

Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Joana Margarida Ramos Ferreira

**Filmes de Poli(álcool vinílico) e grafeno para
aplicações biomédicas**

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Engenharia de Materiais

Trabalho efetuado sob a orientação do/da/de

Professora Doutora Maria da Conceição de Jesus Rego
Paiva

Professora Doutora Natália Maria de Araújo Alves

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada. Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição

CC BY

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho acadêmico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação simboliza a conclusão de uma etapa de 5 anos onde para além de ter ganho mais conhecimento, ganhei amizades que irei levar no coração assim como momentos e recordações que ficarão comigo para a vida.

Assim sendo, não posso deixar de agradecer a todos que me acompanharam até aqui.

Em primeiro lugar, às minhas orientadoras, professoras Conceição Paiva e Natália Alves, por toda a orientação, paciência e por me terem ajudado a crescer como mestre em Engenharia de Materiais. Obrigada pelo conhecimento transmitido.

Em segundo lugar, ao Engenheiro Maurício e ao professor Paulo Lopes por toda a ajuda com os ensaios, por me ajudarem a ser mais autónoma e a confiar nos meus resultados.

Fica também o agradecimento a todos os colegas com quem convivi no laboratório que foi indispensável não só para o bom humor vivenciado, mas também para que nunca me sentisse desamparada quando apareciam dúvidas.

Quero ainda deixar um especial agradecimento às minhas amigas Andreia Resende e Joana Araújo que tiveram uma enorme paciência para me ouvir falar um ano inteiro sobre esta dissertação que me fazia feliz, dava algumas dores de cabeça e do qual, por vezes, não faziam ideia do que se tratava, mas estavam sempre lá para apoiar.

Por último, quero deixar também um grande e especial agradecimento aos meus tios que me incentivaram desde o início e que muito ouviram falar sobre esta dissertação. Obrigada por me terem dado a oportunidade de ter feito este curso e de me terem amparado o caminho, mesmo quando parecia longo e difícil.

A TODOS UM OBRIGADA ENORME DO FUNDO DO CORAÇÃO!

RESUMO

Em engenharia um dos maiores desafios é compreender como é que os materiais podem ser aplicados no corpo humano de forma a imitá-lo ou estimulá-lo e auxiliar na recuperação do seu normal funcionamento. O poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero utilizado numa vasta gama de aplicações, incluindo aplicações biomédicas, devido às suas propriedades físicas, químicas e mecânicas. No entanto, a higroscopicidade do PVA e a sua solubilidade em meio aquoso têm limitado as suas aplicações biomédicas. Assim, o principal objetivo deste trabalho consistiu em desenvolver estratégias adequadas para diminuir a sua solubilidade em água. Neste trabalho foram investigadas duas metodologias com o intuito de aumentar a estabilidade de filmes de PVA em meio aquoso: a reticulação molecular e o aumento de cristalinidade. Assim, tentou-se reticular o PVA recorrendo ao agente reticulante de origem natural Genipin. Por outro lado, recorreu-se a diferentes tratamentos térmicos, designadamente recozimentos e ciclos de congelamento-descongelamento, para aumentar o grau de cristalinidade do PVA.

A aplicação de cargas em polímeros, com por exemplo o grafeno, tem atraído a atenção de investigadores que procuram a produção de materiais compósitos com propriedades superiores, sobretudo mecânicas, elétricas e térmicas. Como existem alguns estudos que mostram que o grafeno também pode melhorar a resposta celular quando é utilizado como reforço em compósitos para aplicações biomédicas, foram produzidos filmes compósitos de PVA com diferentes percentagens de grafeno. Posteriormente, foi analisado o efeito das diferentes metodologias de estabilização nos filmes de PVA e nos compósitos, ambos produzidos por evaporação por solvente.

Os filmes de PVA e de PVA com grafeno sujeitos aos diferentes métodos de estabilização foram posteriormente analisados por termogravimetria (TGA), calorimetria diferencial de varrimento (DSC), análise mecânica dinâmica (DMA), espectroscopia de Raman, espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier (FTIR-ATR), microscopia eletrónica de varrimento (SEM) e ensaios de solubilidade.

Neste trabalho verificou-se um aumento da cristalinidade e conseqüentemente um aumento da estabilidade em meio aquoso das amostras estabilizadas por recozimento. Verificou-se ainda uma melhoria das propriedades das amostras onde se incorporou até 1 % de grafeno.

Com estes resultados foi possível concluir que tanto o polímero como os compósitos sujeitos a recozimento apresentavam características adequadas a possíveis aplicações biomédicas como *scaffolds*.

Palavras-Chave: Poli(álcool vinílico); estabilização; Grafeno; Genipin; recozimento, congelamento-descongelamento

ABSTRACT

In engineering, one of the biggest challenges is to understand how materials can be applied to the human body in order to imitate or stimulate it and to assist in the recovery of its normal functioning.

Polyvinyl alcohol (PVA) is a polymer used in a wide range of applications, including biomedical applications, due to its physical, chemical and mechanical properties.

However, PVA's hygroscopicity and aqueous solubility have limited its biomedical applications. Thus, the main objective of this work was to develop suitable strategies to decrease its water solubility. In this work, two methodologies were investigated in order to increase the stability of PVA films in aqueous media: molecular crosslinking and crystallinity enhancement. Thus, it was attempted to crosslink PVA using the natural crosslinking agent Genipin. On the other hand, different thermal treatments were used, namely annealing and freeze-thaw cycles, to increase the crystallinity degree of PVA.

The application of fillers in polymers, such as graphene, has attracted the attention of researchers looking for the production of composite materials with better properties, especially mechanical, electrical and thermal. As there are some studies showing that graphene can also improve cell response when used as reinforcement in composites for biomedical applications, PVA composite films with different percentages of graphene were produced. Subsequently, the effect of different stabilization methodologies on PVA films and composites, both produced by solvent evaporation, was analyzed.

The PVA films and PVA films with graphene subjected to the different stabilization methods were further analyzed by thermogravimetry (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), dynamic mechanical analysis (DMA), Raman spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR), scanning electron microscopy (SEM) and solubility tests.

In this work, there was an increase in crystallinity and therefore an increase in the aqueous stability of the samples stabilized by annealing. There was also an improvement in the properties of the samples containing up to 1% graphene. With these results it was possible to conclude that both the polymer and the composites that were annealed presented suitable characteristics for possible biomedical applications as scaffolds.

KEYWORDS: Polyvinyl alcohol; stabilization; Graphene; Genipin; annealing; freeze-thawing

ÍNDICE

Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract.....	vii
Índice de Figuras.....	xiii
Índice de Tabelas.....	xvii
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos	xix
Capítulo 1- Introdução.....	1
1. Introdução.....	2
1.1 Motivação	2
1.2 Objetivos e Planeamento	3
1.3 Organização da Dissertação.....	4
Capítulo 2- Estado da Arte	5
2.1 Grafite.....	6
2.2 Grafeno.....	7
2.2.1 Funcionalização do grafeno	9
2.2.2 Biocompatibilidade in vitro/ in vivo do grafeno	9
2.3 Poli(álcool vinílico).....	10
2.4 Filmes de PVA e PVA/Grafeno	11
2.4.1 Biodegradação dos filmes de PVA.....	15
2.5 Estratégias para melhorar a estabilidade do Poli(álcool vinílico) em meio aquoso .	16
2.5.1 Reticulação com Genipin	18
2.5.2 Recozimento	19
2.5.3 Congelamento-descongelamento.....	20
2.6 Aplicações biomédicas de materiais baseados em PVA.....	21
2.6.1 Engenharia de tecidos	21
2.6.2 Aplicações biomédicas do PVA e PVA/Grafeno	23
Capítulo 3 – Materiais e Métodos.....	27
3. Materiais e Métodos	28

3.1	Materiais	28
3.2	Métodos.....	28
3.2.1	Produção dos filmes de PVA e PVA/grafeno por evaporação por solvente.....	28
3.2.2	Produção de filmes de PVA reticulados com Genipin.....	31
3.2.3	Termogravimetria.....	31
3.2.4	Recozimento	32
3.2.5	Congelamento-Descongelamento	34
3.2.6	Ensaio de Perda de Massa.....	35
3.2.7	Calorimetria diferencial de varrimento.....	35
3.2.8	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier – ATR	37
3.2.9	Análise mecânica dinâmica.....	38
3.2.10	Espectroscopia de Raman	39
Capítulo 4 – Resultados e Discussão		41
4.1	Produção de filmes.....	42
4.1.1	Produção de filmes reticulados com Genipin.....	42
4.1.2	Produção de filmes sujeitos a tratamentos térmicos de recozimento e congelamento-descongelamento	44
4.2	Termogravimetria.....	46
4.3	Ensaio de perda de massa	49
4.4	Calorimetria diferencial de varrimento	54
4.4.1	Incorporação de grafeno	55
4.4.2	Recozimento	57
4.4.3	Congelamento-Descongelamento	72
4.5	Espectroscopia de Infravermelhos por Transformada de Fourier – ATR.....	83
4.6	Análise mecânica dinâmica.....	84
4.7	Espectroscopia de Raman	89
Capítulo 5 – Conclusão e Trabalhos Futuros.....		95
5.	Conclusão e trabalhos futuros	96
5.1	Conclusão.....	96
5.2	Trabalhos Futuros.....	97

Bibliografia	99
Anexo I – DMA.....	106
Anexo II- Termogravimetria-TGA	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Empilhamento basal de planos a) hexagonal e b) romboédrica das camadas da grafite [8].	6
Figura 2- Vários métodos de produção de grafeno adaptado de [9].	8
Figura 3- Reação de polimerização do PVA [1].	10
Figura 4 - Esquema representativo da técnica de evaporação por solvente, adaptado de [27].	12
Figura 5- a) via de degradação do PVA com SAO e BDH como mediadoras [46]. b) via de degradação do PVA com PVA Oxidase e BDH como mediadoras [46].	16
Figura 6- Estrutura molecular do Genipin [54].	18
Figura 7- Representação do mecanismo de reticulação do PVA com Genipin proposto por Alhoseini e co-autores, adaptado de [50].	19
Figura 8 - Componentes e fundamentos da engenharia de tecidos, adaptado de [64].	21
Figura 9 – Propriedades mecânicas de nanocompósitos de PVA/Grafeno com varias percentagens de cargas [76].	24
Figura 10 - Preparação da solução de PVA	29
<i>Figura 11 – Solução de PVA com grafeno a ser misturada na sonda ultra turrax.</i>	29
Figura 12- Filmes de PVA (a) e PVA/Grafeno 0.5% (b), 1% (c), 3% (d) e 5% (e) produzidos por evaporação por solvente.	30
Figura 13- Equipamento de TGA (Q500 (TA Instruments, USA)).	32
Figura 14 - Amostras retiradas dos filmes de PVA (a) e PVA/Grafeno 0.5% (b), 1% (c), 3% (d) e 5% (e) produzidos por evaporação por solvente.	34
Figura 15 - Equipamento de DSC (DSC 200 F3 Maia (Netzsch)).	37
Figura 16- Equipamento de FTIR-ATR (JASCO FT/IR 4100).	38
Figura 17- Equipamento de DMA (Triton).	39
Figura 18-Equipamento de Raman (LabRAM HR Evolution Raman Spectrometer).	40
Figura 19 – Representação macroscópica do (a) filme de PVA não reticulado e (b) reticulado com Genipin.	42
Figura 20- (a) amostra 1, (b) amostra 2, (c) amostra 3 e (d) amostra 4 quando colocadas em água.	43

Figura 21 - Amostras de PVA (a) e PVA/Grafeno 0.5% (b), 1% (c), 3% (d) e 5% (e) após recozimento.	45
Figura 22 - TGA das amostras controlo de PVA, PVA + 0.5% de G, PVA + 1% de G, PVA + 3% de G e PVA + 5% de G.	46
Figura 23- DTGA das amostras controlo de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.	47
Figura 24 - TGA das amostras de PVA_Ccontrolo, PVA_160°C, 6h e PVA_4 ciclos.	49
Figura 25 - DSC das amostras controlo de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.	55
Figura 26 - a) Temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno, para as amostras de controlo.	56
Figura 27- DSC das amostras de PVA sujeitas a recozimento.	58
Figura 28- DSC das amostras de PVA + 0.5% G sujeitas a recozimento.	59
Figura 29- DSC das amostras de PVA + 1% G sujeitas a recozimento.	60
Figura 30- DSC das amostras de PVA + 3% G sujeitas a recozimento.	61
Figura 31- DSC das amostras de PVA + 5% G sujeitas a recozimento.	62
Figura 32 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 145°C, 6h.	63
Figura 33- a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 150°C, 6h.	64
Figura 34 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 155°C, 6h.	65
Figura 35- a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 4h30.	66
Figura 36 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 5h.	67

