétricos, existindo ainda a possibilidade de traçar curvas de histerese. A técnica utilizada para a determinação dos domínios é o SSPFM do inglês “*switching spectroscopy piezoresponse force microscopy*”. Este tipo de caracterização permite obter curvas de histerese para materiais ferroelétricos assim como possibilitar a sua distinção com os materiais piezoelétricos. Aqui uma voltagem é aplicada de forma cíclica em amplitude e com a mesma duração no intervalo e é compreendida entre  $-V_{\min}$  e  $V_{\max}$  e a resposta piezoelétrica é medida nos intervalos de forma a minimizar a interferência electrostática [45].

Os ensaios foram levados a cabo na Universidade de Aveiro com a seguinte conjugação de equipamento Close-loop 5500(Pico+) e Large Sample 5500LS (PicoMAPS).

## CAPÍTULO 3 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

### 3.1.1 Preparação das soluções de polímero e L-alanina

As soluções foram preparadas em ambiente com temperatura controlada ( $T = 25^{\circ}\text{C}$ ) e em recipientes de vidro previamente esterilizados para não permitir a contaminação das soluções com compostos estranhos. O processo de produção recorre a um agitador magnético que também se predispõem a promover aquecimento dado que alguns polímeros apenas dissolvem acima da temperatura ambiente. As soluções iniciais foram preparadas apenas com polímero de forma a aferir as condições ideais e comprovar a qualidade das fibras. A ordem de produção foi a apresentada na tabela 10:

**Tabela 10 - Ordem de produção das soluções de L-alanina**

<b>Solução</b>	<b>Composição</b>	<b>Relação em peso - Rácio entre componentes ( Pol./aminoácido)</b>
<b>1</b>	H <sub>2</sub> O + PVA	10%
<b>2</b>	H <sub>2</sub> O + PVA+L-A	10% - (1/1)
<b>3</b>	H <sub>2</sub> O + PVA+L-A	10% - (3/2)
<b>4</b>	H <sub>2</sub> O + PVA+L-A	10% - (2/1)
<b>5</b>	H <sub>2</sub> O + PVA+ Glicina	10% - (1/1)
<b>6</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(100)	10%
<b>7</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(100)+L-A	10% - (1/1)
<b>8</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(100)+L-A	10% - (3/4)
<b>9</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(900)	10%
<b>10</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(900)+ L-A	10% - (1/1)
<b>11</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(900)+ L-A	10% - (3/4)

Como referido anteriormente a as soluções que contêm PVA têm que ser aquecidas acima da sua temperatura de transição vítrea para facilitar a sua solubilização e não permitir a formação de aglomerados enquanto que o PEO se dissolve em boas condições à temperatura ambiente. A solução 2 revelou que a incorporação do aminoácido prejudica a qualidade das fibras, tendo-se então diminuído progressivamente a sua percentagem em peso.



**Figura 33- Equipamento para produção de soluções de PVA**

A solução 5 com o aminoácido glicina foi preparada porque já são conhecidos os seus resultados, o que permite estabelecer uma base de comparação com as restantes soluções e verificar que as fibras produzidas com as soluções de PVA não apresentam as propriedades pretendidas, tendo-se então direcionado para as soluções com base no PEO.

Da solução 7 para a 8 verificou-se que um incremento do fator percentual face ao polímero não permitia a produção continuada das fibras, apesar da relação 7 proporcionar um processo estável e com bons resultados morfológicos.



**Figura 34- Soluções obtidas de PVA com L-a em diferentes percentagens**

Como o objetivo passava por incorporar a máxima percentagem possível de L-alanina, recorreu-se a um PEO de maior peso molecular, permitindo este a incorporação de valores em peso de aminoácido, superiores ao seu. Neste caso a solubilidade foi mais complexa, sendo necessário um acréscimo de

solvente, mantendo-se a relação da L-alanina para o solvente de 10% mas com um rácio com o polímero menor.

No geral velocidades elevadas de agitação associadas a temperaturas também elevadas promoviam a formação de bolhas no interior da solução que era necessário remover no ultra-sons porque impediam o escoamento fluido da solução pela agulha durante o processo de electrospinning.

### 3.1.2 Electrospinning – parâmetros utilizados

Para cada solução preparada, foi necessário variar os parâmetros de produção porque as viscosidades são distintas e quanto maior a quantidade de aminoácido presente em solução mais complexo e instável se torna o processo como demonstrado na tabela 11:

**Tabela 11 - Parâmetros experimentais para soluções de L-alanina**

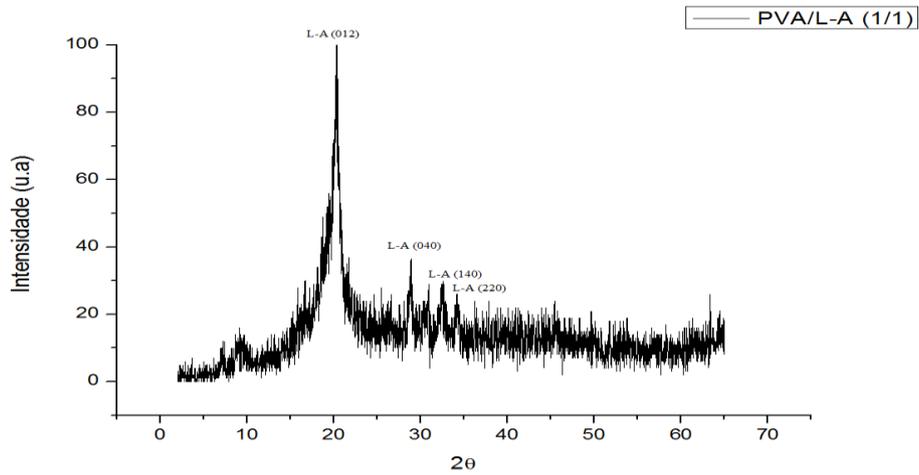
<b>Solução</b>	<b>Campo (kV)</b>	<b>Alimentação (ml/h)</b>	<b>Distância entre agulha e coletor (cm)</b>
<b>1</b>	12	0,3	15
<b>2</b>	25	0,15	15
<b>3</b>	25	0,3	15
<b>4</b>	20	0,4	13
<b>5</b>	15	0,5	10
<b>6</b>	12	0,15	15
<b>7</b>	12	0,15	15
<b>8</b>	18	0,3	10
<b>9</b>	14	0,5	10
<b>10</b>	16	1,0	10
<b>11</b>	22	1,5	10

As fibras produzidas a partir das soluções com apenas o polímero estabelecem os parâmetros com os quais se avança para a produção das seguintes soluções com o aminoácido, que idealmente deveriam de ser iguais mas a dopagem com L-alanina em quantidades elevadas promove instabilidade do processo sendo as fibras projetadas ou a ocorrência de gotejamento sem formação do cone de Taylor que impede a correta extração das fibras. Esta instabilidade reflete-se no medidor de corrente da fonte de tensão, revelando picos de corrente. Com o aumento do peso molecular do polímero em geral, foi necessário promover um aumento da pressão aplicada na agulha e uma diminuição da distância devido ao aumento da viscosidade da solução. As soluções de PVA com L-alanina não apresentavam uma boa viscosidade para produzir as fibras e ocorria gotejamento na lamela utilizada para captar as fibras, tornando o processo instável.

Para todas as soluções com L-alanina utilizaram-se os valores base estabelecidos pela solução de polímero mas rapidamente se tornou claro que o campo tinha de ser superior porque as forças eletrostáticas não eram suficientes para remover a fibra da gota criada na extremidade da agulha. As fibras com Glicina permitiram verificar que o PVA não cumpre os requisitos para incorporar a L-alanina, e que as fibras de menor tamanho eram obtidas com PEO com elevado peso percentual do aminoácido.

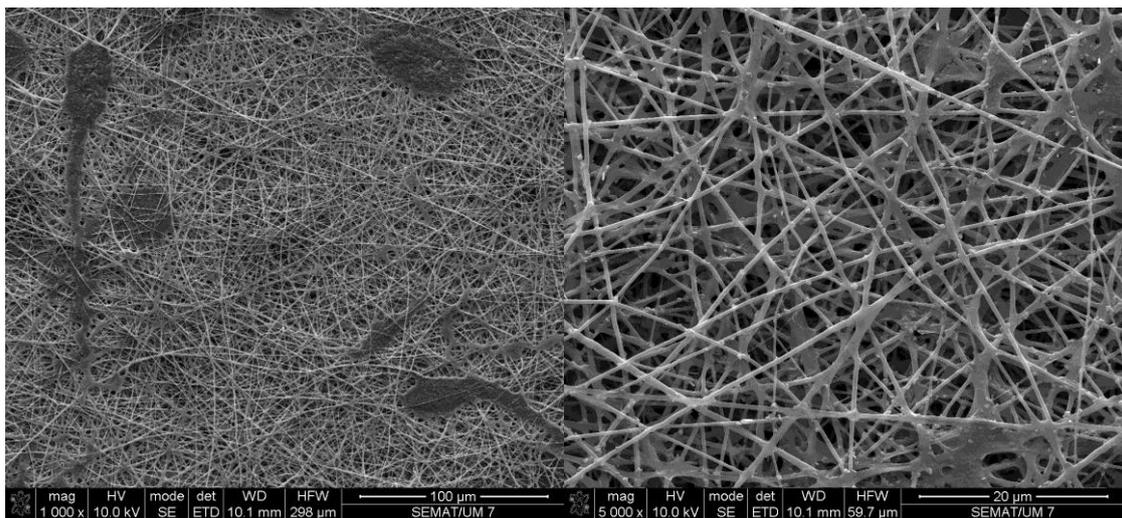
### **3.1.3 Caracterização das fibras de PVA**

Pela análise do difratograma das fibras de PVA/L-alanina de rácio 1, é possível verificar a existência do aminoácido nas fibras. A estrutura amorfa da base do difratograma deve-se ao fato do polímero ser parcialmente amorfo e a lamela utilizada para a deposição ser de vidro. O PVA apresenta um pico que coincide com o da L-alanina (012) e a cristalização ocorre segundo este plano, evidenciando a possibilidade de existir orientação preferencial que não pode ser confirmada devido à baixa intensidade das reflexões de Bragg.

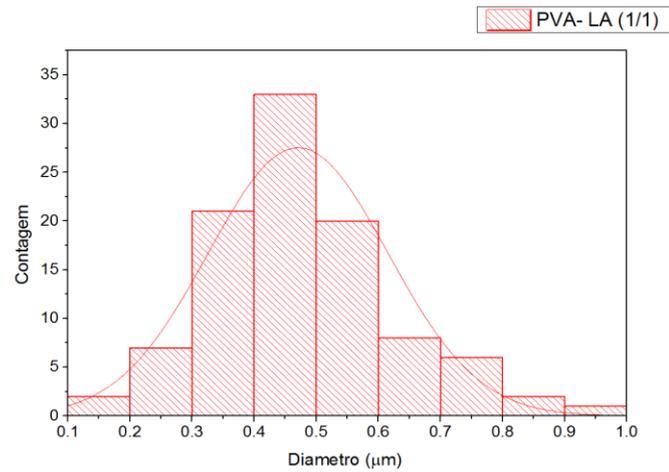


**Figura 35 - Difratoograma obtido da solução 1/1 PVA/L-a**

As imagens obtidas por MEV revelam as zonas onde ocorreu o gotejamento da solução e a sua distribuição aleatória, incluindo algumas zonas onde as fibras se fundiram. Na imagem com maior ampliação verifica-se que alguns cristais de L-alanina se encontram no exterior das fibras, indicando que esta se encontra em excesso, não podendo ser totalmente enclausurado pelo PVA devido ao facto de o solvente não ter evaporado imediatamente durante a formação das fibras. Este fenómeno pode explicar porque a orientação preferencial não é tão pronunciada como nos exemplos seguintes. As fibras obtidas apresentam diâmetros médios de 470nm.

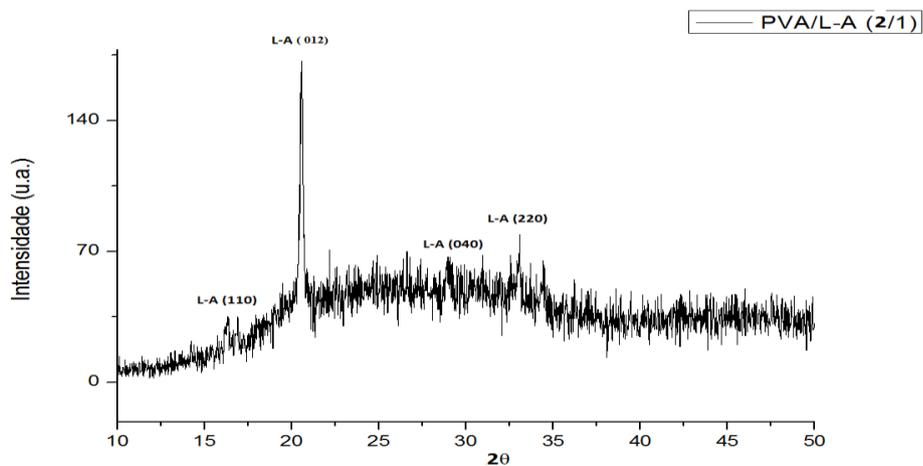


**Figura 36- Imagens obtidas por MEV para a solução 1/1 PVA-La, da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x**



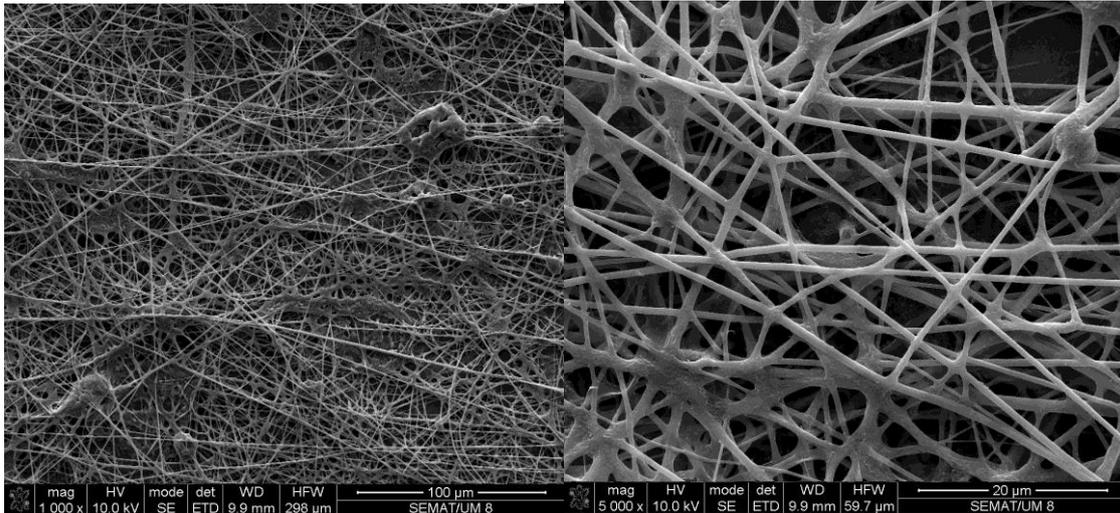
**Figura 37 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVA/La**

O difratograma da figura 38 das fibras produzidas com a solução de rácio 2 revela uma maior intensidade da difração correspondente ao plano (012) indiciando que o enclausuramento foi bem-sucedido.

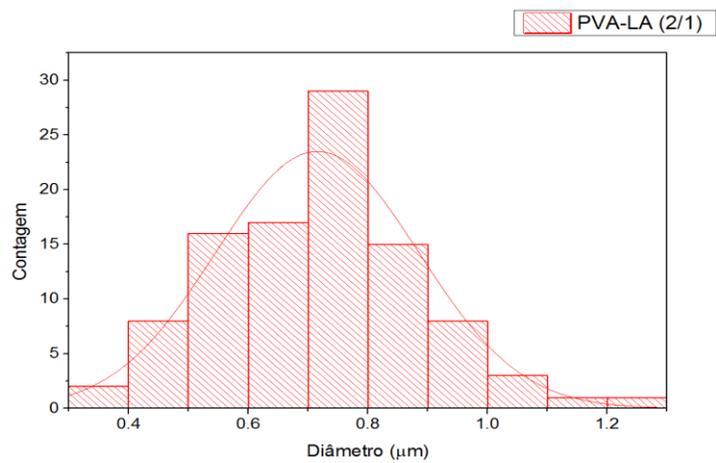


**Figura 38 - Difratograma da solução 2/1 PVA/L-a**

Na figura 39 estão representadas as fibras obtidas a partir da solução 4 e permite aferir que o tamanho médio das fibras é de 720nm, apresentando ainda algumas zonas onde ocorreu o gotejamento da solução. Aqui não se verifica a existência de cristais na superfície das fibras, confirmando os resultados obtidos no difratograma. No entanto as fibras continuam a apresentar diâmetros elevados, mais próximos do micron e o processo de electrospinning mostrou-se instável.



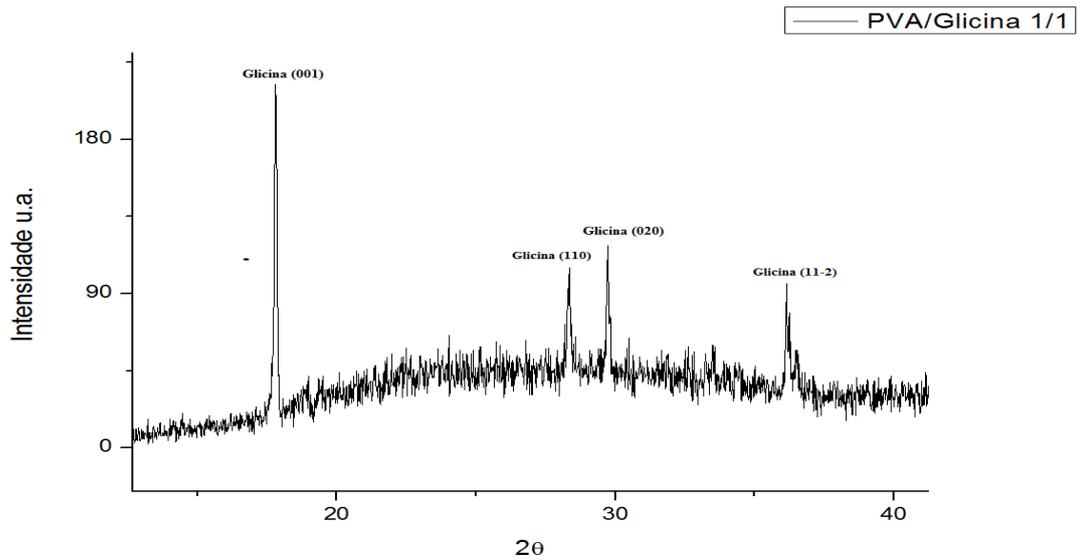
**Figura 39 -** Imagens obtidas por MEV para a solução a 2/1 PVA/L-a da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x



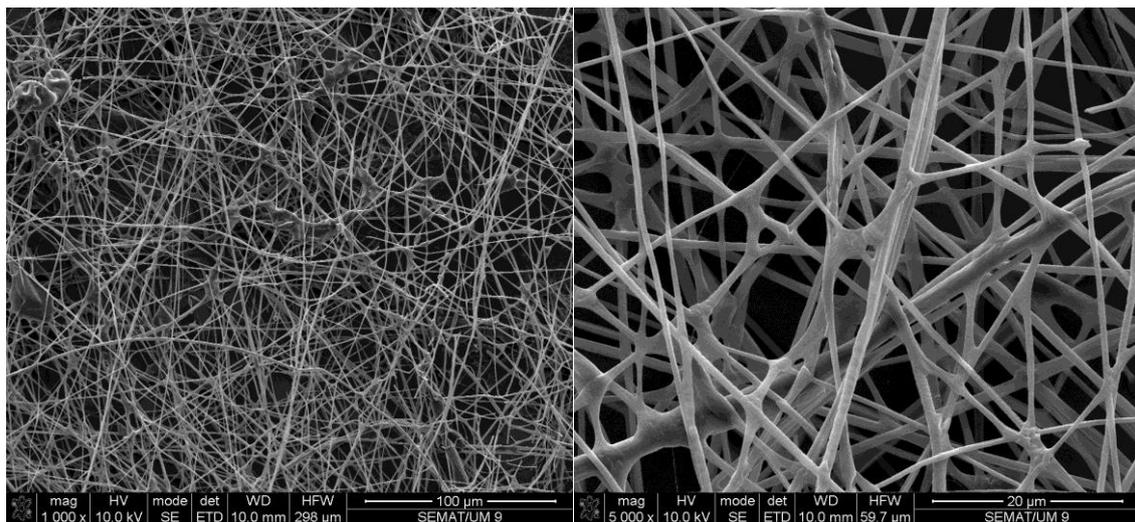
**Figura 40 -** Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 2/1 PVA/-La

### 3.1.4 Caracterização fibras polímero e glicina

As fibras de PVA com glicina foram produzidas para se poder comparar a morfologia e os parâmetros de produção utilizando uma matriz polimérica idêntica, podendo assim ser mais evidente o comportamento dos aminoácidos nas fibras.

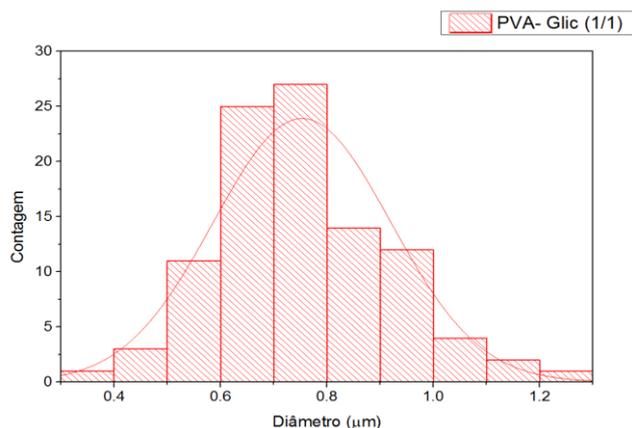


**Figura 41 - Difratoograma obtido da solução de PVA/Glicina**



**Figura 42 - Imagens obtidas por MEV para solução PVA/Glicina, da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x**

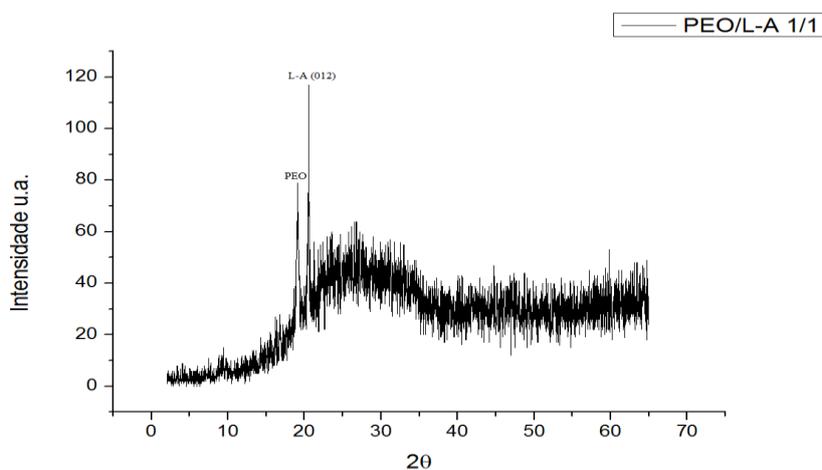
A solução de glicina revelou uma difração de maior intensidade segundo o plano (001) como era esperado, identificando-se vários picos referentes aos planos cristalográficos da glicina, tendo sido as fibras obtidas por um processo mais estável como se pode verificar nas imagens obtidas por MEV (figura 42) nas quais não se apresentam zonas onde ocorreu gotejamento. Sendo a glicina um aminoácido de menor dimensão que a L-alanina, o que permitiu a incorporação de uma maior percentagem em peso e um diâmetro médio das fibras de 730nm [43].



**Figura 43 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PVA/Glicina**

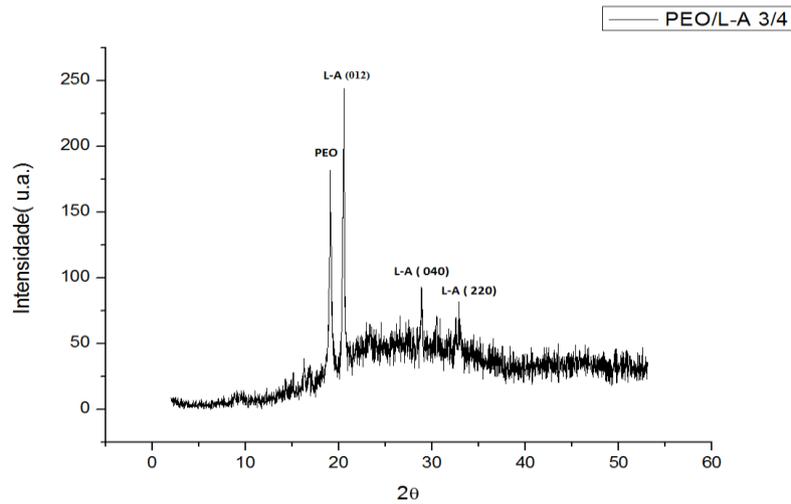
### 3.1.5 Caracterização das fibras de PEO

O difratograma da figura 44 foi obtido a partir da solução de PEO com  $M_w$  de  $100 \times 10^3$  no qual apenas se verificam dois picos possivelmente devido ao fundo existente, sendo que um é do PEO. Como se pretende que a L-alanina esteja em maior quantidade e para que se obtenham reflexões de Bragg mais intensas, procedeu-se à preparação da solução 8 mas esta não permitia a produção de fibras.



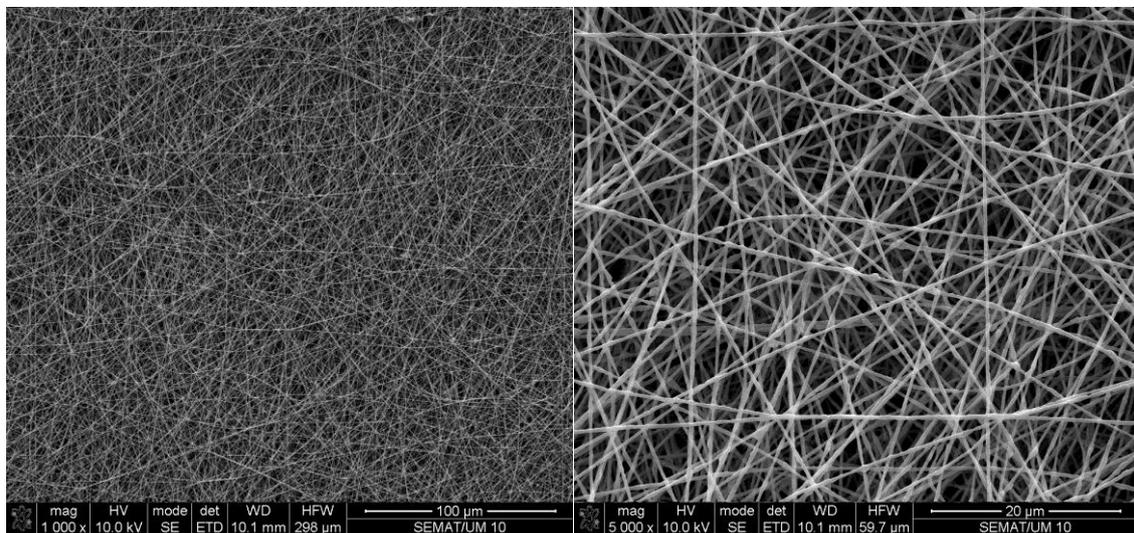
**Figura 44- Difratograma da solução 1/1 com PE0100/L-a**

Recorrendo ao PEO de  $M_w$   $900 \times 10^3$  foi possível incorporar mais aminoácido inclusivamente com percentagem em peso superior e obtendo-se uma boa cristalinidade da L-alanina, denotando ainda existência de orientação preferencial dos cristais.

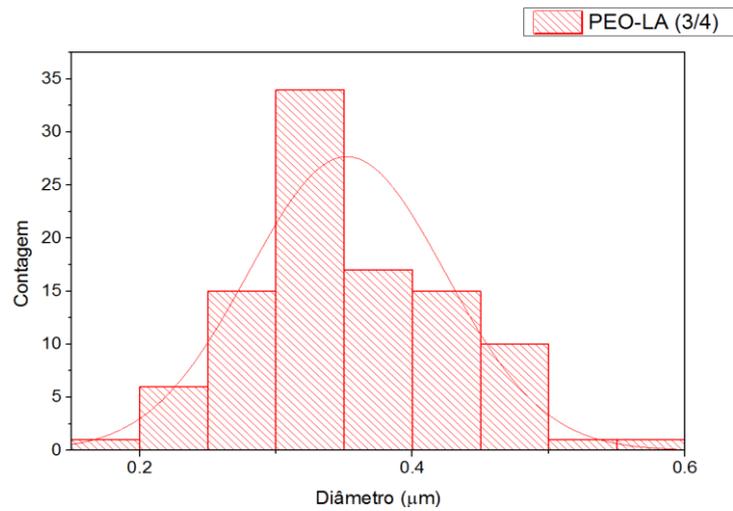


**Figura 45 - Difratoograma solução 3/4 com PEO900/L-a**

Por análise da figura 46 podemos verificar que o processo foi estável, sendo as fibras recolhidas de forma aleatória e com total incorporação da L-alanina, conforme pretendido. As dimensões das fibras já se encontram dentro da escala pretendida, apresentando diâmetros na ordem dos 350nm (figura 47). As fibras obtidas apresentam um maior número de camadas e têm dimensão bastante inferior ao verificado na análise MEV das amostras com PVA.

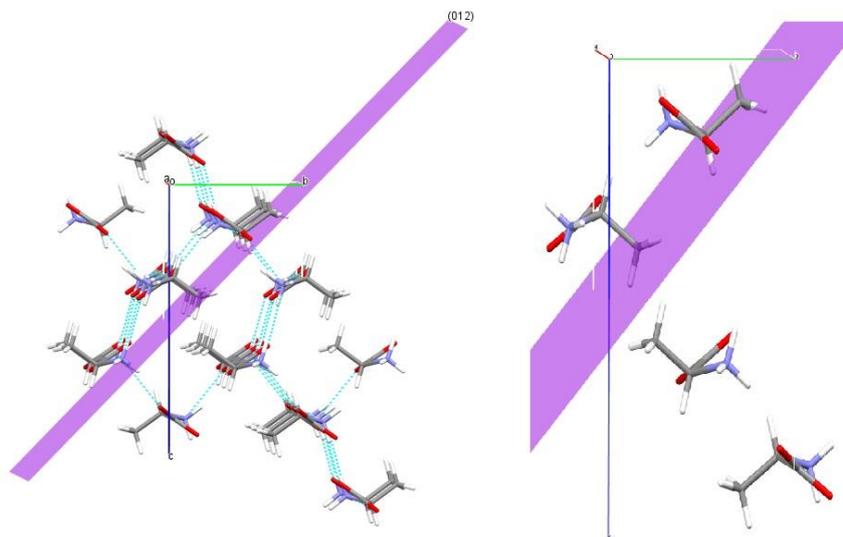


**Figura 46- Imagens obtidas por MEV para solução 3/4 PEO900/L-a, da esquerda para a direita: ampliação de 1000x e ampliação de 5000x**



**Figura 47 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 3/4 PEO900/L-a**

Por análise do plano obtido nos difratogramas recorrendo ao *software* "Mercury" é possível verificar a orientação das moléculas.



**Figura 48 - Representação do plano obtido no *software* "Mercury" de L-alanina**

Aqui é possível verificar que a orientação segundo este plano induz uma alternância entre as moléculas na célula, anulando os dipolos promovidos. Idealmente a orientação destes deveria ter o mesmo sentido, o que não se verifica, o que impede teoricamente uma potencial resposta piezoelétrica.