Figura 37 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 5h30.	68
Figura 38 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 6h.	69
Figura 39 - DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao recozimento 160°C, 6h.	71
Figura 40- DSC das amostras de PVA sujeitas a congelamento-descongelamento.	73
Figura 41- DSC das amostras de PVA + 0.5% G sujeitas a congelamento-descongelamento.	74
Figura 42- DSC das amostras de PVA + 1% G sujeitas a congelamento-descongelamento.	75
Figura 43- DSC das amostras de PVA + 3% G sujeitas a congelamento-descongelamento.	76
Figura 44- DSC das amostras de PVA + 5% G sujeitas a congelamento-descongelamento.	77
Figura 45 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 1 ciclo.	78
Figura 46 - a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 2 ciclos.	79
Figura 47- a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 3 ciclos.	80
Figura 48- a) temperatura de fusão (Tf); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (Tg); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 4 ciclos.	81
Figura 49 - DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao congelamento-descongelamento 4 ciclos.	82
Figura 50 - FTIR-ATR das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.	84
Figura 51 - Módulo elástico do DMA das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.	85
Figura 52 - Módulo dissipativo do DMA das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.	86

Figura 53 - Tan δ do DMA das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.....	87
Figura 54 - Espetroscopia de Raman das zonas com menor (low) e maior (high) intensidade da banda G para a amostra PVA_0.5_Controlo.....	89
Figura 55- Espetroscopia de Raman das zonas com menor (low) e maior (high) intensidade da banda G da amostra PVA_1_Controlo.....	90
Figura 56 - Espetroscopia de Raman da PVA_Controlo e PVA_1_Controlo.	90
Figura 57 - Mapeamento da amostra PVA_0.5_Controlo.....	92
Figura 58- Mapeamento da amostras PVA_1_Controlo.	92
Figura 59 - Espetroscopia de Raman da amostra PVA_0.5_160°C, 6h.....	93
Figura 60 - DMA ao PVA_Controlo	106
Figura 61 - DMA ao PVA_160°C,6h.....	106
Figura 62 - DMA ao PVA_0.5_Controlo	107
Figura 63 - DMA ao PVA_0.5_160°C,6h.....	107
Figura 64 - TGA do PVA_Controlo	108
Figura 65- TGA do PVA_0.5_Controlo	108
Figura 66- TGA do PVA_1_Controlo	109
Figura 67 - TGA do PVA_3_Controlo.	109
Figura 68 - GA do PVA_5_Controlo.	110

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Propriedade físico-químicas do grafeno adaptado de [12].	8
Tabela 2- Vantagens e Desvantagens do PVA em aplicações biomédicas [2].	11
Tabela 3 – Materiais compósitos com matriz de PVA ou reforçados com grafeno/ derivados de grafeno produzidos por diversas técnicas.	13
Tabela 4 – Enzimas que degradam o PVA [46].	15
Tabela 5- Métodos de estabilização do PVA.	17
Tabela 6- Vantagens e desvantagens da técnica de congelamento-descongelamento.	20
Tabela 7 - Aplicações do PVA e PVA/Grafeno	23
Tabela 8 – Parâmetros para a preparação das amostras estabilizadas com Genipin.	31
Tabela 9-Designação, tempos e temperaturas dos tratamentos térmicos.	33
Tabela 10 - Amostras de PVA reticuladas com Genipin.	43
Tabela 11- Resultados de TGA das amostras de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.	48
Tabela 12- Dados de TGA das amostras de PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h e PVA_4 ciclos.	49
Tabela 13- Percentagem de perda de massa das amostras de recozimento e congelamento-descongelamento após os ensaios de perda de massa	50
Tabela 14 - Valores obtidos nos ensaios de DSC para as amostras controlo de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.	55
Tabela 15 - Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA sujeito a recozimento.	58
Tabela 16- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_0.5 sujeito a recozimento.	59
Tabela 17- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_1 sujeito a recozimento.	60
Tabela 18- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_3 sujeito a recozimento.	61
Tabela 19- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_5 sujeito a recozimento.	62
Tabela 20 - DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao recozimento 160°C, 6h.	71
Tabela 21- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA sujeito a congelamento-descongelamento.	73
Tabela 22- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_0.5 sujeito a congelamento-descongelamento.	74
Tabela 23- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_1 sujeito a congelamento-descongelamento.	75

Tabela 24- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_3 sujeito a congelamento-descongelamento.....	76
Tabela 25- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_5 sujeito a congelamento-descongelamento.....	77
Tabela 26- DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao congelamento-descongelamento 4 ciclos.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

B

BC- Celulose bacterial

BDH- β – Diketona Hidrolase

C

CCG- Grafeno quimicamente convertido

CNT- Nanotubos de Carbono

CVD- deposição química de vapor

D

DMFC- Célula de combustível de metanol direto

DSC- Calorimetria diferencial de varrimento

E

EG- Grafite expandida

F

FGS- Folhas de grafeno funcionalizadas

FTIR-ATR- Espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier em reflexão total atenuada

G

GFN's- Nanomateriais da família do Grafeno

GNP- Nanoplaquetas de grafeno

GO- Óxido de Grafeno

M

MBE- Crescimento epitaxial por feixe molecular

N

NanoG- Grafite em nanoescala

P

PAA- Poli(ácido acrílico)

PANI-NFs- Nanofibras de polianilina

PC- Policarbonato

PCL- Poliprolactona

PEDOT:PSS- Poli(3,4-etilenodioxitiofeno): Poli(sulfonato de estireno)

PEG- Polietilenoglicol

PES- Poliestersulfona

PGA- Ácido poliglicólico

PHB- Polihidroxibutirato

PHBV- Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)

PLA- Poli(ácido láctico)

PLGA- Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)

PLLA- Poli(L-ácido láctico)

PLZT- Titanato de zircônio-lantânio-chumbo

PMMA- Polimetilmetacrilato

PS- Poliestireno

PVA- Poli(álcool vinílico)

PVA_c- Poli(acetato vinílico)

PVA-S- Hidrossulfato de Poli(álcool vinílico)

R

RGO- Óxido de grafeno Reduzido

S

SAO- Oxidase de álcoois secundários

SEM- Microscopia eletrônica de varrimento

SGO- Óxido de grafeno sulfonado

SiO₂- Dióxido de Sílica

T

TGA- Termogravimetria

TiO₂- Dióxido de Titânio

CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Em engenharia um dos maiores desafios é compreender como é que os materiais podem ser aplicados no corpo humano de forma a imitá-lo ou estimulá-lo e auxiliar na recuperação do seu normal funcionamento. Os materiais poliméricos têm sido alvo de interesse para diversas aplicações biomédicas, encontrando-se exemplos desde os polímeros naturais tais como proteínas e polissacarídeos, aos sintéticos tais como poliésteres, poliuretanos e polietileno glicol, entre outros. Com os avanços da investigação, tem-se comprovado que este tipo de materiais podem ser usados em medicina regenerativa para promover a regeneração de diferentes tipos de tecidos, como componentes de próteses e implantes ou na libertação de fármacos [1,2].

O conhecimento sobre polímeros naturais já utilizados na área biomédica e que existem de forma natural no corpo humano, tem mostrado como mimetizar algumas propriedades importantes, de modo a otimizar a aplicação de polímeros sintéticos nas diversas áreas da biomedicina, desde que estes polímeros não sejam citotóxicos e sejam biocompatíveis [1]. A grande vantagem dos polímeros sintéticos relativamente aos naturais é a sua maior facilidade de modificação e processamento, embora os polímeros naturais sejam mais abundantes que os sintéticos.

O poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero sintético utilizado numa vasta gama de aplicações biomédicas [3,4], devido às suas propriedades físicas, químicas e mecânicas. No entanto, a higroscopicidade do PVA e a sua solubilidade em meio aquoso têm limitado as suas aplicações biomédicas, uma vez que o corpo humano é maioritariamente constituído por água e uma higroscopicidade elevada levaria a uma dissolução imediata do polímero, não permitindo o correto uso do mesmo a longo prazo. Assim, é extremamente importante desenvolver estratégias adequadas para diminuir a sua solubilidade em água. Neste trabalho pretende-se investigar diferentes metodologias que possam permitir aumentar a estabilidade do PVA em meio aquoso. Em particular, as duas metodologias que vão ser exploradas no âmbito desta dissertação são a reticulação molecular e o aumento de cristalinidade, na qual se dá uma alteração da morfologia do polímero. Um material na forma amorfa encontra-se num estado

de energia mais elevado comparativamente à sua forma cristalina. Assim, o tratamento térmico resulta numa reorganização da estrutura (estrutura cristalina) que conduz o polímero a um estado de menor energia livre, tal como a uma diminuição de entropia. Em resultado desta diminuição de energia livre a mobilidade no sistema diminui, verificando-se uma diminuição da solubilidade do polímero sujeito a recozimento [5,6].

Tipicamente utilizam-se métodos químicos para induzir a reticulação, enquanto que os métodos físicos podem induzir reticulação ou apenas aumentar a cristalinidade, o que irá diminuir a solubilidade do PVA. Como não são necessários agentes de reticulação para a reticulação física, este tipo de tratamento não é citotóxico, ao contrário da reticulação química onde é necessário a adição do agente de reticulação, o qual pode ser citotóxico dependendo da concentração utilizada [1].

1.2 Objetivos e Planeamento

A presente dissertação tem como principal objetivo o aumento da estabilidade de filmes de PVA em meio aquoso nos quais se possam incorporar cargas de grafeno e seus derivados para que sejam utilizados em aplicações biomédicas.

Para tal, foram realizadas tarefas de acordo com o planeamento abaixo mencionado:

- i) Produzir filmes de PVA, com e sem grafeno, insolúveis em água através de diferentes métodos para aumentar a estabilidade do PVA em meio aquoso: reticulação com Genipin e tratamentos térmicos (recozimento e congelamento-descongelamento);
- ii) Analisar a biodegradação das amostras em função dos diferentes métodos;
- iii) Caracterizar as propriedades dos filmes:
 - a) Caracterização morfológica
 - b) Caracterização térmica
 - c) Caracterização mecânica
 - d) Biodegradação
- iv) Selecionar as condições mais favoráveis para aumentar a estabilidade do PVA em meio aquoso.

1.3 Organização da Dissertação

Esta dissertação encontra-se subdividida em cinco capítulos.

O Capítulo 1 é um capítulo de introdução à dissertação, no qual se encontra a motivação e os principais objetivos da dissertação, assim como a sequência de tarefas planeadas para a realização da mesma.

No Capítulo 2 apresenta-se uma breve revisão bibliográfica sobre PVA, grafite e grafeno, técnicas de aumento de estabilidade do PVA e biocompatibilidade dos compósitos de PVA com grafeno.

No Capítulo 3 são descritos os materiais e os métodos de preparação utilizados para a obtenção de filmes de PVA e produção dos compósitos de PVA com grafeno, assim como são mencionados os procedimentos experimentais utilizados para todas as técnicas de caracterização.

No Capítulo 4 encontra-se a apresentação e discussão de todos os resultados experimentais.

No Capítulo 5 são mencionadas as principais conclusões resultantes do trabalho desenvolvido, assim como algumas propostas para futuros trabalhos de investigação.

CAPÍTULO 2- ESTADO DA ARTE

2.1 Grafite

A palavra grafite tem origem grega e significa “para escrever”, sendo essa a sua principal aplicação durante muitos séculos. Embora continue a servir esse objetivo, tem encontrado muitas outras aplicações ao longo do tempo [7]. Sendo uma das formas alotrópicas do carbono, a partir dela podem obter-se diversos materiais devido às suas excepcionais propriedades [7].

A sua estrutura é composta por uma série de planos paralelos empilhados [7] cuja estrutura pode ser hexagonal ou romboédrica. A grafite resulta do empilhamento sucessivo de camadas de grafeno de forma organizada, como se pode verificar na Figura 1 [8].

A forma mais simples de obter grafeno é através da exfoliação da grafite em meio líquido. Este método tem como base a exposição da grafite num solvente (por norma não aquoso, ou então aquoso com a presença de um agente tensioativo) cuja tensão superficial favorece o aumento da área total das cristalites de grafite. Com a ajuda de ultrassons, a grafite pode dividir-se em folhas cada vez mais finas que, ao fim de algum tempo em tratamento, pode produzir uma quantidade significativa de monocamadas de grafeno. A concentração de grafeno pode ser enriquecida por centrifugação, separando a fração de folhas de grafite com maior número de camadas [9].

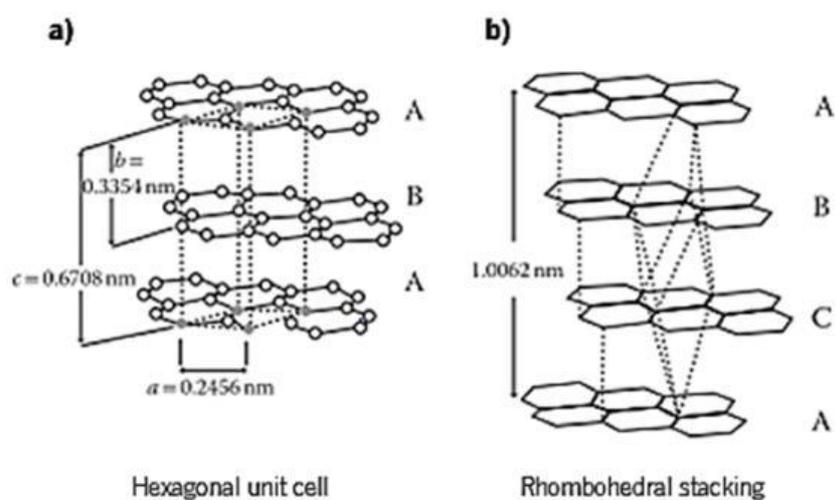


Figura 1 - Empilhamento basal de planos a) hexagonal e b) romboédrica das camadas da grafite [8].