### 3.2.1 Preparação das soluções de polímero e DL-alanina

De forma similar ao aminoácido anterior, as soluções foram preparadas à temperatura ambiente ( $T = 25^{\circ}\text{C}$ ) em recipientes de vidro devidamente esterilizados e com recurso a uma agitador magnético que promove a homogeneização da mistura e o seu aquecimento se necessário. No caso das soluções de DL-alanina e considerando a experiência anteriormente adquirida com a L-alanina, as soluções são preparadas utilizando como solvente unicamente água destilada visto que o etanol, apesar de promover uma melhor secagem dos filamentos, induz uma cristalização dos aminoácidos em solução. De forma a compreender o comportamento na produção de fibras do PVP, a produção de fibras DL-alanina foi iniciada com o referido polímero. O PEO de  $100 \times 10^3$  não foi novamente utilizado porque foi verificado que um maior peso molecular permite uma maior incorporação do polímero. A ordem de produção foi a apresentada na seguinte tabela:

**Tabela 12 - Ordem de produção das soluções de DL-alanina**

<b>Solução</b>	<b>Composição</b>	<b>Relação em peso – Rácio entre compostos (pol./aminoácido)</b>
<b>1</b>	H <sub>2</sub> O + PVP(130) + DL-A	15% (2/1)
<b>2</b>	H <sub>2</sub> O + PVP(130) + DL-A	20% (1/1)
<b>3</b>	H <sub>2</sub> O + PVA + DL-A	10% (1/1)
<b>4</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(300) + DL-A	10% (1/1)
<b>5</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(900) + DL-A	10% (1/1)

As soluções foram preparadas de forma a tentar otimizar as propriedades do aminoácido sendo a relação entre polímero e aminoácido um reflexo do referido. As soluções preparadas deste composto revelaram uma elevada suscetibilidade à degradação, apresentando fungos no seu interior passadas 24h da sua produção em todos os casos, exceto no caso das soluções em que o polímero utilizado era o PVP, como se pode ver pela figura 49 para uma solução de PVA.



**Figura 49 - Presença de fungos em solução**

A solução 1 revelou um déficit de viscosidade, ocorrendo gotejamento constante e instabilidade no processo, tendo sido então preparada a solução 2 que já permitia um processo estável. A posterior análise morfológica revelou que o solvente não evaporou na totalidade o que levou à produção das fibras com os polímeros anteriormente estudados, PVA e PEO.

No caso da DL-alanina, a velocidade de agitação também foi moderada para impedir a formação de bolhas de ar no seu interior, visto que estas limitam a estabilidade do processo se também forem introduzidas na seringa. De notar que quanto mais elevada for a viscosidade da solução, mais facilmente contem bolhas de ar e mais tempo precisa no ultrassons para a sua total remoção.

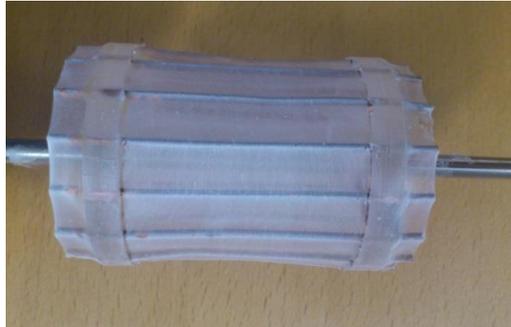
### 3.2.2 Electrospinning – parâmetros utilizados

Os parâmetros experimentais aplicados nas soluções de DL-alanina, são os apresentados na tabela 13.

**Tabela 13 - Parâmetros experimentais para soluções de DL-alanina**

<b>Solução</b>	<b>Campo (kV)</b>	<b>Alimentação (ml/h)</b>	<b>Distância (cm)</b>
<b>1</b>	10	0,01	14
<b>2</b>	12	0,05	12
<b>3</b>	20	0,2	12
<b>4</b>	12	0,1	12
<b>5</b>	14	0,1-0,15	12

Por comparação com a L-alanina, a DL-alanina permite uma produção de fibras mais estável, até com PVA, sendo que existe uma maior espessura do tapete obtido (figura 50). Um fator que ficou evidente aquando da produção deste segundo composto em fibras foi a influência da humidade atmosférica, ou seja, com o aumento da humidade os parâmetros utilizados anteriormente não podiam ser reaplicados, impedindo até em alguns casos a produção de fibras.

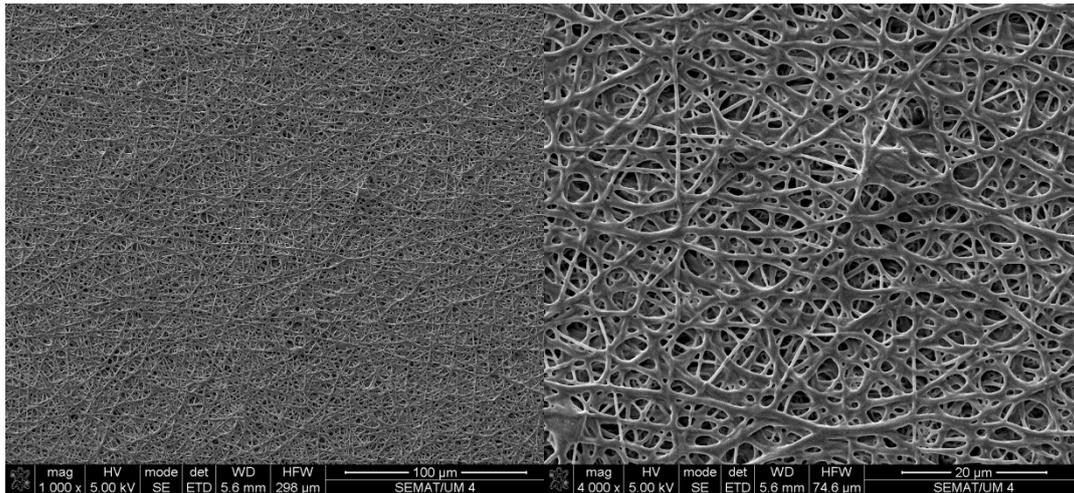


**Figura 50 - Tapete de PVA obtido no coletor a baixa rotação**

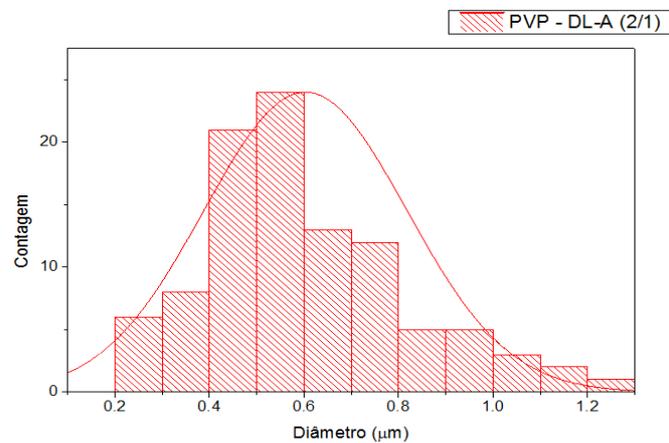
No geral as soluções apresentavam uma boa viscosidade, excetuando no caso da solução 1, o que permitia a aplicação de taxas de alimentação mais diminutas, uma vez que a massa do filamento removida da gota era de baixa dimensão, permitindo a obtenção de tapetes espessos e homogêneos.

### **3.2.3 Caracterização das fibras de PVP**

As fibras obtidas com recurso ao PVP como formador, apresentam uma morfologia de baixa qualidade, como se pode ver pela figura 51, obtidas pela solução 1. As fibras no decorrer do processo apresentavam indícios de boa qualidade apesar do constante gotejamento, no entanto com posterior análise no microscópio ótico e pelas imagens obtidas por MEV foi possível constatar que existia fusão entre as fibras, indicativo de que o solvente não evaporou na totalidade no percurso entre o cone de Taylor e o coletor. As fibras apresentam um diâmetro médio de 600nm (figura 52) e sem presença de cristais no seu exterior e sem sinais de evidente porosidade. Dado que não se apresentam cristais no exterior, o aminoácido está enclausurado no seu interior, no entanto dada a baixa qualidade morfológica apresentada, foi necessário a caracterização da solução 2.

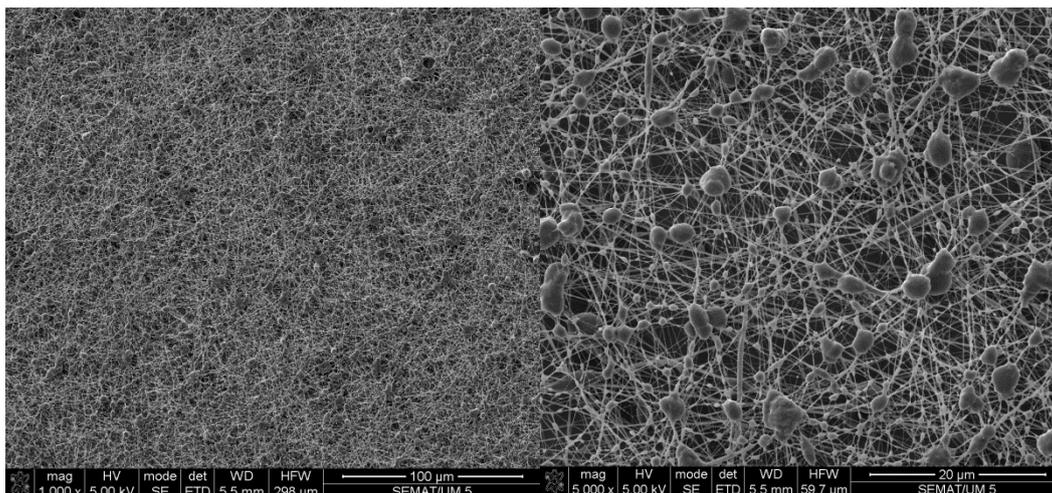


**Figura 51 - Imagens obtidas por MEV para solução de 2/1 PVP/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 4000x**



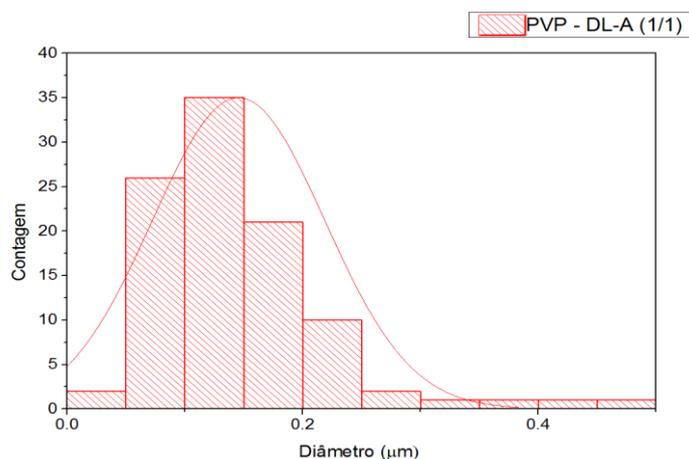
**Figura 52 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 2/1 PVP/DL-a**

A caracterização das fibras obtidas pela solução 2 revelou a presença de aglomerados apesar de estes não se terem evidenciado no decorrer da produção por algum tipo de instabilidade como se verifica na figura 53. Foi possível notar que um aumento da percentagem do polímero permite a obtenção de fibras de menor dimensão mas sem homogeneidade na amostra recolhida.



**Figura 53 - Imagens obtidas por MEV para solução de 1/1 PVP/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x**

As fibras apresentam diâmetros na ordem dos 140nm (figura 54), o que é um valor de excelência, no entanto possivelmente devido à maior percentagem de DL-alanina, estas não são obtidas de forma contante. Uma alternativa poderia passar pela utilização de um polímero de maior peso molecular, no entanto a total evaporação do solvente poderá ser um entrave. O diminuto diâmetro das fibras é um bom indicativo para outros compostos, visto que o PVP também apresenta uma boa solubilidade em etanol e será possível contornar a dificuldade obtida na evaporação do solvente.

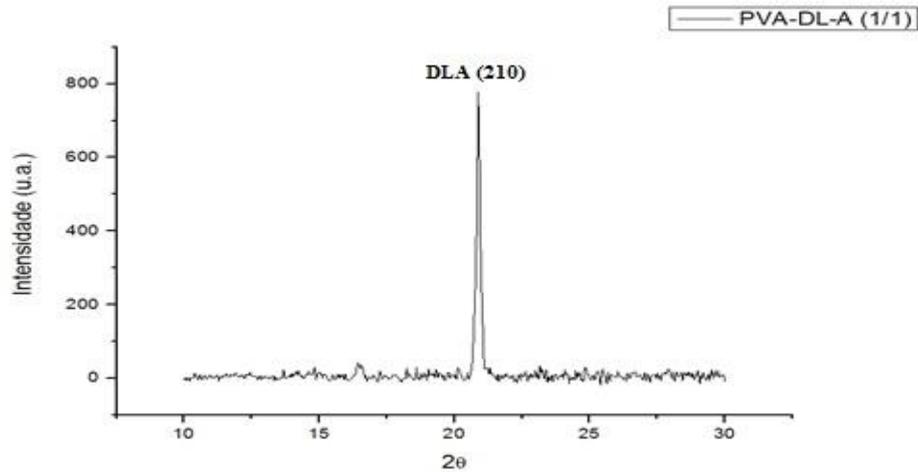


**Figura 54 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVP/DL-a**

### 3.2.4 Caracterização das fibras de PVA

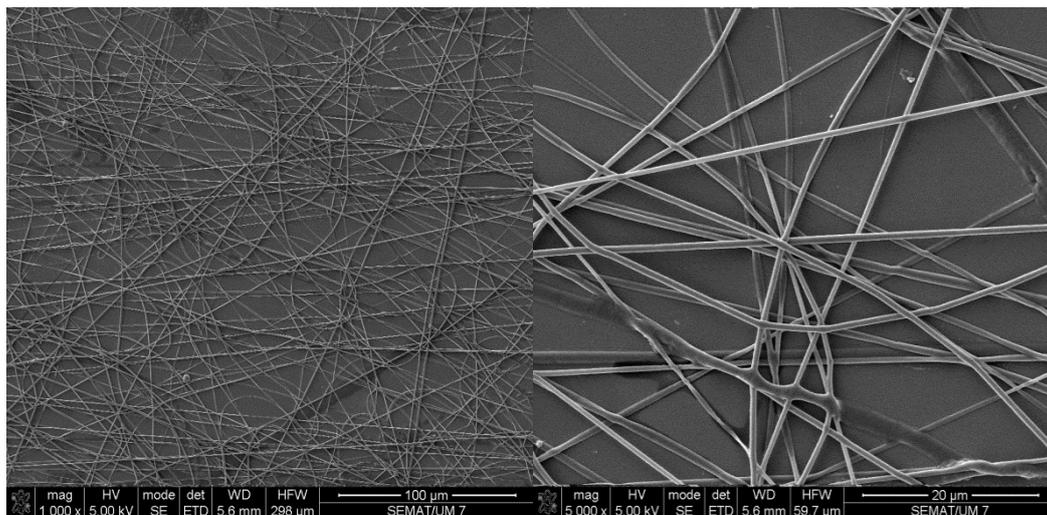
Por análise do difratograma da figura 55 existe uma clara orientação preferencial dos cristais enclausurados no interior da fibra, pois que a única reflexão observada é a (210). A incorporação do

aminoácido em igual proporção com o polímero não impediu a cristalização segundo um único plano, o que indicia que não existem cristais no exterior das fibras. A utilização de PVA permite ainda a obtenção de um difratograma com uma menor relação pico/fundo em contraste com os restantes polímeros, podendo esta diferença estar relacionada com uma maior cristalinidade do composto imerso nelas.



**Figura 55 - Difratograma solução 1/1 de PVA/DL-a**

A caracterização por MEV (figura 56) revelou a distribuição aleatória das fibras no tapete formado, indicando que o solvente evaporou na totalidade, sem evidência de zonas onde tenha ocorrido gotejamento. As fibras no geral não apresentam poros ou aglomerados e ao nível da produção, apresentam maior estabilidade por comparação com as fibras de L-alanina.



**Figura 56 - Imagens obtidas por MEV para solução de 1/1 PVA/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x**

O seu diâmetro médio é de 590nm (figura 57) existindo algumas fibras de maior dimensão que podem ter sido recolhidas no início do processo, antes da correta formação do cone de Taylor na gota. Estando os diâmetros das fibras compreendidos essencialmente entre os 500 e 600nm, permite aferir que para incorporação de DL-alanina, o PVA apresenta-se como um bom formador de fibras.

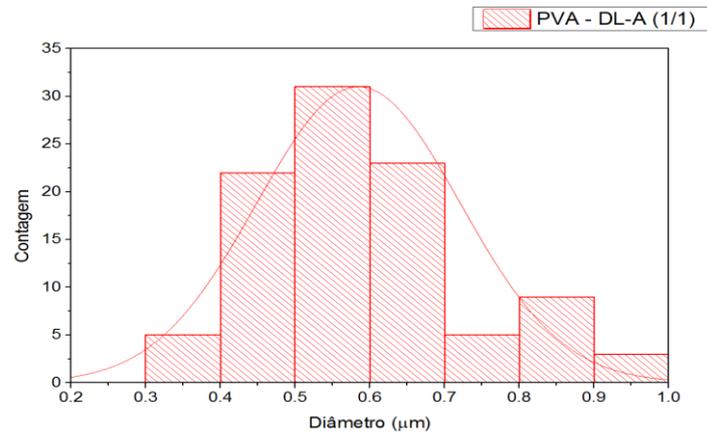


Figura 57 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVA/DL-a

### 3.2.5 Caracterização das fibras de PEO

A produção de fibras com PEO de peso molecular  $3 \times 10^5$  revelou após análise DRX uma elevada orientação preferencial segundo o plano (210) e contrariamente à L-alanina uma menor policristalinidade.

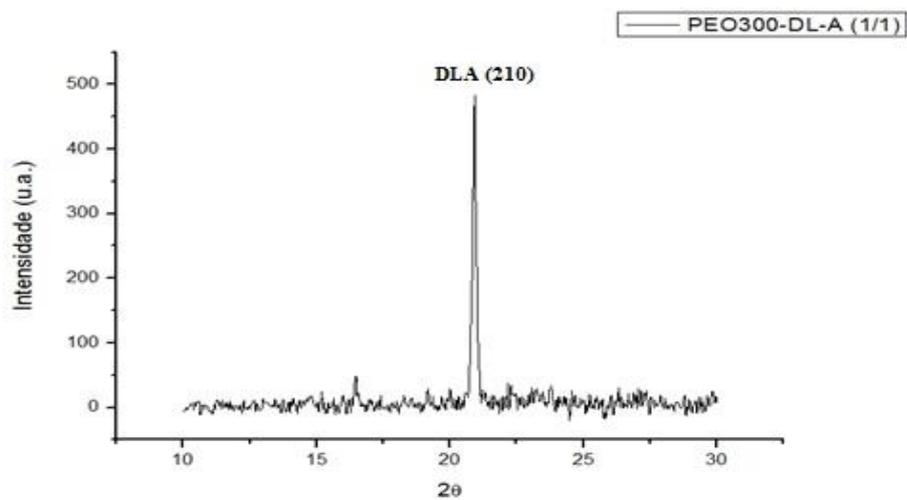
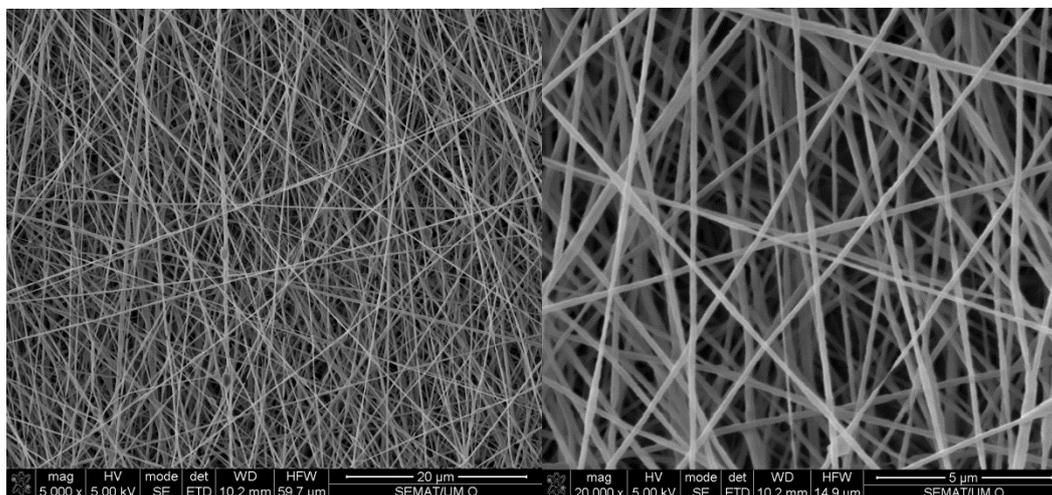
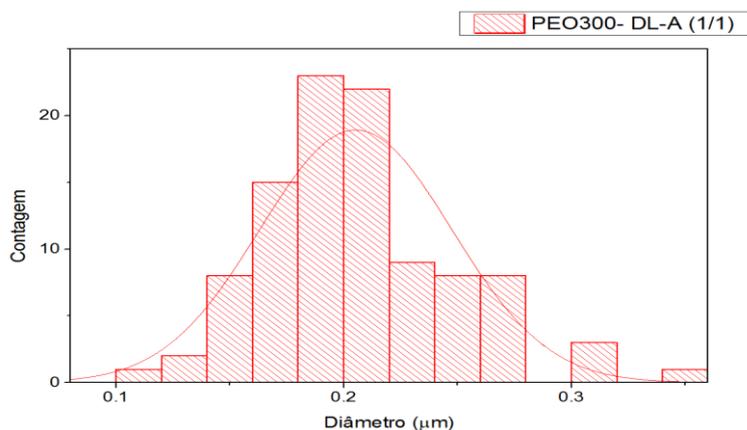


Figura 58 - Difractograma solução 1/1 de PEO300/DL-a

A análise MEV revelou um tapete com uma elevada homogeneidade ao nível da distribuição das fibras, assim como do seu tamanho como se pode constatar na figura 59. O seu diâmetro médio é de 200nm e a distribuição dos diâmetros está compreendida no intervalo de 100 a 350nm (figura 60). As fibras não revelam porosidade e indiciam uma boa evaporação do solvente, sem presença de cristais no seu exterior.

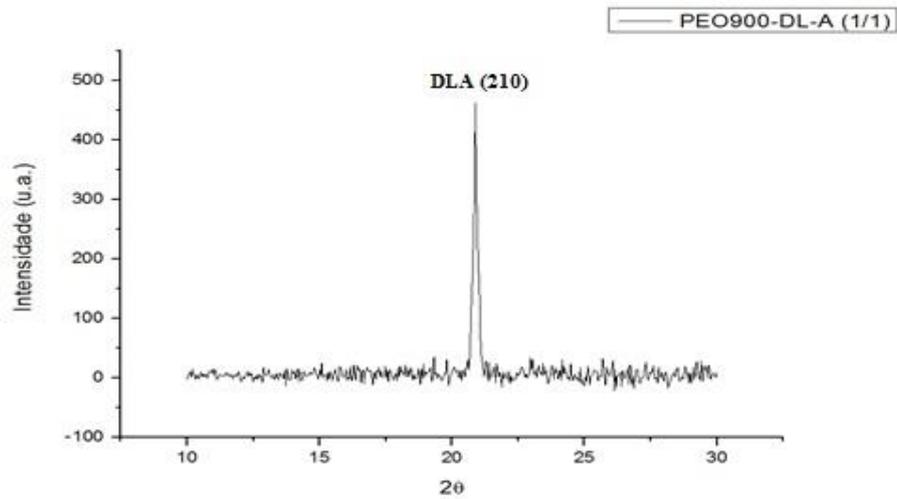


**Figura 59- Imagens obtidas por MEV para solução de PEO300/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 20000x**



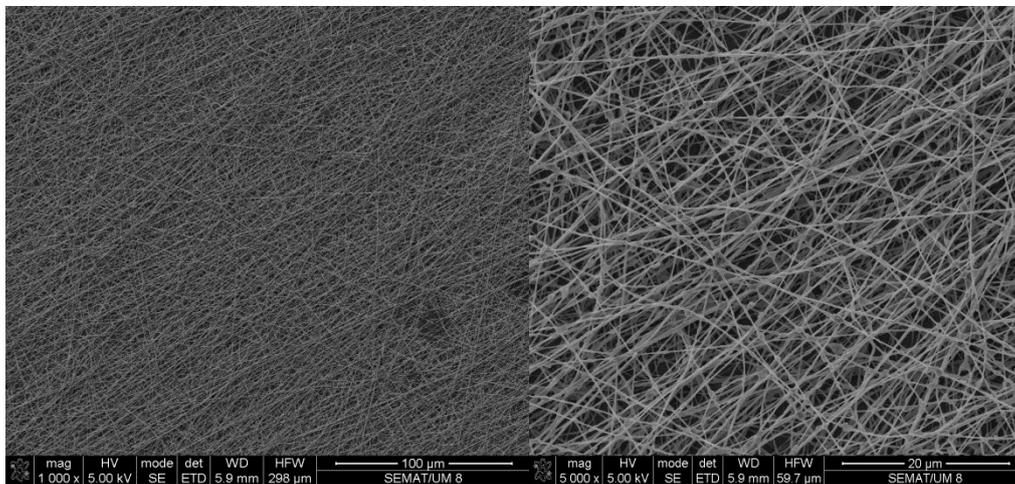
**Figura 60 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PEO300/DL-a**

As fibras obtidas a partir da solução com PEO de peso molecular  $9 \times 10^5$  apenas apresentam uma difração para o plano (210), indicando uma melhor orientação dos cristais ou a possibilidade de este pico ficar mascarado pela maior densidade do polímero.



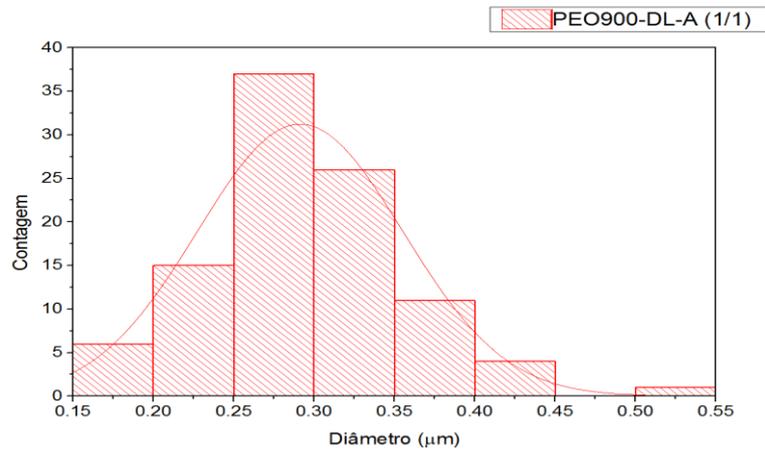
**Figura 61 - Difratoograma solução de PEO900/DL-a**

A análise microscópica revelou de igual forma ao PEO anterior, uma boa formação de fibras e boa homogeneidade no tapete, contudo, o diâmetro ao longo da fibra apresenta-se mais irregular, assim como o diâmetro médio das fibras. Na figura 62 para a menor ampliação constata-se duas zonas onde ocorreu gotejamento, sendo que este está associado à calibração do equipamento para a viscosidade da solução.



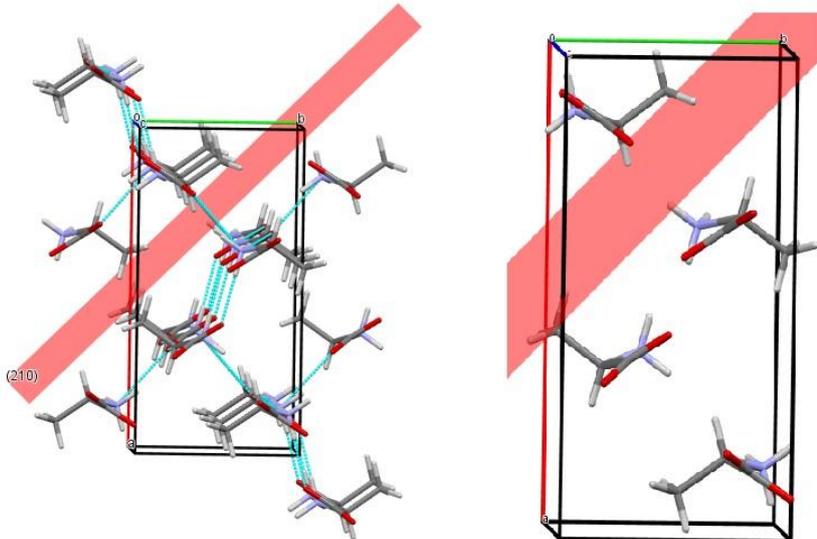
**Figura 62 - Imagens obtidas por MEV para solução de PEO900/ DL-a, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x**

O diâmetro médio das fibras é de 290nm (figura 63), no entanto, existe um desvio até aproximadamente 150nm o que indica uma melhor formação quando utilizando o polímero com peso molecular inferior.



**Figura 63- Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PEO900/DL-a**

Por análise do ficheiro *cif* da DL-alanina no *software* "Mercury" é possível verificar que efetivamente ocorre uma orientação das moléculas segundo o plano (210). Esta orientação apresenta-se na forma cabeça-cauda, indicativo de que existe a formação de dipolos ao longo das fibras, como se pode ver na figura 64. Esta orientação é necessária para a verificação da resposta piezoelétrica.



**Figura 64 - Representação do plano obtido no *software* "Mercury" de DL-alanina**

### 3.3.1 Preparação das soluções de polímero e L-arginina

As soluções de L-arginina de forma similar aos restantes aminoácidos foram preparadas em recipientes de vidro previamente esterilizados e com temperatura controlada, nomeadamente 25°C para o PEO e PVP e 80°C com aquecimento controlado no agitador magnético. Em igual sentido às soluções dos compostos anteriores as soluções foram preparadas, com a dissolução do composto em água destilada e posteriormente a dissolução do polímero. Em regra as soluções de aminoácidos apresentam uma tonalidade transparente, no entanto depois de acrescentado o polímero em solução, esta adquiria um tom mais opaco, indicando uma possível solidificação ou reação da L-arginina com o polímero formador de fibras em todos casos exceto nas soluções de PEO. As soluções preparadas permaneceram no agitador durante 24h de forma a garantir a sua total homogeneização e a sua preparação seguiu a seguinte ordem:

**Tabela 14- Ordem de produção das soluções de L-arginina**

<b>Solução</b>	<b>Solução</b>	<b>Relação em peso – Rácio entre compostos (pol./aminoácido)</b>
<b>1</b>	H <sub>2</sub> O + PVP(130) + L-Ag	20% (1/1)
<b>2</b>	H <sub>2</sub> O + PVA + L-Ag	10% (1/1)
<b>3</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(300) + L-Ag	10% (1/1)
<b>4</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(900) + L-Ag	10% (1/1)

### 3.3.2 Electrospinning – parâmetros utilizados

Os parâmetros utilizados para as soluções de L-arginina são similares aos aplicados aos aminoácidos anteriores, no entanto as amostras recolhidas apresentam uma menor espessura de deposição. No caso das fibras de PVA, a produção de fibras não foi possível e foi posteriormente verificado que após uma hora de repouso da solução ocorria separação entre o polímero e o solvente. A produção foi efetuada acrescentando inicialmente o aminoácido e posteriormente o polímero e a inversão da introdução dos componentes apresentava os mesmos resultados. Contrariamente as soluções obtidas a partir dos restantes polímeros, o campo aplicado à solução de PVA foi variado até 20kV, sem a

consequente remoção do filamento, apenas ocorrendo gotejamento. A solução de PVP promove um processo estável com uma elevada taxa de remoção de filamentos, apesar do gotejamento ocasional. O campo de 12kV foi aplicado visto que para valores inferiores não ocorre formação do cone de Taylor e valores superiores podem em ultimo recurso acelerar o movimento descendente da fibra, impedindo a total evaporação do solvente. A tabela 15 reflete os parâmetros aplicados às soluções de L-arginina.