A grafite é um material anisotrópico devido à sua estrutura estratificada. Assim, as suas propriedades físicas e mecânicas são diferentes na direção dos planos de grafeno e na direção perpendicular. A densidade é nominalmente $2,26 \text{ g/cm}^3$, mas pode ser inferior a este valor devido à presença de impurezas, imperfeições e até porosidade [7].

Valores de propriedades como entalpia, entropia, calor específico, condutividade térmica, expansão térmica e propriedades mecânicas são fortemente influenciadas pela anisotropia da grafite [7]. A grafite e o grafeno apresentam uma área superficial elevada, excelente condutividade elétrica, elevada resistência à tração e facilidade da ligação de grupos funcionais [10]. Assim, podem ser combinados com polímeros tipicamente usados em aplicações biomédicas para melhorar as suas propriedades mecânicas ou reduzir a sua resistividade elétrica.

2.2 Grafeno

O grafeno é constituído por uma única “folha” plana de átomos de carbono no estado de hibridação sp^2 ligados entre si formando uma rede hexagonal [8]. Foi isolado pela primeira vez em 2004 pela separação de camadas de grafite por exfoliação mecânica, sendo transferidos para um substrato de Si com uma camada de SiO_2 .

Hoje em dia desenvolveram-se outras formas de obter grafeno [8], tais como a deposição química de vapor (CVD), crescimento epitaxial por feixe molecular (MBE), implantação iónica, oxidação de grafite seguida da redução de óxido de grafeno, exfoliação em fase líquida assistida por ultrassons, processos eletroquímicos, entre outros [11], com diferente qualidade e custo associado ao material produzido, como se descreve na Figura 2.

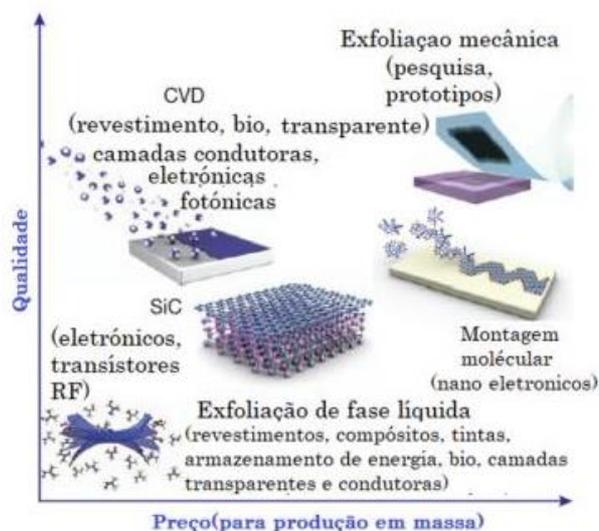


Figura 2- Vários métodos de produção de grafeno adaptado de [9].

O grafeno possui propriedades mecânicas, térmicas e elétricas muito interessantes, que o tornam um excelente candidato como material de reforço em compósitos. Algumas das propriedades estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1- Propriedade físico-químicas do grafeno adaptado de [12].

Propriedades do Grafeno	Valores
Dimensão	2-D
Modulo de Young	1 TPa
Resistência Mecânica	130 GPa
Área Específica	2630 m ² g ⁻¹
Oxigénio	0,8-5 (%)
Condutividade Térmica	5000 W m ⁻¹ K ⁻¹
Condutividade Elétrica	6,10 ³ (S cm ⁻¹)
Permeabilidade a gases	Impermeável
Mobilidade intrínseca	2000.000 cm ² v ⁻¹ s ⁻¹
Transmitância ótica	~ 97,7%

O facto das ligações covalentes entre os átomos de carbono serem muito fortes, e de possuir ligações duplas conjugadas em toda a sua estrutura, resulta em elevadas propriedades mecânicas e condutividade elétrica e térmica [13].

2.2.1 Funcionalização do grafeno

O grafeno, devido ao baixo custo de produção, é considerado um dos nanomateriais à base de carbono com interesse a nível da modificação superficial. Porém, para que este material possa ter interesse nas suas aplicações, a funcionalização e a dispersão das suas camadas é essencial [14].

A funcionalização do grafeno divide-se em dois grandes grupos: covalente e não-covalente.

A funcionalização covalente pode dar-se por variadas formas como substituição nucleofílica, adição eletrofílica, condensação e adição. Com estas técnicas, a funcionalização superficial dá-se através de uma alteração de um ou mais átomos de carbono de hibridação sp^2 para sp^3 o que causa uma perda de propriedades, especialmente eletrónicas [14,15].

A funcionalização não-covalente dá-se através de forças, quer sejam de Van der Waals, hidrofóbicas ou eletrostáticas desde que haja uma adsorção adequada das moléculas (tensoativos ou pequenas moléculas aromáticas) no grafeno [14].

A funcionalização não covalente origina grupos funcionais que são mais fáceis de eliminar quando comparado com a funcionalização covalente, porém várias ligações não-covalentes permitem dar a estabilidade necessária ao grafeno, para além de que garantem as propriedades elétricas e a sua área superficial elevada, sendo assim também muito utilizada [15].

2.2.2 Biocompatibilidade in vitro/ in vivo do grafeno

A biocompatibilidade do grafeno e dos materiais que são da mesma família, nanomateriais da família do grafeno (GFN's) depende de várias propriedades físicas e químicas, do tipo de material usado e também das técnicas utilizadas na sua produção [16].

Embora existam alguns artigos que mostram que o grafeno e os GFN's são biocompatíveis e com baixa toxicidade, a informação é escassa, não existindo ainda um consenso sobre este tópico. Contudo, é mencionado em alguns artigos que a funcionalização é um fator importante no aumento da biocompatibilidade [16,17].

In vitro

A funcionalização é utilizada para aumentar a biocompatibilidade entre o grafeno e as células, uma vez que diminui a hidrofobicidade do grafeno, melhorando a interação grafeno-célula [18–20]. Para além da funcionalização, outros parâmetros tais como a concentração, distribuição, tamanho, forma e número de camadas podem influenciar a citotoxicidade do grafeno e dos GFN's [21].

Alguns estudos recentes ([22–24]) mostram que diferentes tipos de células em contacto com compósitos polímero/grafeno podem ser viáveis, aderir e proliferar, dependendo da concentração e do tipo de grafeno (forma oxidada ou não oxidada, com ou sem funcionalização).

In vivo

Estudos *in vivo* são praticamente inexistentes e ainda é necessário realizar-se muitos mais estudos para que se entenda o comportamento destes materiais ao nível biológico.

Neste tipo de ensaios é necessário ter em conta parâmetros como a concentração, tempo de exposição, via de administração e as características do modelo animal selecionado para avaliar a citotoxicidade. Os estudos *in vivo* que já foram realizados com materiais baseados em grafeno [16,20] mostram que os materiais funcionalizados apresentam uma citotoxicidade mais baixa.

2.3 Poli(álcool vinílico)

O poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero sintético que é produzido através da conversão poli(acetato vinílico) (PVAc) em PVA por hidrólise parcial ou completa, por transesterificação (obtenção de um éster a partir de outro éster com álcool), ou aminólise Figura 3.

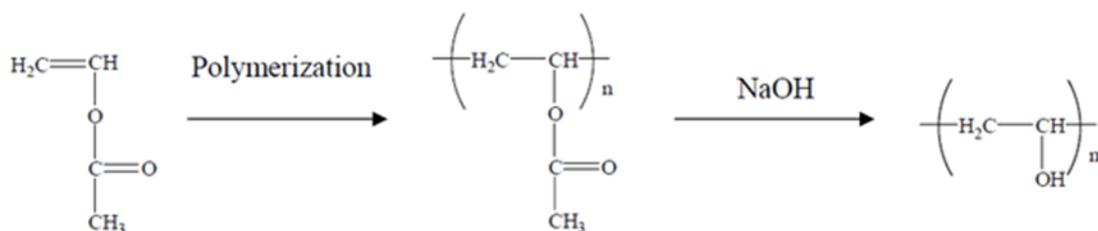


Figura 3- Reação de polimerização do PVA [1].

É um polímero hidrofílico com excelente biocompatibilidade o que o torna interessante no campo biomédico e muito promissor no campo da engenharia de tecidos e da libertação de fármacos [25]. As suas propriedades diferem dependendo do grau de hidrólise e podem ser consideradas vantajosas ou desvantajosas no campo biomédico, como se resume na Tabela 2.

Assim, para alargar as aplicações do PVA na área biomédica, é necessário arranjar estratégias que possibilitem melhorar a sua estabilidade em meio aquoso.

Tabela 2- Vantagens e Desvantagens do PVA em aplicações biomédicas [2].

Vantagens	Desvantagens
Elevada permeabilidade a oxigénio e nutrientes	Solubilidade em água
Biodegradabilidade	Elevada higroscopicidade
Biocompatibilidade	
Baixa toxicidade	
Elevada resistência mecânica	

2.4 Filmes de PVA e PVA/Grafeno

Uma das técnicas mais antigas na produção de filmes é o processo de evaporação por solvente, devido às suas vantagens tais como a uniformidade de espessura e a sua estabilidade dimensional [26].

Para a utilização desta técnica são necessários pré-requisitos, como a solubilidade do polímero no solvente utilizado [26], a capacidade de formação de uma solução estável [26], e por último a formação de um filme homogéneo que seja facilmente destacável do suporte onde a solução foi vertida [26]. A produção de filmes através da técnica de evaporação por solvente está ilustrada na Figura 4.

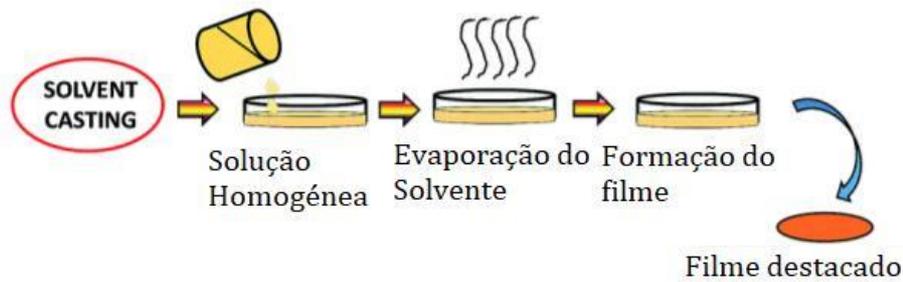


Figura 4 - Esquema representativo da técnica de evaporação por solvente, adaptado de [27].

Esta técnica consiste na deposição de uma solução homogénea numa placa de Petri, cujo solvente irá evaporar à temperatura ambiente. Após a evaporação do solvente forma-se um filme solido a partir do soluto que é facilmente destacável.

A produção de compósitos com o PVA como matriz e compósitos com grafeno/ derivados de grafeno como reforço, têm sido motivo de estudo. Na Tabela 3, é apresentada uma pesquisa bibliográfica com alguns tipos de reforços combinados com matrizes de PVA, bem como matrizes poliméricas alternativas que foram combinadas com grafeno/ derivados de grafeno. Nesta tabela encontram-se também a técnica de produção utilizada, assim como a aplicação pretendida e o tipo de material (forma) que é produzido no fim do processo.

Tabela 3 – Materiais compósitos com matriz de PVA ou reforçados com grafeno/ derivados de grafeno produzidos por diversas técnicas.

Matriz	Reforço	Técnica de produção de filmes	Aplicação / Estudo	Forma	Ref.
PVA	BC	<i>Casting-Drying</i>	Córnea artificial	Filme	[28]
PVA	GO	<i>Solvent Casting</i>	Estudo de estrutura e propriedades	Filme	[29]
	RGO				
	SGO				
PVA	GO	<i>Solvent Casting</i>	Estudo do nível de dispersão molecular no PVA	Filme	[30]
PVA	GO	<i>Solvent Casting</i>	Supercondensador	Filme	[31]
	RGO				
PVA	CNT	<i>Spray Winding</i>	Estudo do efeito de diferentes concentrações de solução.	Filme	[32]
PVA-S	NanoG	<i>Solvent Casting</i>	Estudo da morfologia e propriedades do PVA-S/ NanoG	Filme	[33]
PANI-NFs	CCG	<i>Self-Assembly</i>	Supercondensadores	Filme	[34]
PC	FGS	<i>Melting Compound</i>	Estudo da permeabilidade aos gases	Filmes, barras e discos	[35]

PEDOT: PSS	GNP	<i>Spray Coating</i>	Têxteis sintéticos condutores	Fibras	[36]
SiO ₂	GO	<i>Spin Coating</i>	Filmes condutores transparentes	Filme	[37]
PMMA	EG	<i>Solution Blending</i>	Estudo da condutividade elétrica e propriedades dielétricas	Filme	[38]
PVA	ZnO	<i>Solvent Casting</i>	DMFC	Membrana	[39]
PVA	PLZT	<i>Electrospinning</i>	Estudo da morfologia do compósito	Nanofibras	[40]
PVA	PLA	<i>Electrospinning</i>	Proliferação de osteoblastos	Scaffold fibroso	[41]
PVA	TiO ₂	<i>Solvent Casting</i>	DMFC	Membrana	[42]
PVA	PAA	<i>Electrospinning</i>	Absorbente amigo do ambiente	Nanofibras	[43]

De acordo com os resultados da Tabela 3, observa-se que o PVA e o grafeno/ derivados de grafeno são objetos de estudo em variados artigos para a produção de filmes. As investigações focam-se na utilização dos compósitos com PVA como matriz e nas aplicações biomédicas e nas aplicações elétricas nos compósitos com grafeno/ derivados do grafeno como reforço.