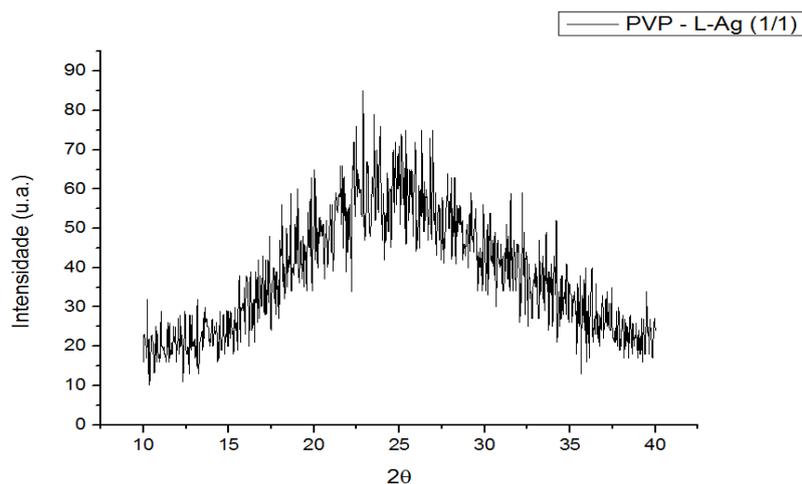
**Tabela 15 - Parâmetros experimentais para soluções de L-arginina**

<b>Solução</b>	<b>Campo (kV)</b>	<b>Alimentação (ml/h)</b>	<b>Distância (cm)</b>
<b>1</b>	12	0,01	15
<b>2</b>	20	0,40	12
<b>3</b>	15	0,10	12
<b>4</b>	12	0,08	14

A solução preparada com PEO de peso molecular  $9 \times 10^5$  revelou-se também inviável para produção, visto que apresentava uma viscosidade elevada e ocorria solidificação da solução no interior da agulha, mesmo com um aumento significativo da taxa de alimentação até 0,50 ml/h. Inicialmente aparenta existir remoção do filamento da gota, no entanto esta rapidamente adquire um tom opaco e solidifica, inviabilizando o processo.

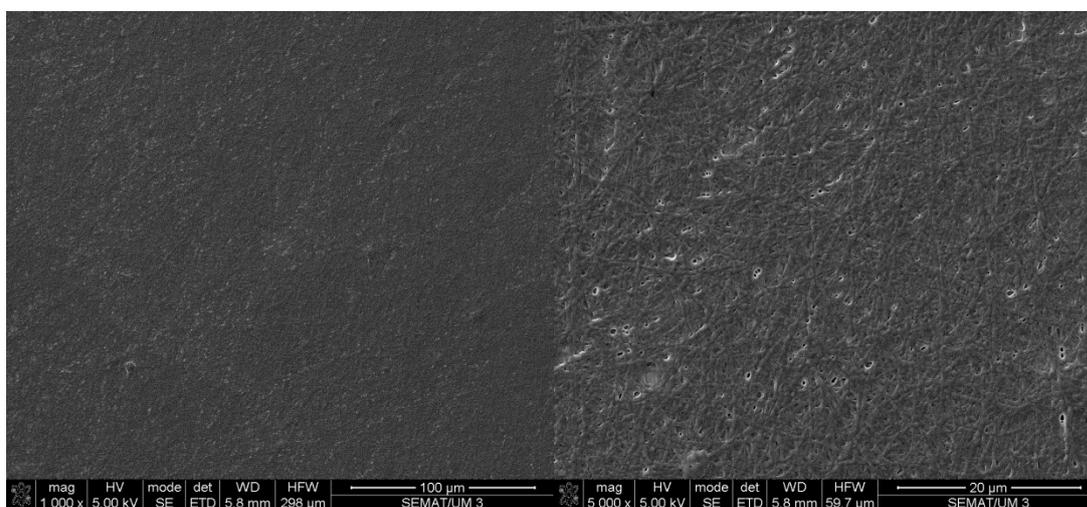
### **3.3.3 Caracterização das fibras de PVP**

A análise do difratograma da figura 65 das fibras de PVP não revelou a presença de picos referentes à l-arginina, podendo este efeito estar relacionado com a morfologia das fibras recolhidas. A estrutura amorfa que se reflete no polímero poderá estar relacionada com o substrato de vidro ou o próprio polímero, dado que a amostra não apresentou a densidade do tapete ideal para a caracterização.



**Figura 65 - Difratograma solução de PVP/L-ag**

A análise por MEV (figura 66) revelou que efetivamente ocorre formação de fibras, no entanto estas nas zonas onde ocorre sobreposição tendem a fundir. Esta fusão contraria o efeito que é pretendido por uma rápida evaporação do solvente e vai alterar a orientação dos cristais assim como o seu total enclausuramento.

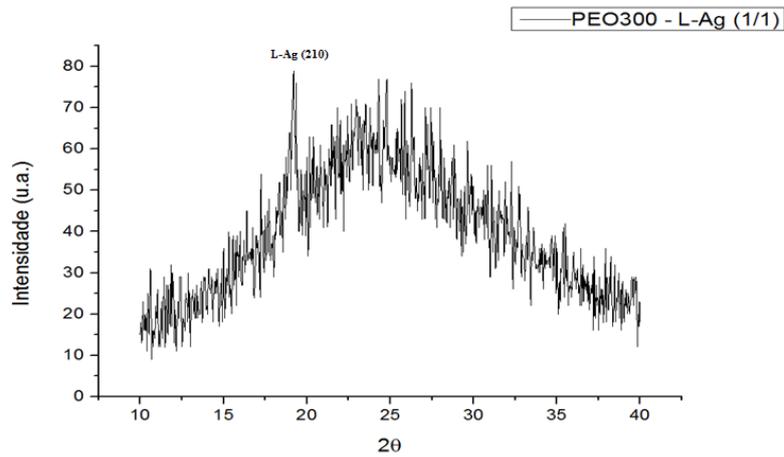


**Figura 66 - Imagens obtidas por MEV para solução de PVP/L-ag, da esquerda para a direita, ampliação de 1000x e 5000x**

### 3.3.4 Caracterização das fibras de PEO

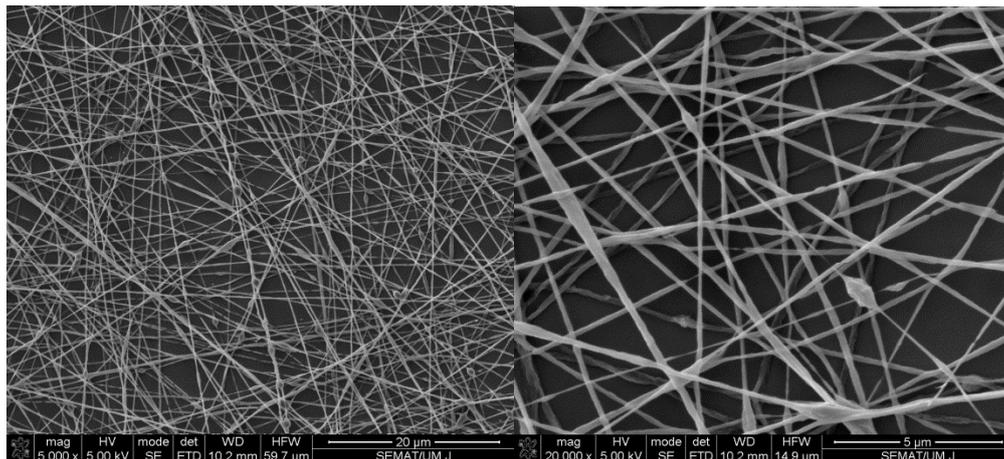
A difração da amostra de L-arginina com PEO de peso molecular  $3 \times 10^5$  (figura 67) já revelou a presença de uma reflexão correspondente ao plano (210), assim como aconteceu com a DL-alanina. O padrão de difração não é claro dado que a espessura novamente não será a ideal. Esta dificuldade pode

no entanto estar relacionada com o maior comprimento da molécula comparativamente com os aminoácidos previamente estudados. Aqui existe ainda a possibilidade da existência de outros picos relevantes, mascarados pelo fundo do difratograma, dada a baixa intensidade da reflexão presente.



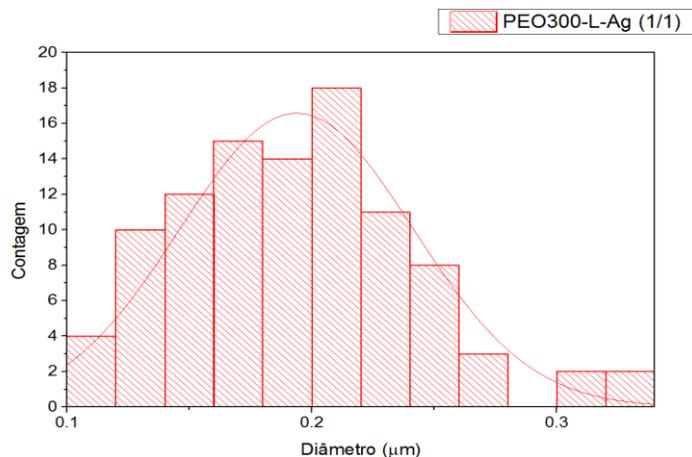
**Figura 67 - Difratograma solução de PEO300/L-ag**

Por meio da análise MEV (figura 68) foi efetivamente possível verificar uma produção de fibras aceitável, mas sem a densidade ideal. As fibras apresentavam-se com diâmetros médios na ordem dos 190nm, no entanto existia uma elevada disparidade nos diâmetros obtidos, revelando que o processo de produção ainda não se apresentava idealmente otimizado. Verificou-se ainda a presença de alguns aglomerados, no entanto as fibras já não apresentavam indícios de terem fundido após produção. Este fenómeno poderá no entanto ser explicado pela menor densidade de fibras presentes na amostra.



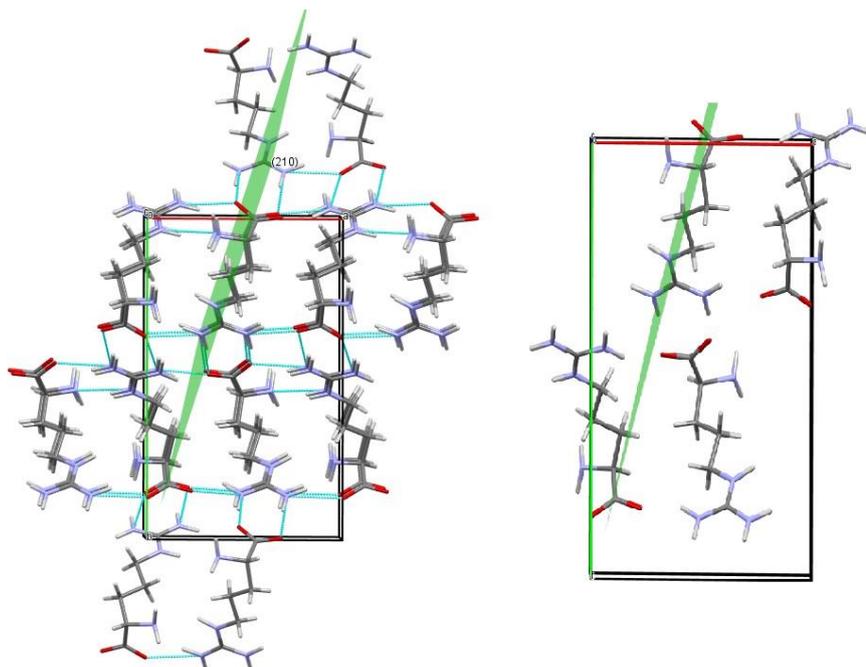
**Figura 68 - Imagens obtidas por MEV para solução de PEO300/L-ag, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 20000x**

Cruzando os fatores verificados aquando da produção com os resultados da microscopia é possível então dizer que o tom mais transparente das soluções será um indicativo positivo para a possível produção de fibras.



**Figura 69 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de PEO300/L-ag**

Como se pode verificar na figura 70 obtida a partir do *software* "Mercury" a orientação das moléculas segundo o plano é em sentido inverso, o que indicia a anulação dos dipolos possivelmente gerados, indicativo de não deverá apresentar uma resposta piezoelétrica. Apesar de apresentar uma molécula de maior dimensão, os cristais tendem a ser mais pequenos, sendo que essa foi uma das dificuldades verificada para a padronização do difratograma tipo como referido na referência [44].



**Figura 70 - Representação do plano obtido no *software* "Mercury" de L-arginina**

### 3.4.1 Preparação das soluções de polímero e sal de Rochelle

A abordagem a este composto foi distinta dos restantes porque seria necessário determinar até que ponto era possível promover a incorporação do composto no polímero. As soluções foram preparadas recorrendo ao PEO devido aos resultados positivos obtidos anteriormente e ao PVP como alternativa, visto que na incorporação de aminoácidos apresentava limitações, no entanto o sal de Rochelle apresenta uma estrutura distinta, pois trata-se de um sal formado por uma componente orgânica e outra inorgânica e a sua conjugação poderá permitir a obtenção de fibras de maior qualidade.

O sal de Rochelle foi dissolvido em água destilada à temperatura ambiente durante trinta minutos de forma a promover a total dissolução. As soluções foram então preparadas com diferentes percentagens do composto como se pode verificar na tabela 16. Nos dois casos, é dissolvido inicialmente o composto e posteriormente o polímero, sendo que ambos apresentam boa solubilidade em água destilada à temperatura ambiente. Depois da total incorporação dos polímeros em solução, a agitação era promovida por mais 3h, de forma a garantir uma total homogeneização. No caso do PEO as soluções foram preparadas com relações de 1/1 e 2/1 entre polímero e sal respetivamente. Para o caso das soluções de PVP a incorporação foi compreendida entre 1/1 e 3/2 aproximadamente e com uma outra solução intermédia de forma a verificar idealmente a melhor relação.

**Tabela 16 - Ordem de produção das soluções de sal de Rochelle**

<b>Solução</b>	<b>Solução</b>	<b>Relação em peso – Rácio entre compostos (pol./aminoácido)</b>
<b>1</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(300) + Rx	10% (2/1)
<b>2</b>	H <sub>2</sub> O + PEO(300) + Rx	10% (1/1)
<b>3</b>	H <sub>2</sub> O + PVP(130) + Rx	20% (1/1)
<b>4</b>	H <sub>2</sub> O + PVP(130) + Rx	20% (100/80)
<b>5</b>	H <sub>2</sub> O + PVP(130) + Rx	20% (100/60)

De realçar que as amostras recolhidas ao contrário dos restantes compostos, foram guardadas num frigorífico abaixo da temperatura ambiente para serem mantidas abaixo da sua temperatura de Curie (18°C) e ser possível o estudo das suas propriedades ferroelétricas.

### 3.4.2 Electrospinning – parâmetros utilizados

A estabilidade obtida na produção das fibras é um reflexo dos parâmetros aplicados, nos quais é possível realçar que no caso das soluções de PEO um aumento da percentagem de polímero induz um aumento da viscosidade sendo necessário um ajuste verificado no campo aplicado e na taxa de alimentação. De forma similar as soluções de PVP revelam que um acerto na alimentação foi igualmente necessário, no entanto a remoção de massa era constante com a aplicação do mesmo campo. Este fator relaciona-se com a menor viscosidade da solução devido ao menor peso molecular do PVP face ao PEO. A tabela 17 demonstra os parâmetros utilizados para a produção de fibras de sal de Rochelle.

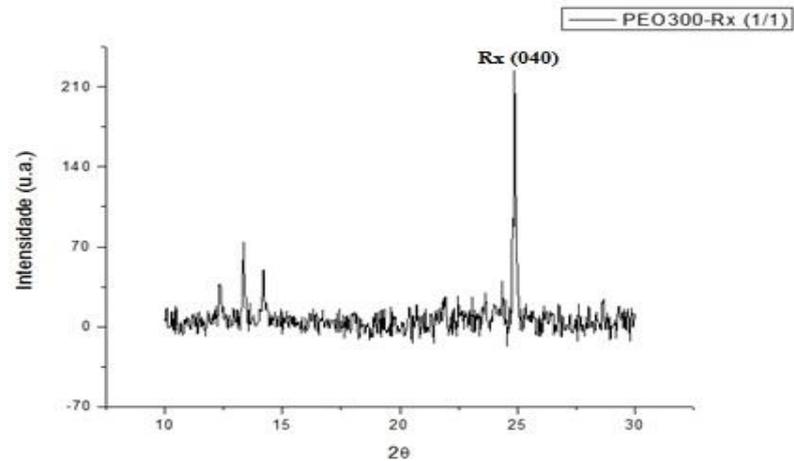
**Tabela 17- Parâmetros experimentais para soluções de sal de Rochelle**

<b>Solução</b>	<b>Campo (kV)</b>	<b>Alimentação (ml/h)</b>	<b>Distância (cm)</b>
<b>1</b>	14	0,10	12
<b>2</b>	12	0,05	12
<b>3</b>	12	0,05	12
<b>4</b>	12	0,08	12
<b>5</b>	12	0,12	12

De notar que a taxa de remoção de massa apresentou-se superior no caso do PEO, apesar da maior viscosidade, o que indicia uma menor evaporação do solvente.

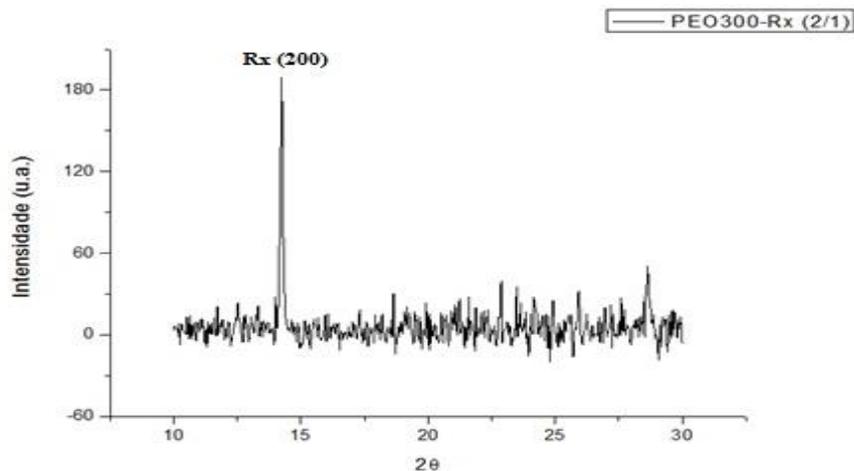
### 3.4.3 Caracterização das fibras de PEO

A análise dos difratogramas das fibras de PEO revelou inconsistência nos resultados, indicativo da fraca qualidade das fibras obtidas. No difratograma da figura 71 para as fibras produzidas a partir da solução com relação 1/1 a orientação obtida é segundo o plano (040) e para a relação 2/1 o plano de maior intensidade é (200) como se verifica na figura 72.



**Figura 71 - Difratograma solução de 1/1 PEO300/Rx**

Mediante os resultados obtidos não é possível constatar a fase presente dado que os picos difratados são de baixa intensidade e estão presentes nos difratogramas padrão para a fase ferroelétrica e não ferroelétrica que se regista à temperatura ambiente, no entanto a fase que se obtém abaixo da temperatura de Curie mais diminuta pode ser descartada. Para este composto o PEO apresenta-se como uma matriz de baixa qualidade sendo necessária a análise com recurso a outro polímero matriz, nomeadamente o PVP.

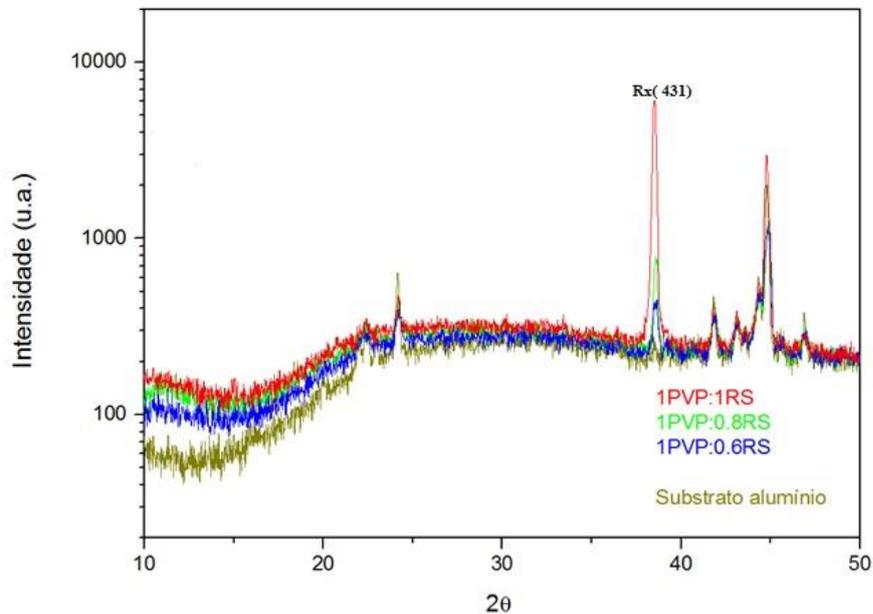


**Figura 72 - Difratograma solução de 2/1 PEO300/Rx**

#### **3.4.4 Caracterização das fibras de PVP**

As fibras obtidas com PVP foram depositadas contrariamente aos polímeros anteriores, num substrato de alumínio para maior facilidade de transporte e manuseamento. A análise do difratograma e

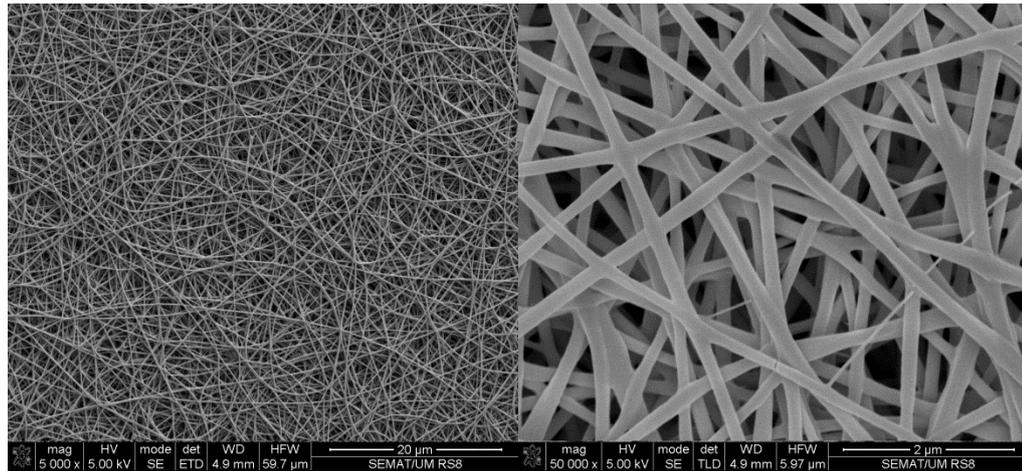
não considerando os picos referentes ao alumínio, concentra a atenção quando  $2\theta$  está compreendido entre  $38$  e  $39^\circ$  respectivamente. Aqui é possível verificar que a intensidade da difração está diretamente relacionada com a percentagem de sal de Rochelle presente em solução, verificando-se uma maior intensidade na difração com o aumento do composto.



**Figura 73 - Difratograma soluções de PVP/Rx**

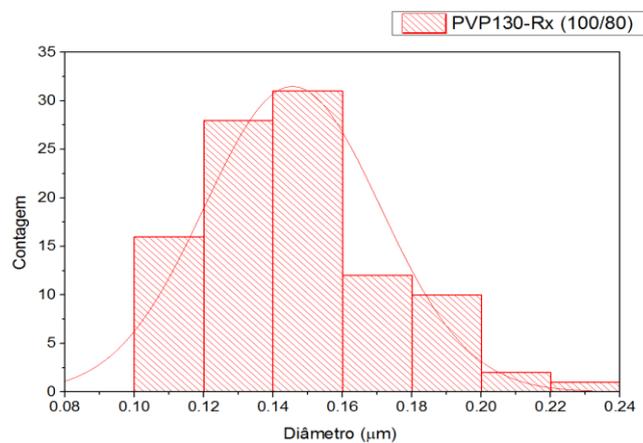
O plano de difração será o (431) e de igual forma, não permite a determinação da fase presente por comparação com o composto policristalino visto que as duas fases, ferroelétrica e não ferroelétrica superior, apresentam a mesma reflexão e a sua intensidade é cerca de três vezes inferior ao verificado no difratograma da figura 73. Este aumento da intensidade deve-se ao arranjo dos cristais no interior da fibra. Está patente então uma orientação preferencial dos cristais ao longo das fibras, sendo indicativo de um processo de electrospinning bem-sucedido.

As imagens obtidas por microscopia eletrónica permitem verificar que não existem cristais no exterior das fibras e o tapete apresenta homogeneidade em toda a sua superfície (figura 74). É possível ainda constatar que as fibras não apresentam porosidade e as zonas de contacto entre elas não apresentam indícios de fusão.



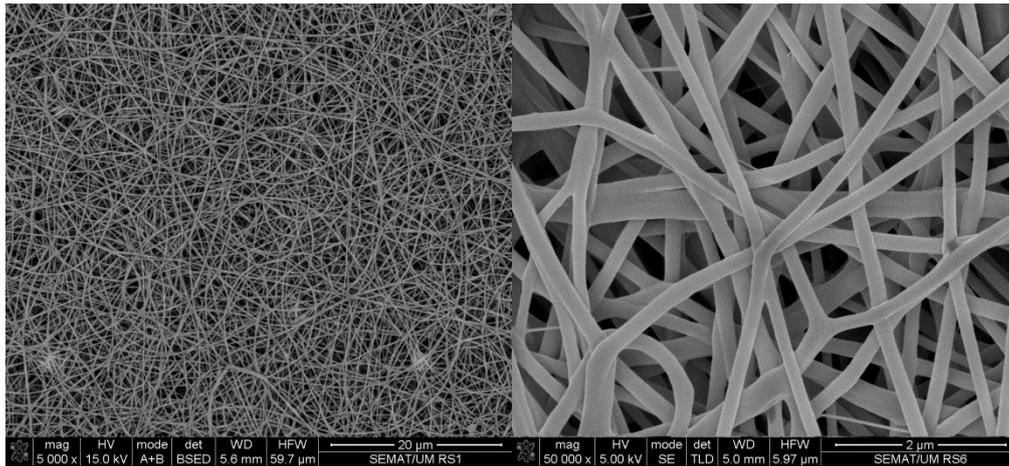
**Figura 74 - Imagens obtidas por MEV para solução de 100/80 PVP/Rx, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 50000x**

Os diâmetros obtidos para a menor taxa de incorporação de sal de Rochelle são em média de 145nm (figura 75) com uma variação máxima mas residual de 100nm que pode estar relacionada com o início do processo de produção.



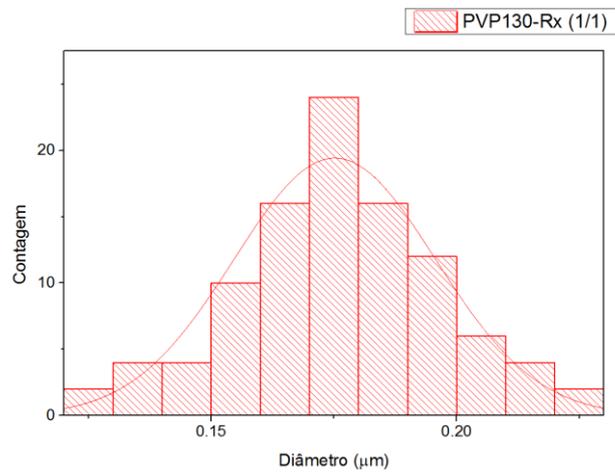
**Figura 75 - Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 100/80 PVP/Rx**

A incorporação de um maior teor de composto em solução revelou um aumento do diâmetro médio das fibras para 175nm e a formação de alguns aglomerados como se pode ver na figura 76. A maior ampliação permite constatar a presença de um cinturão de fibras mas sem aparente fusão entre elas. Este fenómeno é mais comum em fibras com elevada orientação e está relacionado com a sua sobreposição.



**Figura 76 -** Imagens obtidas por MEV para solução de 1/1 PVP/Rx, da esquerda para a direita, ampliação de 5000x e 50000x

O aumento do diâmetro médio das fibras (figura 77) não será tão relevante visto que permite a maior incorporação de cristais no seu interior, incrementando a possível resposta obtida.



**Figura 77 -** Representação da distribuição de diâmetros das fibras de 1/1 PVP/Rx

### 3.5. Resposta piezoelétrica

A verificação da resposta piezoelétrica das fibras produzidas permite aferir se o confinamento dos cristais foi bem-sucedido, assim como determinar a orientação dos cristais no interior das fibras. Mediante a disponibilidade do equipamento em Aveiro, apenas foi possível a caracterização de um composto e como este trabalho incide essencialmente em aminoácidos, a DL-alanina foi selecionada visto que apresenta uma estrutura molecular e cristalina única já que cristaliza num grupo pontual polar com uma orientação dos dipolos entre si e ao longo da fibra, permitindo ainda a sua produção com PVA como matriz. Também um dos objetivos da tese era o de produzir fibras de aminoácidos com carácter piezoelétrico. O tapete obtido com PVA permite um melhor manuseio e apresenta uma menor elasticidade contrariamente ao PEO e PVP. A caracterização incidiu em duas amostras de fibras com base de PVA. As fibras são depositadas diretamente numa superfície de platina introduzida entre a agulha e o coletor. As fibras obtidas apresentam tamanhos superiores ao verificado por MEV devido à diminuição da distância de recolha.