A informação sobre compósitos PVA/Grafeno produzidos por evaporação por solvente (*solvent casting*) é escassa, encontrando-se apenas alguns estudos [29–31,44].

Embora existam variadas técnicas de produção de filmes, a técnica de evaporação por solvente é a mais comum por ser uma técnica rápida, simples, de baixo consumo e com pouco desperdício.

2.4.1 Biodegradação dos filmes de PVA

Polímeros biodegradáveis, tais como o PVA, são utilizados na área da medicina regenerativa, para a produção de suportes temporários (*scaffolds*) necessários nos estágios iniciais da regeneração de tecido danificados por doença ou lesão, e que vão degradando lentamente à medida que novo tecido cresce e se regenera [45].

Na Tabela 4 estão indicadas as principais enzimas responsáveis pela biodegradação do PVA. Estas enzimas são produzidas por bactérias da espécie *Pseudomonas* que não existem no corpo humano.

Tabela 4 – Enzimas que degradam o PVA [46].

Espécies	Enzima	Tipo de degradação
<i>Pseudomonas</i>	Oxidase de álcoois secundários (SAO)	Hidrólise
<i>Pseudomonas</i>	β – Diketona Hidrolase (BDH)	Hidrólise/Oxidação
<i>Pseudomonas borealis</i>	PVA-Oxidase	Oxidação

Existem duas vias de degradação do PVA sendo a primeira por hidrólise e a segunda através de oxidação [46].

A via hidrolítica (Figura 5 a)) envolve numa primeira fase uma cisão da cadeia através da enzima extracelular SAO e posteriormente uma nova cisão na cadeia, mas desta vez realizado

pela enzima BDH. Esta via é hidrolítica uma vez que não é necessária a presença de O_2 nem de recetores de eletrões [46].

A via oxidativa (Figura 5 b)) envolve numa primeira fase uma cisão da cadeia através da enzima PVA-Oxidase e posteriormente uma nova cisão na cadeia, mas desta vez realizada pela enzima BDH. Esta via é oxidativa porque necessita da presença de O_2 para que se dê a primeira etapa com a PVA-Oxidase [46].

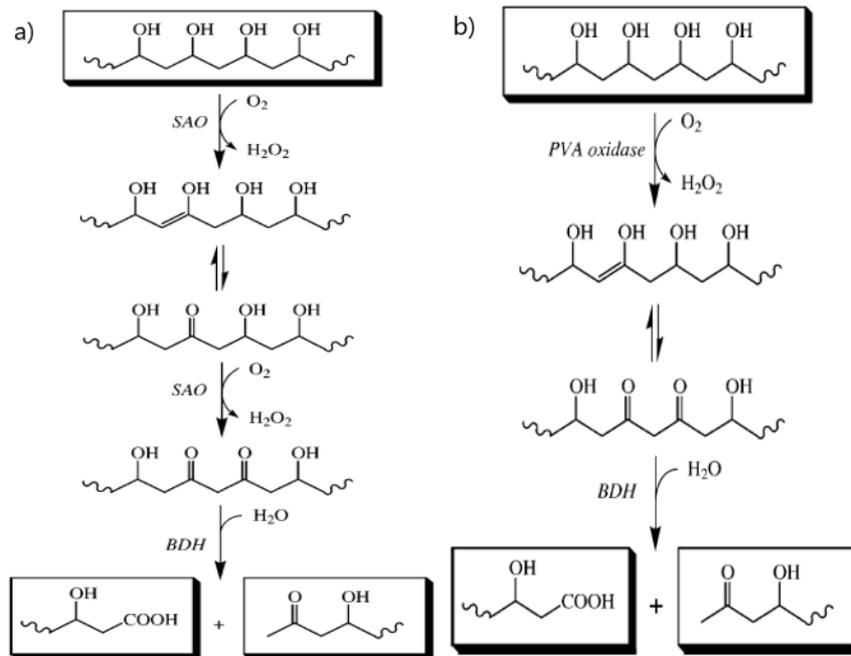


Figura 5- a) via de degradação do PVA com SAO e BDH como mediadoras [46]. b) via de degradação do PVA com PVA Oxidase e BDH como mediadoras [46].

2.5 Estratégias para melhorar a estabilidade do Poli(álcool vinílico) em meio aquoso

A reticulação é uma estratégia comum para aumentar a estabilidade em meio aquoso de um polímero suscetível de hidrólise. O agente de reticulação é, de acordo com a definição, um aditivo que liga duas cadeias poliméricas. Esta ligação pode ser covalente ou iónica, originando a reticulação do polímero. Esta ligação entre cadeias modifica as propriedades do polímero, tais como as propriedades mecânicas, viscosidade, massa molecular ou até a dureza [47].

O agente de reticulação selecionado depende da composição química do polímero e das propriedades específicas que se querem alterar no polímero. Tal como o tipo de agente de

reticulação, a concentração selecionada também determina as propriedades finais obtidas [48].

Já foram usados diferentes agentes para reticular o PVA, tais como o glutaraldeído, formaldeído, ácido maleico, e vários outros aldeídos [49]. Tendo em consideração a potencial aplicação do PVA na área biomédica é importante que o agente reticulante seja biodegradável, biocompatível e não citotóxico. O Genipin é um agente reticulante que apresenta as propriedades referidas [50]. Também podem ser utilizados métodos físicos para induzir reticulação, tal como irradiação com certos tipos de radiação [49]. Na Tabela 5 estão resumidos os principais métodos que costumam ser usados para aumentar a estabilidade do PVA.

Outra estratégia que pode ser usada para aumentar a estabilidade do PVA em meio aquoso é a utilização de tratamentos térmicos cujo efeito é induzir um aumento de cristalinidade, nos quais as amostras arrefecem à temperatura ambiente, aumentando assim a insolubilidade do polímero [4,50,51]. Os tratamentos térmicos nos polímeros são a forma mais simples de alterar as suas propriedades tanto mecânicas e tribológicas [51]. A maior vantagem da aplicação de tratamentos térmicos é alterar as propriedades do polímero sem utilizar reagentes que podem ser tóxicos, tais como o glutaraldeído ou o metacrilato.

A estabilização física pode ser efetuada por diferentes técnicas tais como congelamento-descongelamento, arrefecimento com estiramento, recozimento, irradiação e tratamentos térmicos como se ilustra na Tabela 5 [3,4].

Tabela 5- Métodos de estabilização do PVA.

Métodos Químicos (Agentes reticulantes)	Métodos Físicos
Genipin [50]	Arrefecimento com estiramento [3]
Glutaraldeído [49]	Irradiação [49]
Metacrilato [3,52]	Tratamentos Térmicos (recozimento, congelamento-descongelamento, ...)[49]

2.5.1 Reticulação com Genipin

O Genipin (Figura 6) é um composto orgânico biodegradável e com baixa citotoxicidade [53] que se encontra na *Gardenia jasminoides*, uma flor típica em várias partes da Ásia [54]. É usado na medicina chinesa para o tratamento de diversas patologias como diabetes tipo 2, dores de cabeça, de inflamações ou doenças hepáticas [53]. Apresenta uma coloração azul devido à reação com aminoácidos e com proteínas sendo por isso também usado como corante de alimentos [54]. É também conhecido por ser utilizado no fabrico de cápsulas e na imobilização de enzimas [54].

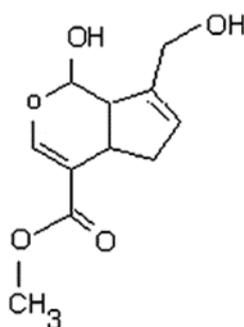


Figura 6- Estrutura molecular do Genipin [54].

O Genipin foi utilizado por Alhosseini e co-autores para reticular o PVA [50], embora os detalhes do procedimento experimental usado não sejam muito claros nesse trabalho e não existam mais exemplos de trabalhos na literatura em que o PVA seja reticulado com este agente reticulante. O mecanismo de reticulação proposto por estes autores está esquematizado na Figura 7:

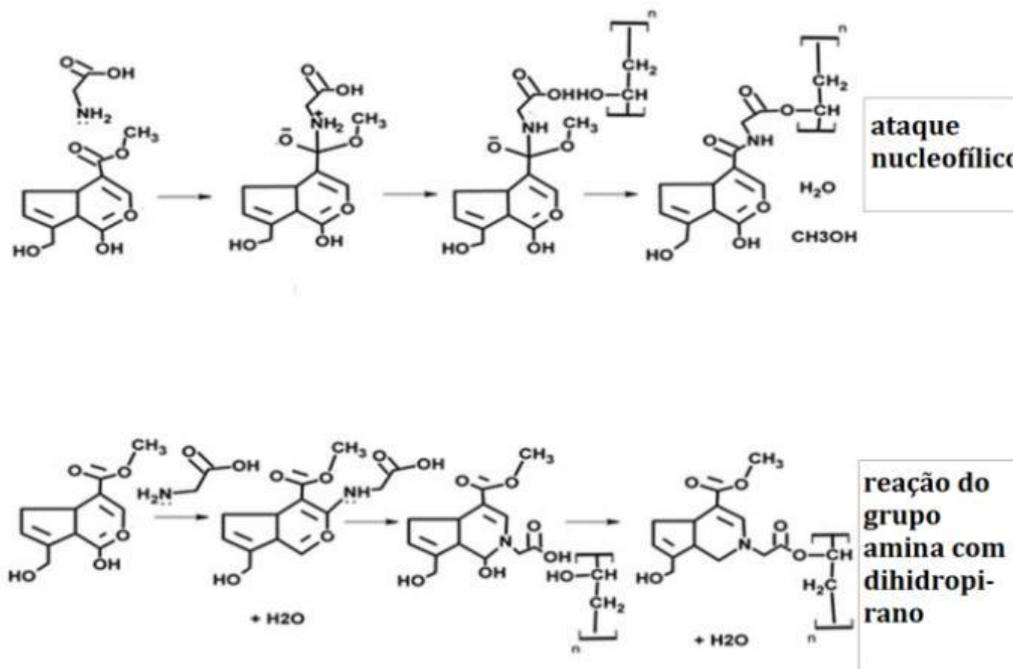


Figura 7- Representação do mecanismo de reticulação do PVA com Genipin proposto por Alhoseini e co-autores, adaptado de [50].

O quitosano é outro exemplo de um polímero que pode ser reticulado com Genipin, e a sua reticulação com este agente possibilita a obtenção de scaffolds para engenharia de tecidos com propriedades muito promissoras [55].

2.5.2 Recozimento

Recozimento é o processo no qual se sujeita um material a um tratamento térmico a uma certa temperatura durante um determinado tempo e é posteriormente deixado a arrefecer à temperatura ambiente, para que se alterem as propriedades do material [56].

Esta técnica é comumente utilizada em polímeros e compósitos de forma a obter uma alteração da morfologia e consequentemente das propriedades do material [56].

A técnica de recozimento é utilizada para [56]:

- Aumentar a temperatura de fusão (T_f) dos polímeros, facilitando a fusão de cristais pequenos e irregulares, dando apenas lugar aos grandes e bem formados.
- Diminuir ou eliminar deformações aplicadas anteriormente a alta temperatura e que ficaram aprisionadas após arrefecimento à temperatura ambiente.

- Aumentar a cristalinidade em fases semicristalinas preexistentes de forma a induzir a estabilização mecânica de materiais poliméricos [57]. O recozimento em polímeros semicristalinos pode alterar a estrutura cristalina, a perfeição dos cristais, a orientação das fases cristalinas e amorfas, a morfologia estrutural entre fases e o número de cadeias de ligação entre cristalites [56].

Este tipo de tratamentos térmicos é mais eficaz a induzir estabilidade no polímero, à medida que a temperatura é mais elevada e o tempo é mais curto. Assim, a temperatura de recozimento (T_{ann}) está diretamente ligada à temperatura de cristalização (T_c) e esta nunca poderá ser mais elevada que a temperatura de fusão (T_f) [56].

2.5.3 Congelamento-descongelamento

Congelamento-descongelamento é uma técnica de estabilização física de polímeros, onde a amostra é colocada a congelar e depois a descongelar à temperatura ambiente. Normalmente são efetuados vários ciclos de congelamento-descongelamento. Através desta ação física são formadas cristalites que aumentam a estabilidade do polímero e que o tornam insolúvel em água [58]. Sujeitar o polímero a alterações de temperatura bruscas como é o caso desta técnica, causa um relaxamento molecular onde mobilidade molecular é muitas vezes suficiente para permitir um realinhamento da fase amorfa e conseqüentemente a formação de novos cristais ou aumento do tamanho de cristais pré-existentes.

Na Tabela 6 podemos encontrar as vantagens e desvantagens desta técnica.

Tabela 6- Vantagens e desvantagens da técnica de congelamento-descongelamento.

Vantagens	Desvantagens
Aumento da resistência mecânica [58,59]	Dissolução de cadeias de PVA [60]
Baixa toxicidade [58]	Envelhecimento [59,60]
Aumento da elasticidade do filme [59,60]	Cristalização secundária [60]

A técnica de congelamento-descongelamento ocorre através da fusão de pequenas regiões de cristalites, seguida de um aumento de cristalites com o aumento do tempo de envelhecimento. Quando o número de ciclos aumenta a cristalinidade do polímero também aumenta [59,60].