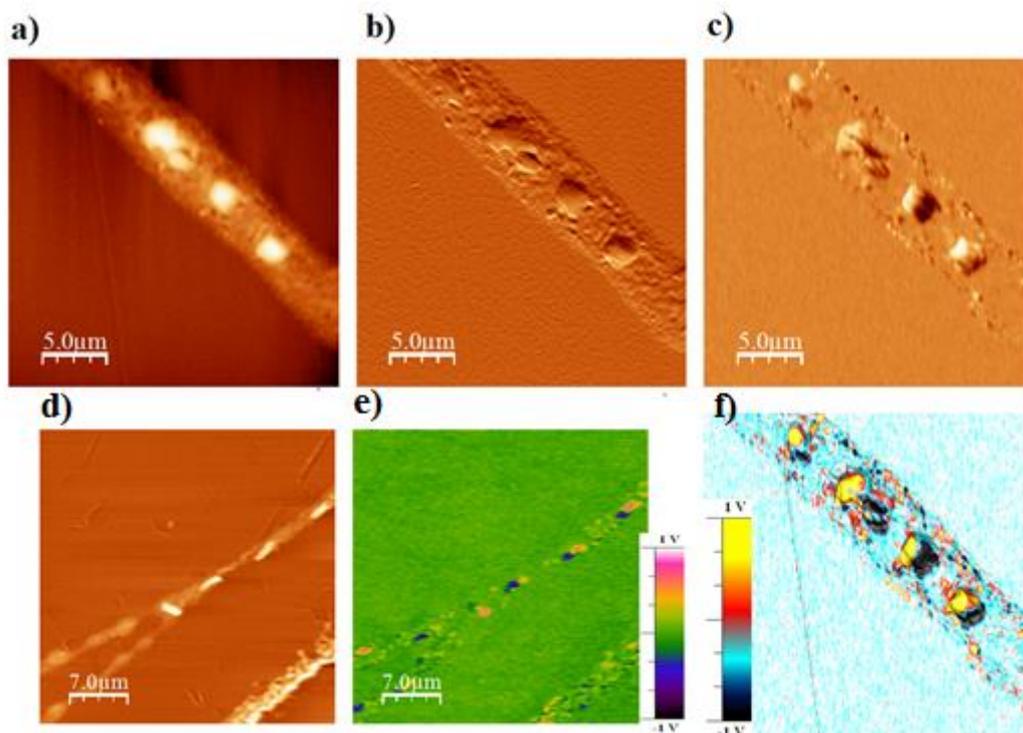
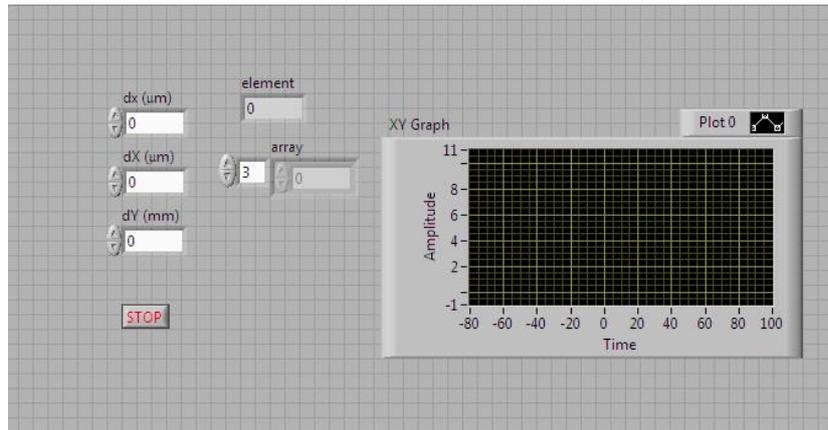


Figura 78 - Topografia das fibras obtida por PFM

A análise topográfica que se verifica na figura 78 secções a), b), c) e d) permitem aferir que os cristais estão efetivamente confinados e orientados no interior da matriz polimérica. É possível ainda verificar que a superfície das fibras apresentam alguma rugosidade e deformação na zona de enclausuramento dos cristais como se pode verificar em b). A aplicação do campo permite então determinar a resposta mecânica dos cristais. As figuras e) e f) revelam a variação mecânica lida quando aplicado o campo elétrico e permitem verificar que o confinamento dos cristais foi na sua forma zwitterónica, assim como a sua distribuição. Efetivamente os cristais apresentam os seus dipolos alinhados entre si e ao longo da fibra, como pretendido. A variante da técnica que permite traçar a curva de histerese foi aplicada de forma a tentar determinar se além de piezoelétrico, a DL-alanina revelava comportamento ferroelétrico, por inversão do campo aplicado, no entanto este comportamento não se verificou, apresentando-se então as fibras de DL-alanina unicamente como compostos piezoelétricos.

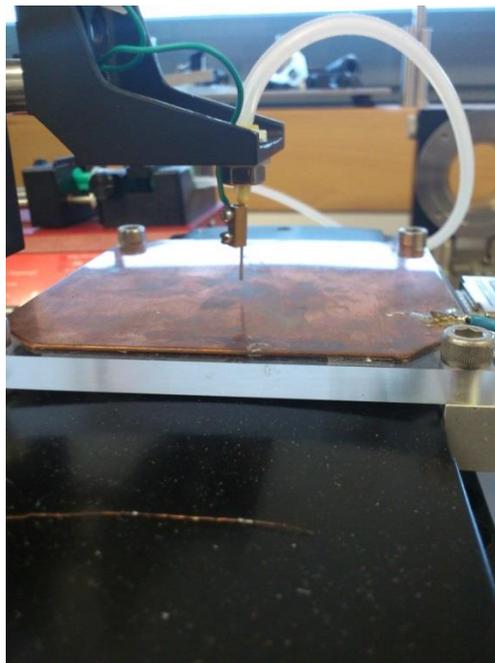
### 3.6 Montagem do equipamento de near-field electrospinning

No decorrer deste trabalho uma das etapas incidia na montagem do equipamento de near-field de forma a produzir fibras perfeitamente alinhadas e como tal, com recurso a um coletor de cobre suportado por uma base animada de movimento a duas dimensões e controlado por uma interface simples preparada no *software* “LabView” como se pode ver na figura 79.



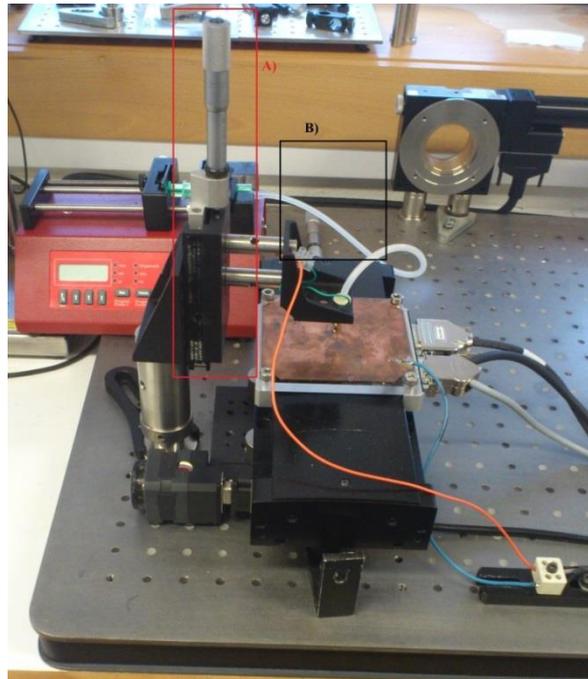
**Figura 79- Interface de controlo da base**

Aqui apenas se pretende controlar o comprimento da fibra no parâmetro  $dY$ , o espaçamento entre fibras em  $dx$  e  $dX$  permite a separação das fibras por secções, sendo  $x$  e  $y$  o sentido de movimento permitidos pela base. A disposição espacial das fibras é essencialmente controlada pelos movimentos da base.



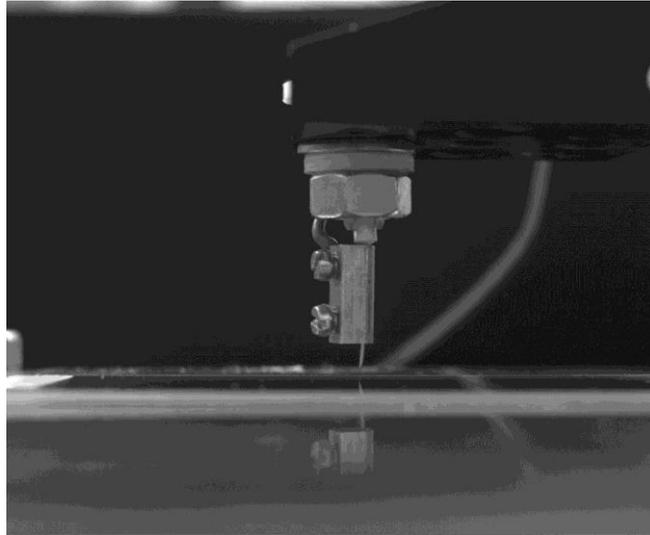
**Figura 80- Suporte condutor aplicado à base**

Aqui apenas a agulha se apresenta polarizada e o coletor em cobre, estando estes componentes isolados do restante equipamento de forma a prevenir curto-circuitos. Os contactos são soldados diretamente na agulha e no coletor e dada a mobilidade da base, é necessário que estes apresentem alguma ductilidade de forma a não partir a solda. O coletor está assente numa base acrílica não condutora de forma a prevenir descargas para a base visto que esta opera a uma voltagem baixa.



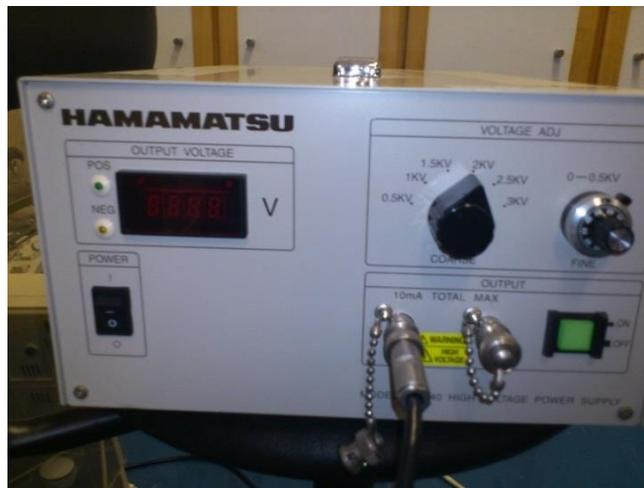
**Figura 81- Montagem experimental do equipamento de near-field electrospinning**

Neste tipo de montagem, a distância entre agulha e coletor é essencial e como tal é necessário um controlo preciso, como se pode ver na figura 81 secção A) o regulador permite aproximações entre agulha e coletor até cerca de 1mm de distância. A secção B) da figura indica o posicionamento da câmara que permite um controlo do processo de forma mais aproximada como se pode ver na figura 82.



**Figura 82 - Imagem captada pela câmara de controlo**

A bomba de alimentação utilizada é uma *WPI AL-1000* e permite promover uma alimentação contante com um mínimo de 0,01ml/h e um máximo de 5ml/h, enquanto a fonte de tensão é uma *Hamatsu C4840-02* que permite aplicar um campo elétrico até 3kV.



**Figura 83 - Fonte de tensão *Hamamatsu***

As variações no processo tal como no electrospinning tradicional estão relacionadas com o campo aplicado, distância entre agulha e coletor, formato da agulha e coletor e a velocidade do coletor. Aqui a velocidade é fixa e é definida pelo suporte, sendo a sua velocidade idêntica para os dois eixos de movimento e na ordem dos 0,05m/s.

As soluções preparadas para verificar o funcionamento da montagem estão apresentadas na tabela 18.

**Tabela 18- Soluções poliméricas produzidas**

<b>Solução</b>	<b>Solução</b>
<b>1</b>	0,4g PLLA + 3ml Clorofórmio
<b>2</b>	0,2g PEO + 1,5ml H <sub>2</sub> O + 0,5ml Etanol
<b>3</b>	0,2g PEO + 2ml H <sub>2</sub> O
<b>4</b>	0,2g PVA + 2ml H <sub>2</sub> O

Os parâmetros aplicados a todas as soluções foram de 0,1-1cm de distância entre agulha e coletor, o campo foi compreendido entre 0,2 – 2,5kV e o sistema de entrega de polímero foi variado entre agulha e um filamento metálico de cobre de diâmetro

A solução 1 foi preparada baseado nos conhecimentos adquiridos aquando do manuseamento do equipamento de electrospinning convencional e considerando que a distância sendo reduzida, seria um impedimento para a total evaporação do solvente, no entanto a solidificação da gota na agulha ou filamento era imediata sem remoção do filamento. A segunda solução, sendo aquosa permite uma menor taxa de evaporação do solvente, comparativamente com o clorofórmio, no entanto a incorporação de etanol em solução promovia a solidificação da solução na forma de gota por evaporação do solvente. Uma lamela de vidro foi colocada entre a agulha e coletor de forma a tentar recolher filamentos e também induzir uma menor ação do campo aplicado, no entanto esta tentativa revelou-se infrutífera e dada a diminuta distância, mesmo com lamelas de reduzida espessura, o solvente não evaporava e não se verificava qualquer tipo de remoção de filamentos. Com esta tentativa foi verificado que esta técnica, permitindo uma elevada orientação das fibras aparenta ter limitações ao nível dos substratos onde é depositada, sendo que a falta de condutividade do vidro ou outro tipo de substrato será um impedimento à deposição de fibras.

As soluções 3 e 4 foram preparadas de forma a contrariar a evaporação do solvente antes de ocorrer a extração do filamento, no entanto, a voltagem máxima aplicada pela fonte de tensão não é suficiente para a remoção do filamento. Uma alternativa poderá incidir na produção de soluções com menor percentagem de polímero, tentando determinar o mínimo possível mas capaz de promover a formação de fibras. Para a produção de fibras com incorporação dos compostos acima citados, este processo não se revelou eficiente.

## CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES

Com o intuito de avaliar potenciais propriedades piezoelétricas dos aminoácidos, foram levados a cabo esforços para a sua incorporação em fibras poliméricas obtidas por simples processo de electrospinning. Foram produzidas nanofibras com recurso aos polímeros PVA, PEO e PVP com incorporação de L-alanina, DL-alanina, L-arginina e sal de Rochelle.

A componente de produção das fibras com incorporação de L-alanina revelou que o PEO induz um processo mais estável, mesmo com campos elétricos mais diminutos contrariamente ao PVA, o qual apresentava uma viscosidade inferior e a necessidade de recorrer a campos elevados para conseguir a obtenção das fibras em questão.

Na célula unitária da L-Alanina, o plano (012) contem moléculas perpendiculares ao plano e assim os momentos dipolares estão perpendiculares ao plano das fibras. Este comportamento, foi observado nas nanofibras de Glicina e PVA e deu origem a um coeficiente piezoelétrico elevado, no entanto, no caso da L-alanina, este não será expectável visto que os dipolos segundo o plano obtido tendem a anular-se.

Dos difratogramas obtidos por DRX conclui-se que a L-alanina cristaliza no interior das fibras poliméricas com uma elevada orientação preferencial, estando o plano cristalográfico (012) no plano das fibras. Esta orientação preferencial é independente do polímero utilizado e poder-se-á assim concluir que tem como principal contribuinte a técnica de electrospinning utilizada.

A partir da análise MEV constatou-se que a solução com maior percentagem em peso de L-alanina não permitia uma incorporação total, devido à presença de cristais no exterior das fibras. Por comparação com as fibras de glicina foi possível então verificar que o PVA não era o polímero mais adequado para a incorporação. Foi ainda possível concluir que a morfologia das fibras de L-alanina com PEO são superiores às de L-alanina com PVA pois que são muito mais finas (310nm) e não se verifica coalescência de fibras. Isto significa que as fibras com PEO deverão solidificar enquanto o processo decorre e quando se depositam no eléctrodo coletor a L-alanina já cristalizou também no interior do polímero. As fibras de L-alanina com PEO na razão de 4:3 são de facto aquelas que correspondem às expectativas.

O aminoácido DL-alanina revela uma boa compatibilidade com os polímeros em estudo excetuando o PVP. Foi verificada uma cristalização no interior das fibras segundo o plano (210) e como tal uma orientação cabeça-cauda das moléculas. Nos difratogramas obtidos é possível verificar a consistência de resultados independentemente do polímero,

A análise MEV revelou que o polímero afeta o diâmetro das fibras obtidas, sendo que no PEO estas apresentam diâmetros médios de 200nm e com PVA de 590nm. A caracterização da amostra obtida com

PVP permitiu verificar que mediante uma atmosfera com menor teor de humidade ou temperatura mais elevada a produção também será possível, sendo esperados diâmetros possivelmente inferiores aos obtidos com PEO.

A compatibilidade da DL-alanina com o processo de electrospinning é superior à L-alanina, permitindo inclusivamente a produção de amostras com PVA como formador, obtendo-se assim tapetes de maior espessura, fruto do maior diâmetro das fibras mas com menor estabilidade no decorrer do processo.

A incorporação do etanol em solução permite na produção de fibras poliméricas uma melhor evaporação do solvente, induzindo um processo mais estável, no entanto a sua utilização em soluções já com dissolução do aminoácido induz a imediata cristalização e uma alteração na tonalidade da solução de transparente para opaca. A presença de cristais em solução impede a processabilidade da solução, impedindo a formação de cone de Taylor na gota.

A L-arginina revelou-se mais complexa para processar e apenas foi possível a sua produção com PEO, revelando orientação segundo o plano (210) assim como a DL-alanina. A orientação segundo este plano não é tão clara como no composto anterior e apesar da difração corresponder ao mesmo plano difratado nas fibras de DL-alanina, não será expectável uma resposta piezoelétrica.