A formação de cristais de gelo no polímero, provenientes das moléculas de água adsorvidas, vão tornando-se cada vez mais grosseiros com o aumento do número de ciclos da técnica e cada vez que as amostras passam pela segunda fase de cada ciclo (à temperatura ambiente), o gelo derrete deixando cavidades vazias no polímero que são posteriormente preenchidas com polímero sob a forma de cristalites [60].

2.6 Aplicações biomédicas de materiais baseados em PVA

2.6.1 Engenharia de tecidos

Os materiais para aplicações biomédicas, designados como biomateriais, devem obedecer a aspetos regulatórios bem definidos e apresentar vários requisitos, designadamente devem ser não-tóxicos, esterilizáveis, biocompatíveis e com propriedades adequadas para a aplicação selecionada [2]. Os biomateriais apresentam várias aplicações médicas, tais como: próteses endovasculares, implantes ortopédicos e dentários, lentes oftalmológicas ou substitutos de pele [61]. No caso do PVA, é de salientar a sua aplicação na libertação controlada de fármacos e como *scaffolds* para engenharia de tecidos [62]. Na engenharia de tecidos pretende-se tipicamente regenerar, tratar ou substituir tecidos do corpo humano que se encontram danificados [63], tal como se ilustra na Figura 8.

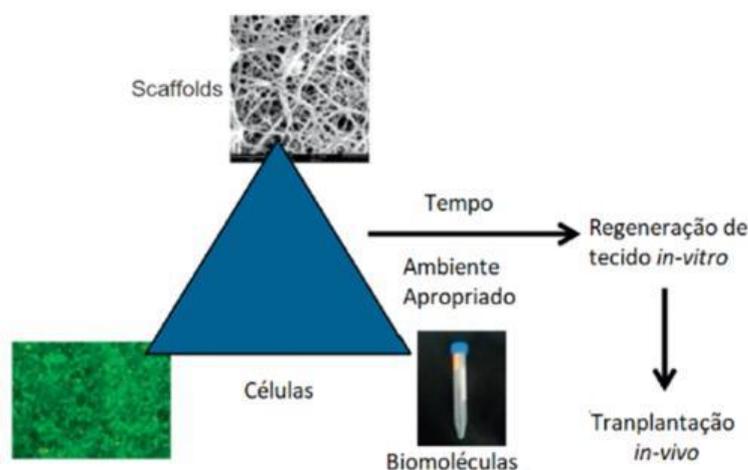


Figura 8 - Componentes e fundamentos da engenharia de tecidos, adaptado de [64].

Os *scaffolds* são um suporte temporário, necessário para permitir a regeneração de tecidos, e devem ser biodegradáveis, de forma a não deixar resíduos no corpo do paciente quando a sua função de suporte já não é necessária [65]. Podem ser utilizados materiais naturais ou sintéticos para produzir *scaffolds* tais como polissacarídeos, proteínas, polímeros sintéticos ou cerâmicos [66]. Os polímeros sintéticos biodegradáveis apresentam algumas vantagens relativamente aos polímeros naturais, tipicamente o seu processamento e modificação é mais simples e o seu processo de degradação geralmente ocorre por hidrólise simples, não dependendo de processos enzimáticos, tal como ocorre com os polímeros naturais [66].

Há vários requisitos para que um determinado biomaterial seja usado como *scaffold* [65], dos quais é possível destacar: i) Biocompatibilidade, ii) cinética de biodegradação adequada para a aplicação selecionada, iii) propriedades mecânicas adequadas para aplicação selecionada; Há vários polímeros que têm sido utilizados para a produção de *scaffolds*, tais como o poliestireno (PS), o poli(ácido láctico) (PLA), o poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli(3-hidroxi-butirato) (PHB), poli(3-hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato) (PHBV), policaprolactona (PCL), polietileno glicol (PEG) e polietersulfona (PES) [64,67,68].

Todos estes polímeros têm propriedades que são indispensáveis na produção de um *scaffold*.

Fabrico: *Scaffolds* poliméricos, em particular de polímeros sintéticos, são facilmente processáveis através de diferentes técnicas de processamento.

Superfície: A química e as propriedades da superfície dos polímeros devem promover a adesão, proliferação e diferenciação celular caso contrário poderá dar-se uma rejeição [64,67]

Propriedades Físicas: Os *scaffolds* devem apresentar uma porosidade elevada e com poros interconectados, uma vez que a porosidade, o tamanho dos poros e a sua estrutura são importantes para a proliferação celular, para o transporte de nutrientes até às células e o para o transporte dos resíduos metabólicos para o exterior das células [64].

O tamanho e o diâmetro certo dos poros faz com que as células migrem e proliferem para o interior do *scaffold*, promovendo assim uma regeneração completa [64].

Propriedades mecânicas: As curvas tensão-deformação dos polímeros devem ser extremamente parecidas às do tecido que se pretende regenerar [64].

Degradação: A cinética de degradação deve semelhante à cinética de regeneração do tecido que se pretende regenerar [64].

Esterilização: deve ser possível esterilizar o polímero por um dos vários métodos de esterilização existentes (por exemplo, com óxido de etileno ou através de raios gama) para que se previnam infeções [64].

2.6.2 Aplicações biomédicas do PVA e PVA/Grafeno

Existem vários tipos de aplicações biomédicas nas quais são utilizados apenas PVA ou PVA/Grafeno tal como se ilustra na Tabela 7. Embora na tabela apenas se refira o PVA, é de salientar que a sua rápida dissolução em meio aquoso é muito pouco desejada e por essa mesma razão as aplicações que são descritas são de materiais à base de PVA (compósitos) ou PVA estabilizado pelos métodos típicos de estabilização do PVA (químicos e físicos).

Tabela 7 - Aplicações do PVA e PVA/Grafeno

PVA	PVA/Grafeno
Esponjas cirúrgicas [25]	Produção de elétrodos [69]
Embalagens [25]	Sensores [70]
Gotas para humedecer os olhos [25]	<i>Scaffolds</i> [71]
Lentes de contacto [25]	Fibras [72]
Revestimentos hidrofílicos (em cateteres e elétrodos) [25]	Cicatrização de feridas [73]
Agente embólico vascular [25]	Atividade antimicrobiana [73]
Barreiras para a adesão de tecidos [25]	
Guias nervosos [25]	
Substitutos de cartilagem [25]	

Um dos motivos pelos quais se combina grafeno ao PVA é para melhorar as suas propriedades mecânicas, elétricas e a estabilidade térmica [74].

As propriedades mecânicas são melhoradas pela ligação entre o PVA e o grafeno pois são estabelecidas pontes de hidrogénio entre as moléculas de PVA e grafeno, gerando um aumento da tensão de cedência do compósito com o aumento da percentagem de grafeno [75,76].

As camadas de grafeno, quando próximas, apresentam uma tendência ao empilhamento através de forças de Van der Waals. Com o aumento da percentagem de grafeno no compósito, é mais provável que ocorra empilhamento entre camadas (aglomeração das partículas) do que ligações PVA/Grafeno, gerando uma diminuição na tensão de cedência no compósito, como indicado na Figura 9 [75,76].

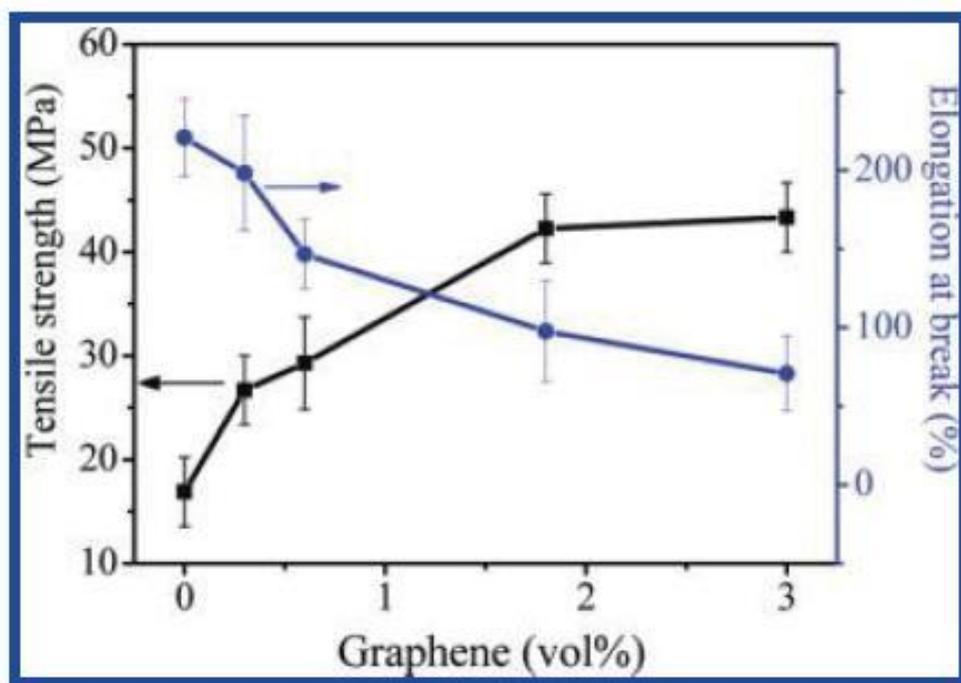


Figura 9 – Propriedades mecânicas de nanocompósitos de PVA/Grafeno com varias percentagens de cargas [76].

Assim como acontece com as propriedades mecânicas, as propriedades elétricas e térmicas também melhoram com esta distribuição [29,77].

Uma vez que o grafeno fica dispersa de forma paralela entre as camadas de PVA, a energia elétrica passa de forma paralela entre as camadas, o que proporciona um compósito mais condutor [29].

Já no caso das propriedades térmicas, salientam-se as pontes de hidrogénio que servem de ligação e que necessitam duma energia extra para serem quebradas levando a uma maior estabilidade térmica por parte do compósito [77].

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos os materiais utilizados e os métodos experimentais utilizados de forma a produzir filmes de PVA com e sem grafeno e a forma como se procedeu às estabilizações química e físicas.

3.1 Materiais

Neste trabalho foram produzidos filmes de PVA estabilizados através da reticulação com Genipin ou com tratamentos térmicos, sendo posteriormente introduzida grafeno como reforço nos filmes. Os materiais são:

- PVA em pó, Hainan Huarong Chemical Co.,Ltd, com um grau de hidrolise de 88% e mais de 93,5% de pureza.
- Genipin em pó, Wako Pure Chemical Industries, Ltd (Japan).
- Grafeno xGnP-H-5, XG Sciences, Inc., nanoplaquetas de grafeno de classe H, com uma área típica de superfície de 50 a 80 m²/g e um diâmetro médio de partícula de 5 µm.
- Glicina em pó, NZYTech - Genes & Enzymes, com uma massa molecular de 75,1 e uma pureza superior a 99,5%.

3.2 Métodos

3.2.1 Produção dos filmes de PVA e PVA/grafeno por evaporação por solvente.

Neste trabalho, a produção dos filmes de PVA foi efetuada utilizando uma solução aquosa com uma concentração de 135mg/mL. Esta concentração foi selecionada tendo como base um trabalho anterior onde foram produzidos com sucesso filmes de PVA com a mesma concentração [78].

O PVA foi dissolvido em água ultrapura por agitação magnética a 500 rpm, durante 5h a uma temperatura de 110 °C na placa de aquecimento - Figura 10. Estas condições foram utilizadas tendo em conta um trabalho anteriormente realizado onde foram produzidos com sucesso filmes de PVA com as mesmas condições [78].

Para os filmes de PVA/grafeno adicionou-se 0,5 wt%, 1 wt%, 3 wt% e 5 wt% de grafeno à solução de PVA previamente preparada, respectivamente, a qual foi também sujeita a 30/40 min de homogeneização num misturador ultra turrax a 8000 rpm - Figura 11.

Posteriormente, independentemente da composição da amostra, depositou-se 7 mL de solução em cada placa de Petri. Após a evaporação do solvente à temperatura ambiente (~ 72h) os filmes foram destacados das placas - Figura 12.



Figura 10 - Preparação da solução de PVA



Figura 11 – Solução de PVA com grafeno a ser misturada na sonda ultra turrax

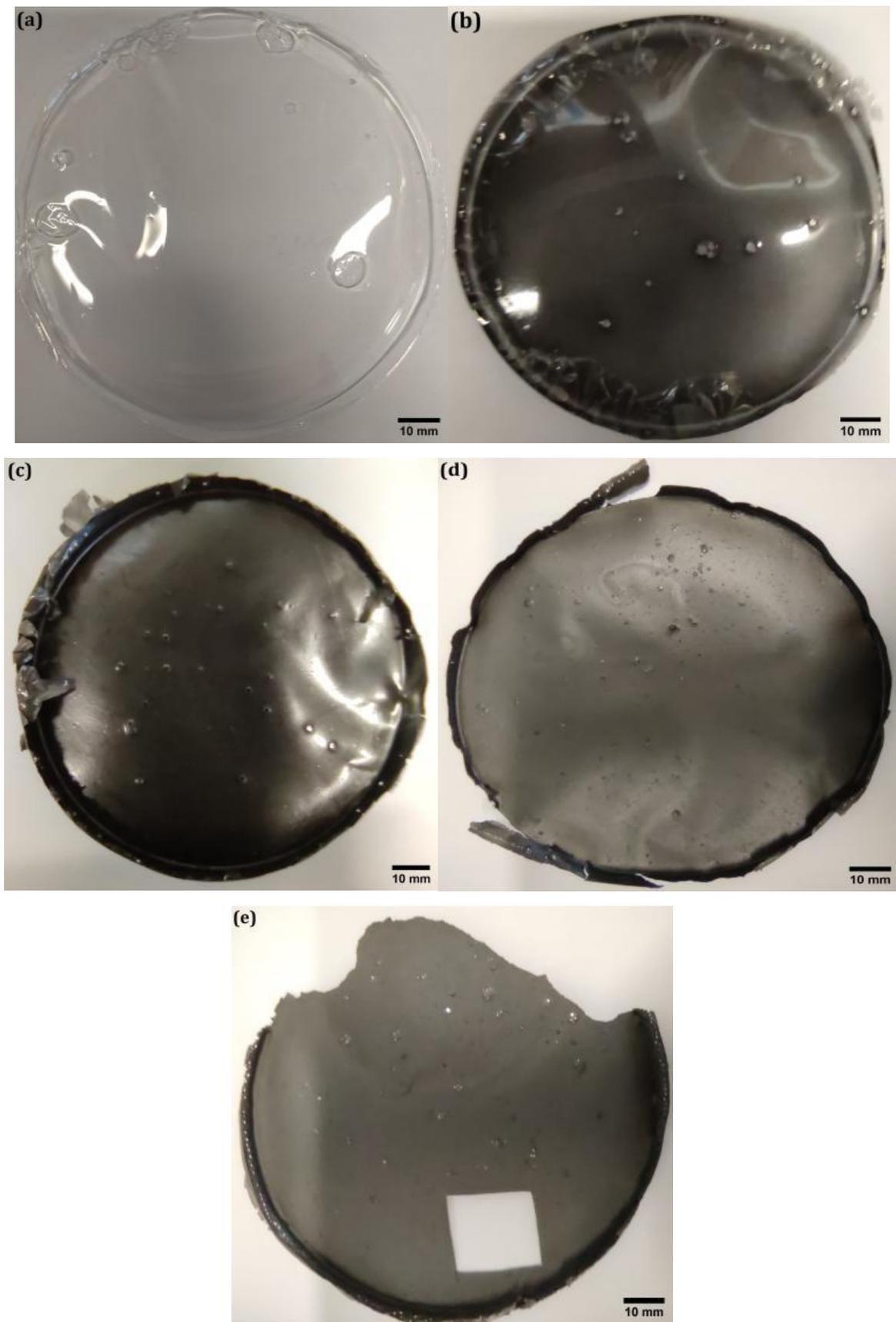


Figura 12- Filmes de PVA (a) e PVA/Grafeno 0.5% (b), 1% (c), 3% (d) e 5% (e) produzidos por evaporação por solvente.

3.2.2 Produção de filmes de PVA reticulados com Genipin

A solução de PVA previamente preparada foi dissolvida numa solução aquosa de Genipin 1% (m/v) com Glicina 2% (m/v) em 5 mL de solvente, de acordo com o artigo seguido [50].

A estabilização com Genipin foi realizada de acordo com o artigo [50] onde se realizaram algumas modificações atendendo às informações da ficha de dados de segurança do Genipin [79], onde se retira a informação de que este é apenas solúvel em etanol. Assim, prepararam-se filmes variando o conteúdo do solvente. A sequência de adição dos diferentes reagentes também foi definida, uma vez que o protocolo do artigo não fornecia informações sobre este parâmetro [50] e sabe-se que a glicina fornece o grupo amina ao PVA para que este possa ser reticulado pelo genipin, podendo a sequência de deposição alterar resultados. As condições de preparação testadas encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8 – Parâmetros para a preparação das amostras estabilizadas com Genipin.

Amostra	Água	Etanol	PVA	Glicina	Genipin
Controlo	100%	0%	Único reagente	-----	-----
1	100%	0%	Em simultâneo		
2	100%	0%	1º	2º	3º
3	75%	25%	Em simultâneo		
4	75%	25%	1º	2º	3º

As amostras foram colocadas numa placa de Petri a partir das quais se formaram filmes pelo método de evaporação por solvente. Todas as amostras foram deixadas a secar durante 24h. Depois de secas, foram lavadas com água destilada (amostras 1 e 2), ou etanol (amostras 3 e 4) para separar qualquer componente que não tivesse reagido.

3.2.3 Termogravimetria

A termogravimetria (TGA) é uma técnica na qual se regista a massa da amostra em função do tempo ou da temperatura, sendo os ensaios realizados a atmosfera controlada (inerte ou reativa, dependendo do ensaio que se pretende realizar) [80].

Em TGA existem dois tipos de análise:

Análise isotérmica: a massa é registada em função do tempo, a uma temperatura constante [80].

Análise dinâmica: a massa é registada em função da temperatura, onde existe mais uma variável que deve ser controlada, a velocidade de aquecimento/arrefecimento [80].

Os ensaios de TGA dos filmes de PVA e PVA/Grafeno foram realizados no equipamento Q500 (TA Instruments, USA) -Figura 13- sob uma atmosfera de azoto, entre os 40°C e 800°C à velocidade de aquecimento de 10°C/min.



Figura 13- Equipamento de TGA (Q500 (TA Instruments, USA)).

3.2.4 Recozimento

As amostras de PVA anteriormente preparadas pelo método de evaporação por solvente foram recortadas em quadrados de 1,5×1,5 cm - Figura 14. Estas amostras foram colocadas na estufa a 100°C durante 30 min para a remoção de humidade e colocadas no exsiccador. Após as amostras serem pesadas, foram sujeitas aos diferentes tratamentos térmicos indicados na Tabela 9. Foram utilizadas 5 amostras (PVA e compósitos de PVA com 0,5, 1, 3 e 5 % de grafeno) por condição. Após os tratamentos térmicos, todas as amostras foram

pesadas e mantidas dentro do exsicador para evitar contacto com a humidade do meio ambiente até serem submetidas às diferentes caracterizações abaixo mencionadas.

Tabela 9-Designação, tempos e temperaturas dos tratamentos térmicos.

Recozimento (Um único ciclo de aquecimento)	Congelamento-Descongelação (Cada ciclo: 16h a -20°C seguido de 8h a T _{ambiente} (25°))
145°C, durante 6h	1 ciclo
150°C, durante 6h	2 ciclos
155°C, durante 6h	3 ciclos
160°C, durante 4h30	4 ciclos
160°C, durante 5h	
160°C, durante 5h30	
160°C, durante 6h	

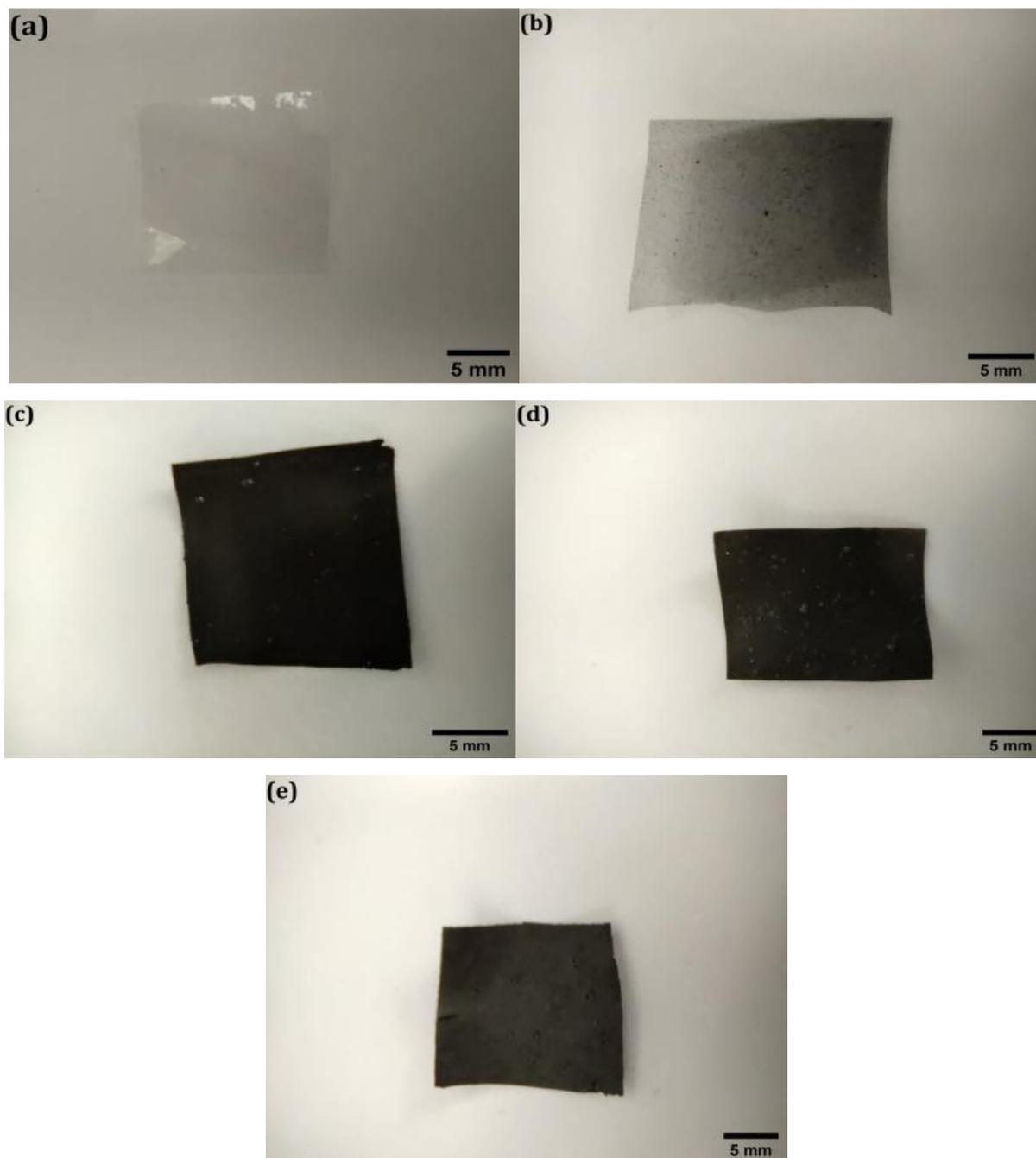


Figura 14 - Amostras retiradas dos filmes de PVA (a) e PVA/Grafeno 0.5% (b), 1% (c), 3% (d) e 5% (e) produzidos por evaporação por solvente.

3.2.5 Congelamento-Descongelamento

A estabilização através do método de congelamento-descongelamento foi realizada tendo como referência o protocolo indicado no artigo [59]. Assim, as amostras (quadrados de 1,5×1,5 cm) foram colocadas junto com um exsiccante (para impedir que a umidade interfira com o processo) a -20°C durante 16h, e, seguidamente, mantidas à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) durante 8h. Este total de 24h (16h+8h) é considerado um ciclo. É

importante salientar que no artigo foram utilizados diferentes tempos no tratamento térmico: 8h a -20°C e 4h à temperatura ambiente, respetivamente. No entanto, por incompatibilidades horárias decidiu-se duplicar o tempo.

Cinco amostras, (PVA e compósitos de PVA com 0,5, 1, 3 e 5 % de grafeno), foram sujeitas a um nº diferente de ciclos: i) um ciclo, ii) dois ciclos iii) 3 ciclos e iv) 4 ciclos.

3.2.6 Ensaio de Perda de Massa

Neste ensaio, cada amostra foi colocada em 10 mL de água pura (obtida por um sistema de osmose). As amostras, depois de secas, foram lavadas com água ou com etanol para remover o excesso de Genipin, antes de serem colocadas em água para fazer o ensaio de solubilidade. De seguida era verificado o tempo que demoravam a dissolver ou então até atingir estabilidade.

As amostras, colocadas em água à temperatura ambiente. Estas apenas foram secas com papel entre medições e no fim do ensaio (18 dias depois) secas também no forno a 100°C durante 30 min. Todas as amostras foram pesadas ao longo do tempo: 10 min, 20 min, 35min, 50m, 1 dia, 2 dias, 3 dias e 18 dias.

A perda de massa é calcula através da equação(1).

$$\Delta m/m_0 = \frac{(m - m_{inicial})}{m_{inicial}} \quad (1)$$

3.2.7 Calorimetria diferencial de varrimento

A calorimetria diferencial de varrimento (DSC) é uma técnica de análise térmica onde a diferença da temperatura entre a amostra e a referência é registada em função da temperatura do sistema, à medida que a amostra é aquecida ou arrefecida, a uma velocidade constante e numa atmosfera controlada.

No forno do calorímetro a referência e a amostra são mantidas à mesma temperatura, aquecendo ou arrefecendo a velocidade constante através de resistências elétricas individuais.