A análise microscópica revelou que de igual forma aos seus similares anteriormente estudados, a incorporação em PEO permite a melhor produção de fibras e o conseqüente enclausuramento dos cristais ao longo das fibras, sem evidências da sua presença na superfície das fibras. Os diâmetros médios obtidos vão de encontro aos restantes obtidos para os diferentes compostos aquando da utilização da matriz de PEO e são na ordem dos 200nm.

A produção de fibras com o sal de Rochelle revelou uma elevada afinidade com o PVP, permitindo obter um processo estável, com relações até 1:1 e o PEO não se apresentou como um bom formador de fibras.

A análise do difratograma das fibras de PVP revelou que quanto maior a percentagem de composto em solução, mais intenso fica o pico de difração. Aqui ocorreu de igual forma orientação segundo o plano (431) apesar da elevada cristalinidade apresentada verificada nos difratogramas padrão. A identificação da fase presente foi inconclusiva visto que dada a orientação, a intensidade dos picos pode estar mascarada pela matriz polimérica.

A análise microscópica revelou que um aumento da percentagem de composto em solução induz um aumento do diâmetro médio das fibras, não se verificando cristalização no seu exterior, indicativo da total incorporação de composto ser o fator que promove o aumento do diâmetro.

A produção de fibras por electrospinning com recurso a soluções aquosas revelou uma elevada dependência dos parâmetros ambientais, nomeadamente, a temperatura e a humidade.

A caracterização por PFM permitiu verificar a orientação dos cristais ao longo da fibra. A orientação dos dipolos e a sua preservação em estado sólido é conseguida por meio da técnica de electrospinning e permitiu efetivamente aferir que na sua forma zwitterónica a DL-alanina apresenta carácter piezoelétrico, assim como colocar de parte um potencial carácter ferroelétrico.

A participação na montagem do equipamento de near-field electrospinning permitiu adquirir um conhecimento mais aprofundado sobre a técnica e as dificuldades inerentes, sendo que a sua otimização é mais complexa que o processo convencional devido à menor distância e a dificuldade em controlar a evaporação do solvente.

#### **4.1 Trabalhos futuros**

Como proposta de trabalho futuro, será de particular interesse tentar determinar se as restantes fibras produzidas apresentam carácter piezoelétrico, o que vai ainda permitir aferir a fase do sal de Rochelle presente.

Como complemento ao trabalho realizado e resultados obtidos será também relevante a verificação da existência de componente piroelétrica ao longo das fibras. Esta poderá ainda ser medida de forma perpendicular ao tapete, mas é expectável que o sinal seja mais significativo segundo o comprimento das fibras, mediante uma recolha que promova previamente a sua orientação.

A produção de fibras com ácido L-glutâmico pode ser também objeto de estudo, visto que é um aminoácido com características similares aos abordados no decorrer deste trabalho.

## Bibliografia

- [1] Nandana Bhardwaj, Subhas C. Kundu ; “*Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique*” ; *Biotechnology Advances*; vol. 28(3) , p. 325-347, 2010;
- [2] Formhals, A. - “*Production of Artificial Fibres from Fiber forming Liquids*”. EUA: 1943;
- [3] Formhals, A.; Schreiber-Gastell, R. - “*Artificial Thread and Method of Producing Same*”. EUA: 1940.
- [4] HE, J.H. - “*Electrospun nanofibers and their applications*”. Shawbury Shrewsbury Shropshire, Reino Unido: Smithers Rapra Update, 2008.
- [5] Luís Manuel Barroso Oliveira – “*Automatização e controlo de um sistema de electrospinning*”; Tese de Mestrado; 2011;
- [6] Mituppatham, C.; Nithitanakul, M.; Supakol, P. - “*Ultrafine Electrospun Polyamide-6 Fibers. Effect Of Solution Conditions On Morphology And Average Fiber Diameter*”. *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol 205(17), p. 2327-2338, 2004.
- [7] Prasanth Raghavan, Du-Hyun Lima, Jou-Hyeon Ahna,, Changwoon Nahb, David C. Sherrington, Ho-Suk Ryud, Hyo-Jun Ahnd – “*Electrospun polymer nanofibers: The booming cutting edge technology*”; *Reactive and Funcional Polymers*, vol. 72(12), p. 915-930; 2012;
- [8] Y. M. Shin, M.M. Honman, M.P. Brenner, G.C. Rutledge – “*Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities*”; Elsevier; vol. 42(25), p. 9955-9967, 2001;
- [9] K.H. Lee, H.Y. Kim, H.J. Bang, Y.H. Jung, S.G. Lee – “*The change of bead morphology formed on electrospun polystyrene fibers*”; *Polymer*, vol. 44(14) , p.4029-4034; 2003.
- [10] X.H. Zong, K. Kim, D.F. Fang, S.F. Ran, B.S. Hsiao, B. Chu – “*Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes*”; *Polymer*; vol. 43(16), p. 4403-4412, 2002;
- [11] W.K. Son, J.H. Youk, T.S. Lee, W.H. Park – “*Electrospinning of cyclodextrin functionalized polyethylene oxide (PEO) nanofibers*”; *Polymer* vol.45, p.1032-1037,2009:
- [12] Xuri Yan, Michael Gevelber – “*Investigation of electrospun fiber diameter distribution and process variations*”; *Journal of Electrostatics*; vol. 68(5), p. 458-464, 2010;
- [13] C. G. Malmberg, A. A. Maryott – “*Dielectric Constant of Water from 0° to 100° C*”, *Journal of Research of the National Bureau of Standards*; 1956;

[14] Uyar, T., and Besenbacher, F. – “*Electrospinning of uniform polystyrene fibers: The effect of solvent conductivity*”; Polymer, vol. 49(24), 5336-5343; 2008;

[15] Chandrasekar R., Zhang L., Howe J., Hedin N., Zhang Y., and Fong H. – “*Fabrication and characterization of electrospun titania nanofibers*”; Journal of Materials Science, vol. 44, p. 1198-1205; 2009;

[16] Tiago António Martins Valente – “*Produção de nanofibras de poli(ε-caprolactona) por electrospinning para futura aplicação na regeneração óssea e outras aplicações biomédicas*”; Tese de Mestrado; Universidade de Aveiro; 2011;

[17] Jacobs V., Anandjiwala R. D., Maaza M. - “*The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers*”, Journal of Applied Polymer Science, vol. 115, p. 3130-3136; 2010;

[18] Ribeiro C., Sencadas V., Ribelles J. L. G. e Lanceros-Méndez S. – “*Influence of Processing Conditions on Polymorphism and Nanofiber Morphology of Electroactive Poly (vinylidene fluoride) Electrospun Membranes*”; Soft Materials, vol. 8, p. 274-287; 2010;

[19] Sill T. J., e von Recum H. A. - “*Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering*”, Biomaterials, vol.29, p. 1989-2006; 2008;

[20] Liu Y., Dong L., Fan, J. Wang, R., e Yu J.-Y. –“*Effect of applied voltage on diameter and morphology of ultrafine fibers in bubble electrospinning*”; Journal of Applied Polymer Science, vol. 120, p. 592-598; 2010;

[21] Chen Z. G., Wei B., Mo X. M., e Cui F. Z. – “*Diameter control of electrospun chitosan collagen fibers*”; Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, vol.47, p. 1949-1955; 2009;

[22] Chen H.-M., and Yu, D.-G. – “*An elevated temperature electrospinning process for preparing acyclovir-loaded PAN ultrafine fibers*”; Journal of Materials Processing Technology vol. 210, p. 1551-1555; 2010;

[23] De Vrieze S., Van Camp T., Nelvig A., Hagström B., Westbroe, P. e De Clerck, K. – “*The effect of temperature and humidity on electrospinning*”, Journal of Materials Science, vol. 44, p. 1357-1362; 2009;

[24] Ramakrishna S. – “*An introduction to electrospinning and nanofibers*”; World Scientific Pub; vol. 1, 2005;

[25] Varesano A., Montarsolo A. e Tonin C. –“*Crimped polymer nanofibres by air-driven electrospinning*”; European Polymer Journal vol. 43, p. 2792-2798; 2007;

[26] Beth A. Miller-Chou, Jack L. Koenig – “*A review of polymer dissolution*”; Progress in Polymer Science; vol 28(8), p. 1223-1270, 2002;

[27] Gobind S. Bisht, Giulia Canton, Alireza Mirsepassi, Lawrence Kulinsky, Seajin Oh, Derek Dunn-Rankin, e Marc J. Madou – “*Controlled Continuous Patterning of Polymeric Nanofibers on Three-Dimensional Substrates Using Low-Voltage Near-Field Electrospinning*”; Nanoletters; vol. 11(4), p. 1831-1837, 2001;

[28] Thirumalpathy Padmanabhan, Vivekanand Kamaraj, Leroy Magwood Jr., Binil Starly; “*Experimental investigation on the operating variables of a near-field electrospinning process via response surface methodology*”; Journal of Manufacturing Processes; vol. 13(2), p.104-112, 2011;

[29] Daoheng Sun, Chieh Chang, Sha Li, e Liwei Lin; “*Near-Field Electrospinning*”; Nano Letters; vol. 6(4), p. 839-842, 2006;

[30] Bin Ding, Hak-Yong Kim, Se-Chul Lee, Chang-Lu Shao, Douk-Rae Lee, Soo-Jin Park, Gyu-Beom Kwag, Kyung-Ju Choi; “*Preparation and Characterization of a Nanoscale Poly(vinyl alcohol) Fiber Aggregate Produced by an Electrospinning Method*”; Polymer Physics; vol. 40(13). P. 1261-1268, 2002;

[31] Encyclopedia Britannica; (Data de acesso: 18/06/2013); Disponível online em: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/469236/polyvinyl-alcohol-PVA>

[32] PEO; (Data de acesso:17/06/2013); Disponível online em: <http://www4.ncsu.edu/~hubbe/PEO.html>

[33] Características PEO: (Data de acesso: 17/06/2013): Disponível online em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/181986?lang=pt&region=PT>

[34] Yves Gnanou, Michel Fontanille – “*Organic and physical chemistry of polymers*”; Wiley-Interscience; 2008;

[35] V.V. Lemanov –“*Piezoelectric and pyroelectric properties of protein amino acids as basic materials of Soft State Physics*” ; Ferroelectrics; vol. 238, p. 211-218, 2011;

[36] V.V. Lemanov – “*Ferroelectric and Piezoelectric Properties of Protein Amino Acids and Their Compounds*”; Physics of the Solid State; vol. 54(9), p. 1727-1728, 2012;

[37] Amino acid structure : (Data de acesso : 21/05/2013) ; Disponível online em: <http://what-when-how.com/protein-structure/amino-acids-protein-structure/>

[38] J. J. Segura, A. Verdaguer, M. Cobian, E. R. Hernandez e J. Fraxedas ; “*Amphiphilic Organic Crystals*”; JACS articles; 2009;

[39] Idan Hod, Yitzhak Mastai e Dana D. Medina; “*Effect of solvents on the growth morphology of DL-alanine crystals*”; CrystEngComm; vol. 13, p. 502-509, 2011;

[40] B. Fugiel, S.Komraus e T.Kikuta; “*Influence of dielectric potential on hysteresis loop parameters and electric permittivity in the Rochelle salt*”; Physica B: Condensed Matter, vol 407(19), p. 3956-3959; 2012

[41] J.A. Gonzalo, B.Jiménez – “*Ferroelectricity: The fundamentals collection*”; Wiley-Interscience; 2005;

[42] Ferroelectric materials; (Data de acesso : 24/03/2013) ; Disponível online em: [www.staff.ncl.ac.uk/j.p.goss/.../Ferroelectrics.ppt](http://www.staff.ncl.ac.uk/j.p.goss/.../Ferroelectrics.ppt)

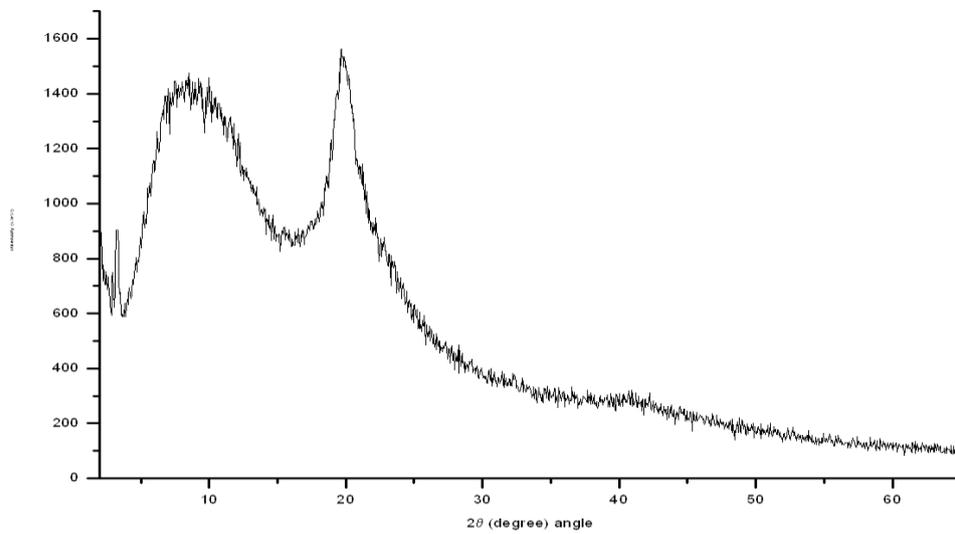
[43] Dmitry Isakov, Etelvina de Matos Gomes, Igor Bdikin, Bernardo Almeida, Michael Belsley, Margarida Costa, Vitor Rodrigues e Alejandro Heredia ; “*Production of Polar  $\beta$ -Glycine Nanofibers with Enhanced Nonlinear Optical and Piezoelectric Properties*”; Crystal Growth and Design, vol. 11(10), p. 4288-4291 ; 2012

[44] Emilie Courvoisier, P. Andrew Williams, Gin Keat Lim, Colan E. Hughes e Kenneth D. M. Harris ; “*The crystal structure of L-arginine*”; ChemComm; vol. (48(22), p. 2761- 2763, 2012;

[45] Elisabeth Soergel; “*Piezoresponse force microscopy*”; Journal of Physics D: Applied Physics; vol. 44, p. 3722-3727, 2011.

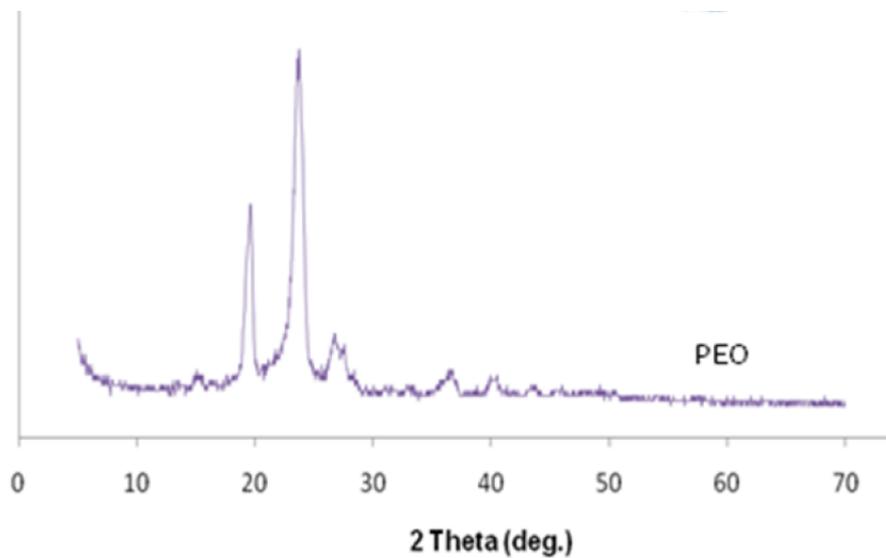
## ANEXOS

### Anexo 1 – Difratoograma de um filme de PVA puro:



- Apresenta uma reflexão em torno de  $2\theta = 20^\circ$

### Anexo 2- Difratoograma de um filme de PEO puro:



- Aqui identificam-se duas reflexões mais intensas quando  $2\theta = 19^\circ$  e  $23^\circ$

Os difratogramas foram utilizados na determinação das reflexões de Bragg observadas nas análises de DRX.