Quando se observa uma diferença de temperatura entre a amostra e a referência significa que a primeira sofreu um processo endotérmico ou exotérmico. A potência dissipada pelas resistências é relacionada com a energia envolvida nesse processo endotérmico ou exotérmico. Os ensaios de DSC foram realizados num calorímetro DSC 200 F3 Maia, da Netzsch - Figura 15. Inicialmente realizou-se um aquecimento das amostras a 10°C/min desde a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) até 100°C, temperatura à qual as amostras permaneceram durante 2 minutos. De seguida, foi efetuado um arrefecimento dos 100°C até aos 0°C a 10°C/min. Finalmente, foi efetuado um 2º aquecimento entre 0°C e 260°C a 10°C/min. Todos os ensaios foram efetuados numa atmosfera inerte.

A temperatura de transição vítrea (T_g) e a capacidade calorífica (Δc_p) foram calculadas através da primeira variação da linha de base que se observa. A temperatura de fusão (T_f) foi obtida através da temperatura do máximo do pico endotérmico e a entalpia de fusão (ΔH_f) foi calculada a partir da área desse mesmo pico. Estes valores foram calculados através do software Proteus da Netzsch.

O grau de cristalinidade (χ_c %) foi obtido através da equação 2.

$$\chi_c = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_f^0} \times 100 \quad (2)$$

Onde ΔH_f (J/g) é a entalpia de fusão da amostra de PVA e ΔH_f^0 (J/g) é a entalpia de fusão do PVA com um grau de cristalinidade de 100%, ou seja 138.6 J/g [30].

Para os filmes compósitos, o grau de cristalinidade é calculado segundo a equação (3).

$$\chi_c = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_f^0 \times (1 - \emptyset)} \times 100 \quad (3)$$

Onde \emptyset é a fração de grafeno presente no compósito.

Todos os cálculos foram efetuados através dos ensaios correspondentes ao 2º aquecimento.



Figura 15 - Equipamento de DSC (DSC 200 F3 Maia (Netzsch)).

3.2.8 Espetroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier – ATR

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier em reflexão total atenuada (FTIR-ATR) serve para identificar as ligações químicas presentes num material, e pode permitir observar variações ocorridas na estrutura química da amostra, medindo as alterações observadas no espectro de infravermelhos. O acessório de ATR usado era baseado num cristal de diamante em que a amostra foi colocada em contacto, sendo analisada a radiação de infravermelhos refletida a um determinado ângulo sobre a superfície da amostra [81].

Nos comprimentos de onda a que foi a radiação de infravermelho absorvida pela amostra encontram-se picos de diminuição da transmissão (ou aumento de absorção) que dão as indicações sobre as ligações químicas presentes no material em estudo. Uma vez que o feixe de infravermelhos chega ao cristal e é refletido este sinal é analisado e mostra as ligações químicas na amostra que absorveram a energia do feixe (as que são ativas na região do infravermelho) [81].

Para a realização do FTIR-ATR foi utilizado um equipamento JASCO FT/IR 4100 - Figura 16.

O ensaio foi realizado na gama de comprimentos de onda entre os 4500 cm^{-1} e 500 cm^{-1} .



Figura 16- Equipamento de FTIR-ATR (JASCO FT/IR 4100).

3.2.9 Análise mecânica dinâmica

A análise mecânica dinâmica (DMA) é a técnica utilizada para medir propriedades mecânicas de diferentes tipos de materiais elásticos ou viscoelásticos. Nos varrimentos em temperatura, a amostra sob a forma de filme é colocada entre as amarras do equipamento (quando o ensaio é realizado em modo de tração) e submetida a uma força oscilatória, por norma sinusoidal e a uma frequência pré-estabelecida, variando a temperatura [82].

Através desta técnica é possível determinar o módulo elástico, E' (ou componente elástica do módulo complexo do material) e o módulo de dissipação, E'' (ou componente dissipativa do módulo complexo do material). O quociente entre E'' e E' é designado por fator de amortecimento mecânico ($\tan\delta$) [82].

O equipamento de DMA usado neste trabalho foi um TT DMA da Triton - Figura 17.

Os filmes foram ensaiados à frequência de 1Hz entre 0°C e 150°C. Foram utilizados filmes retangulares com uma espessura média de 0,13 mm, 4 mm de largura e 30 mm de comprimento.



Figura 17- Equipamento de DMA (Triton).

3.2.10 Espectroscopia de Raman

A espectroscopia de Raman é uma técnica não destrutiva que consiste na análise química de um material, fornecendo detalhes como a sua estrutura química, fase, polimorfia, cristalinidade e interações moleculares [83]. Esta técnica tem por base a interação entre a luz e as ligações químicas de um material, onde as moléculas dispersam a luz incidente proveniente de um laser de alta intensidade [83]. A maioria da luz dispersa apresenta o mesmo comprimento de onda da luz do laser, o que não fornece informação sobre o material, esta é chamada de dispersão de Rayleigh [83]. Porém, uma pequena parte da luz dispersa apresenta comprimentos de onda diferentes da luz incidente do laser que dependem da estrutura química da amostra, sendo este efeito chamado de dispersão não elástica, originando o espectro de Raman [83].

Num espectro de Raman apresentam-se vários picos, com uma determinada intensidade e comprimento de onda correspondente à luz dispersa de Raman. Cada pico corresponde a uma vibração molecular específica [83].

O ensaio foi realizado para verificar a presença de grafeno em filmes compostos e possíveis diferenças nos espectros entre filmes tratados e não tratados. Os filmes foram colocados sobre uma lamela de vidro e, em seguida, analisados num microscópio LabRAM HR Evolution Raman Spectrometer da Horiba Scientific - Figura 18 -, usando uma fonte de laser de comprimento de onda de excitação de 532 nm. Os resultados foram analisados com o software LabSpec6.



Figura 18-Equipamento de Raman (LabRAM HR Evolution Raman Spectrometer).

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção de filmes

4.1.1 Produção de filmes reticulados com Genipin

Nesta dissertação foram produzidos filmes de PVA reticulados com Genipin. Foram também preparados filmes de PVA, como controlo. Todos os filmes foram produzidos através do método de evaporação por solvente. As condições utilizadas na produção dos filmes foram explicadas na secção 3.2.3 e estão também resumidas na Tabela 8 do capítulo 3.

Os filmes produzidos encontram-se ilustrados na Figura 19. Os filmes de PVA eram transparentes, enquanto os filmes com Genipin apresentavam uma coloração azul escura típica dos materiais reticulados com Genipin [50,53,54].

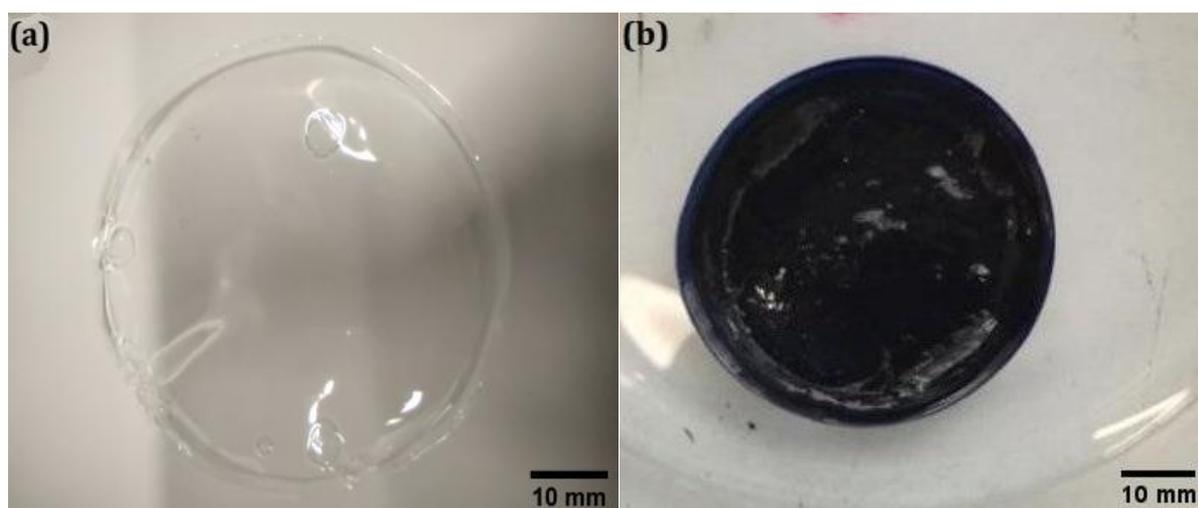


Figura 19 – Representação macroscópica do (a) filme de PVA não reticulado e (b) reticulado com Genipin.

Todas amostras foram submetidas a uma lavagem (passagem da amostra por água ou etanol corrente) antes de efetuar os ensaios de solubilidade, de forma a eliminar os produtos que não reagiram. A Tabela 10 resume, para cada uma das amostras preparadas, o respetivo solvente utilizado para a lavagem e, para as amostras que dissolveram na lavagem, o tempo que demoraram a dissolver por completo.

Das amostras de PVA com Genipin que foram preparadas, apenas as amostras 3 e 4 não dissolveram na lavagem. Porém, quando colocadas em água para iniciar os ensaios de solubilidade começaram a dissolver - Figura 20. O tempo correspondente à sua completa dissolução encontra-se na Tabela 10.

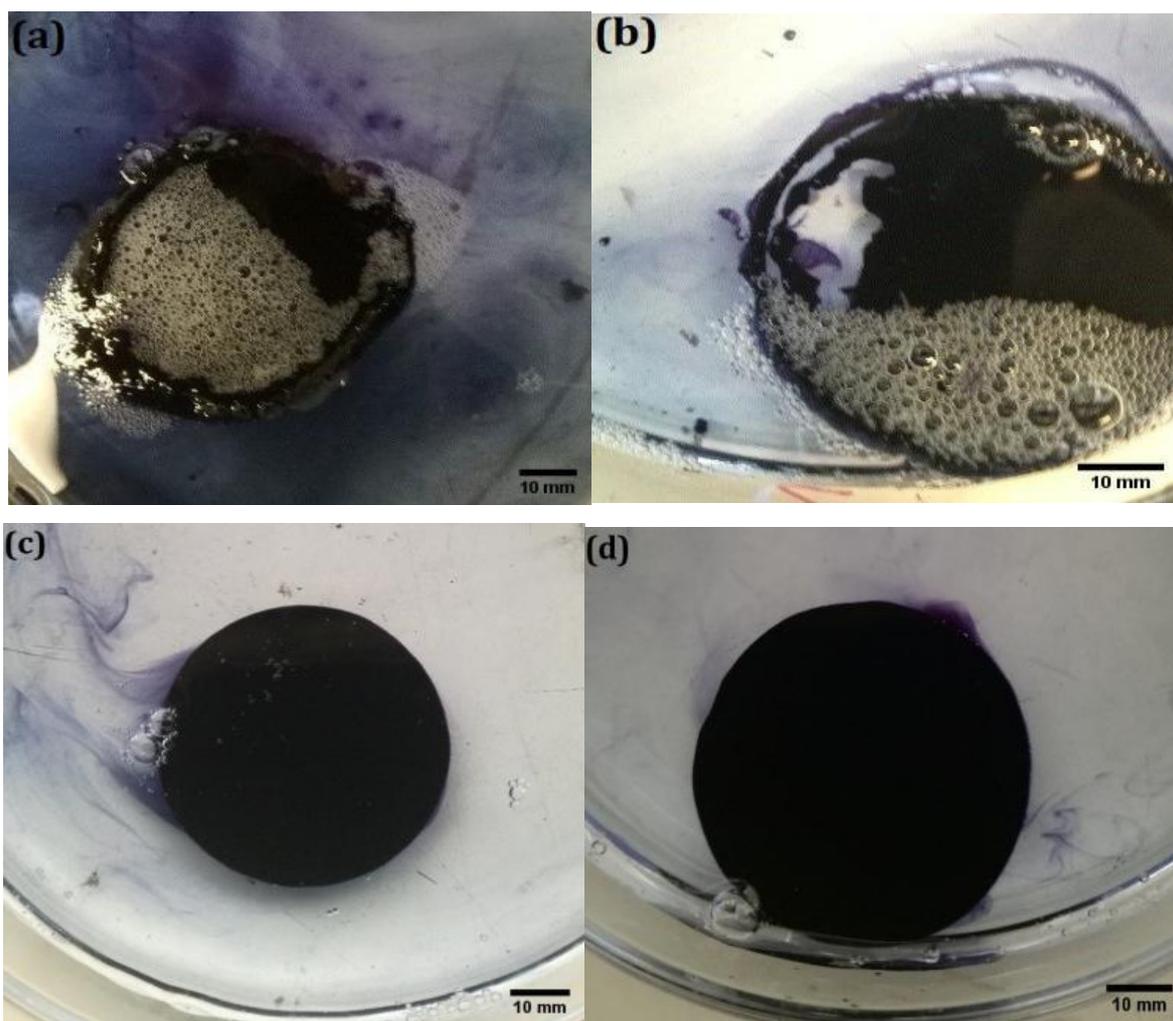


Figura 20- (a) amostra 1, (b) amostra 2, (c) amostra 3 e (d) amostra 4 quando colocadas em água.

Tabela 10 - Amostras de PVA reticuladas com Genipin.

Amostras	Solvente de Lavagem	Tempo de dissolução correspondente à lavagem (h)	Tempo de dissolução correspondente ao ensaio de solubilidade(h)
Controlo	-----	-----	Instantâneo
1	Água	2h	-----
2	Água	1h	-----
3	Etanol	-----	1h
4	Etanol	-----	1h

Todas as amostras dissolveram quando imersas em água após 1-2h embora apresentassem a cor azul, portanto não foi possível aumentar de forma significativa a sua estabilidade em água adotando o procedimento indicado por Alhosseini e co-autores [50]. A cor azul apresentada indica que o Genipin reagiu com algum reagente presente na solução, pois surge tipicamente devido à reação entre os grupos éster (acetato de metilo) ou dihidropirano do Genipin e grupos amina ou proteínas presentes no material a reticular [50,54]. Como o PVA não apresenta grupos amina, estes grupos foram fornecidos através da adição de glicina, (tal como está esquematizado na Figura 7 do Capítulo 1), que ilustra as reações ocorridas entre o PVA, a Glicina e o Genipin. Assim, supõe-se que a ligação Genipin-Glicina tenha sido estabelecida. No entanto, possivelmente há algum detalhe da reação que não foi referido no artigo [48] e o grau de reticulação obtido foi tão reduzido que apenas aumentou ligeiramente a estabilidade do PVA em água.

Uma vez que o grau de reticulação obtido não foi o suficiente para que as amostras se tornassem insolúveis em água, este método de caracterização foi abandonado nesta fase do trabalho.

4.1.2 Produção de filmes sujeitos a tratamentos térmicos de recozimento e congelamento-descongelamento

Filmes compósitos de PVA/grafeno com 0,5%, 1%, 3% e 5% (percentagem em massa) de grafeno e filmes controlo de PVA foram preparados e submetidos a diferentes tratamentos térmicos, tal como está descrito em detalhe na secção 3.2.1 do capítulo 3.

Como pode observar-se na Figura 12 (secção 3.2.1, capítulo 3), antes de qualquer tratamento térmico, os filmes de PVA eram transparentes enquanto os compósitos apresentavam uma cor cinza que se tornou mais escura com o aumento da concentração do grafeno. Todos os filmes exibiram espessuras que variavam entre 50 μm e 190 μm .

Após os tratamentos térmicos de recozimento, as amostras de PVA e PVA_0.5 mudaram de cor, passando a apresentar uma cor amarela, como pode ser observado na Figura 21, embora a cor tenha sido alterada com o tratamento térmico, esta não representa necessariamente degradação térmica.

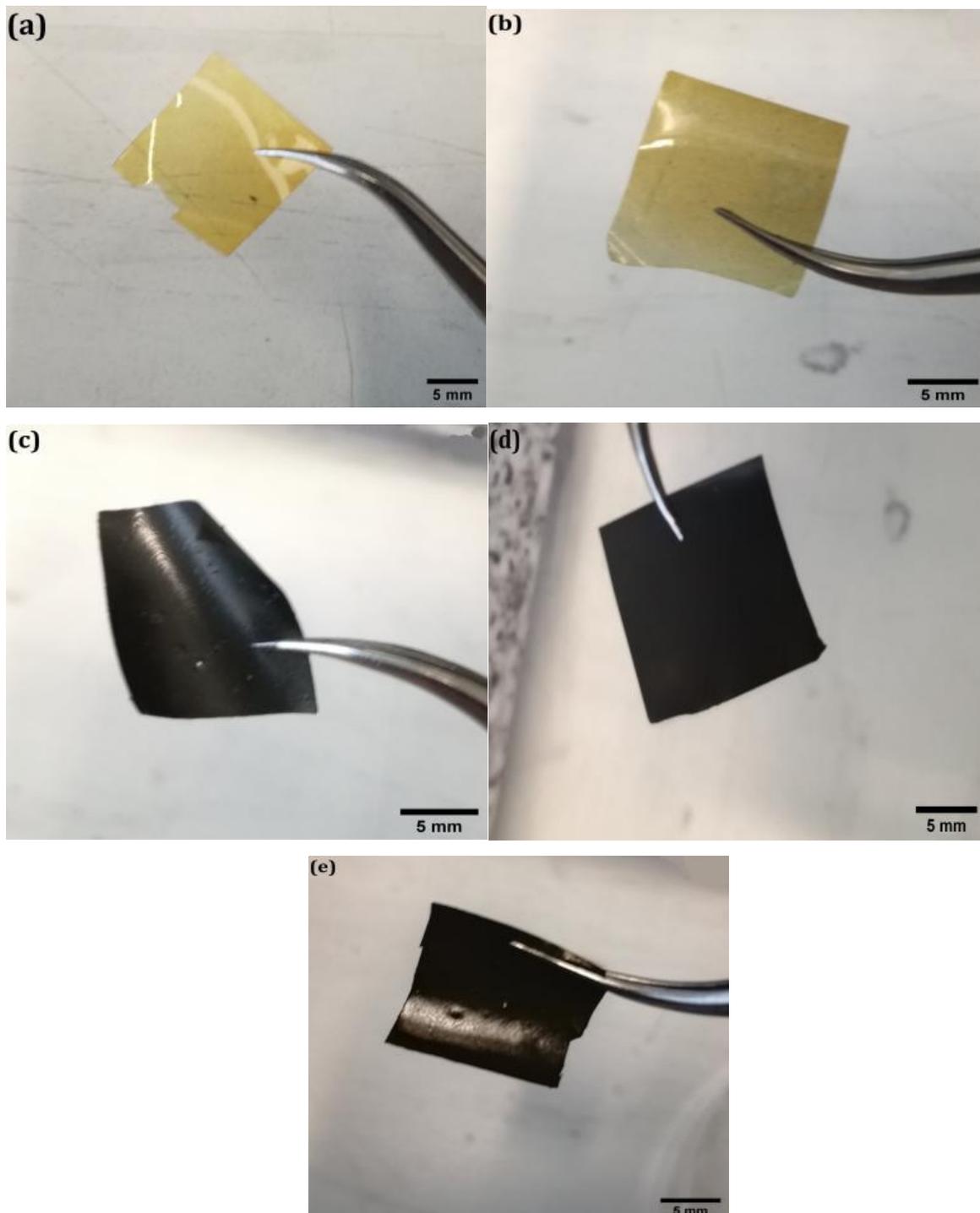


Figura 21 - Amostras de PVA (a) e PVA/Grafeno 0.5% (b), 1% (c), 3% (d) e 5% (e) após recozimento.

4.2 Termogravimetria

A estabilidade térmica dos filmes de PVA e PVA/grafeno controlo (isto é, sem tratamento térmico) foi avaliada por TGA e a percentagem em massa de grafeno incorporada nos filmes compósitos foi também determinada através desta técnica. Os efeitos do recozimento correspondente a temperaturas e tempos mais longos (PVA_160°C, 6h) e do congelamento-descongelamento com o nº mais elevado de ciclos (PVA_4 ciclos) na estabilidade térmica dos filmes de PVA foram ainda avaliados.

Os resultados ilustrados na Figura 22 e Figura 23 indicaram que a temperatura de degradação diminuiu ligeiramente com o aumento da percentagem de grafeno. A temperatura de degradação inicial dos filmes PVA_Ccontrolo é 289,8°C, enquanto que a temperatura para a amostra de PVA_5_Ccontrolo é 286,2°C, como se encontra apresentado na Tabela 11.

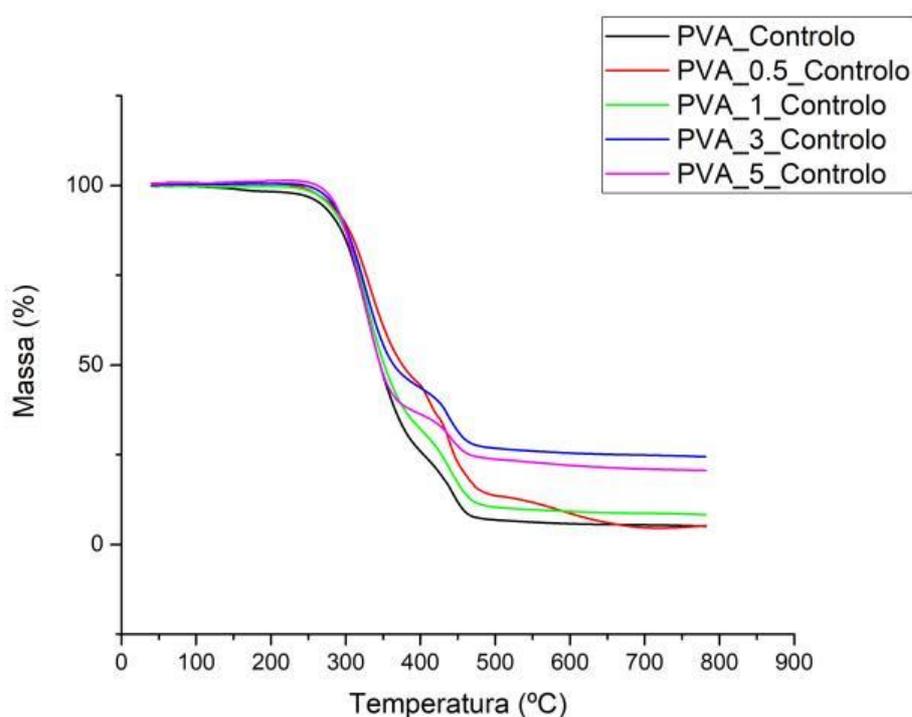


Figura 22 - TGA das amostras controlo de PVA, PVA + 0.5% de G, PVA + 1% de G, PVA + 3% de G e PVA + 5% de G.

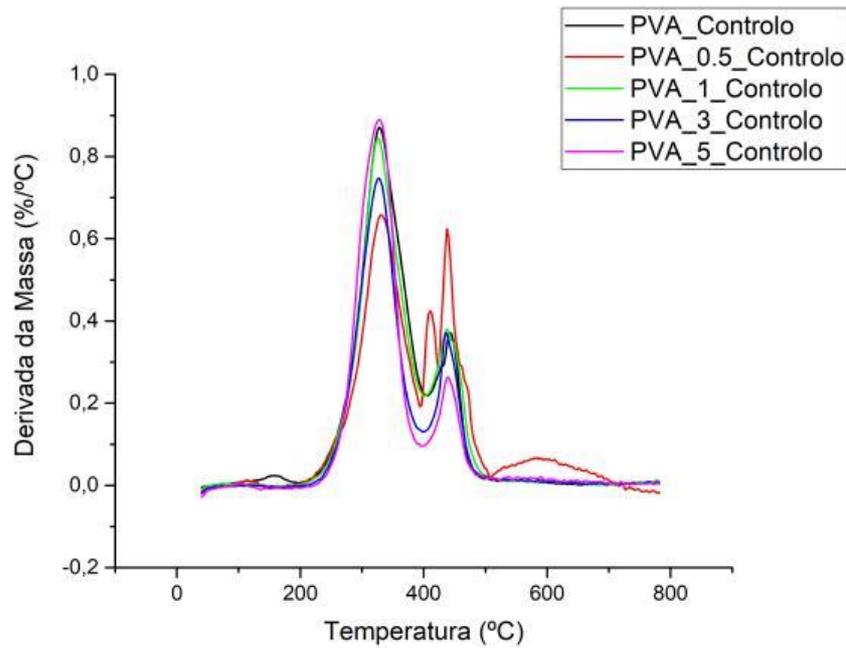


Figura 23- DTGA das amostras controlo de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.

Os resultados de TGA obtidos nas Figura 22 e Figura 23 mostram que a degradação do PVA e dos compósitos começa aproximadamente aos 250°C. A perda de massa é observada em três etapas, sendo a primeira entre os 25°C e os 150°C, aproximadamente, onde ocorre perda de humidade e de moléculas de água adsorvidas, a segunda etapa entre 250°C e os 350°C, aproximadamente, sendo que esta etapa corresponde à decomposição das cadeias laterais do PVA (perda de grupos hidroxilo). A terceira etapa ocorre entre os 350°C e 650°C, aproximadamente, sendo que esta etapa corresponde à decomposição da cadeia principal de PVA, resultados similares foram apresentados por outros autores [84]. Acima de 650°C, a perda de massa tende a estabilizar, deixando um peso residual da decomposição da cadeia principal do polímero e do grafeno.

A T_{onset} , a perda total de massa, os valores dos resíduos dos filmes PVA e PVA/grafeno e a percentagem estimada de grafeno são apresentados na Tabela 11. As percentagens estimadas de grafeno em cada uma das amostras foram diferentes dos valores esperados. A diferença no conteúdo de grafeno pode dever-se a problemas de mau estado do filamento do equipamento que se encontrava entortado e tocava nas paredes do forno e/ou à heterogeneidade da distribuição de grafeno nas amostras.

Tabela 11- Resultados de TGA das amostras de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.

Amostras	Perda de massa (%) a 650°C	T_{Onset} (°C)	Resíduo final (%)	Diferença final (%)
PVA_Controlo	94,36	289,80	5,64	0
PVA_0.5_Controlo	95,95	288,43	4,05	-1,59
PVA_1_Controlo	90,97	288,84	9,03	3,39
PVA_3_Controlo	75,61	286,42	24,39	18,75
PVA_5_Controlo	80,34	286,16	19,66	14,02

Os ensaios de TGA da Figura 24 foram realizados para comparar as diferenças entre o PVA_Controlo, a amostra sujeita à temperatura e tempo mais elevados de recozimento (PVA_160°C, 6h) e a amostra com maior número de ciclos (PVA_4 ciclos). Verificou-se que as amostras seguem as três etapas que as amostras controlo também seguem, decompondo-se sensivelmente às mesmas temperaturas. De acordo com alguns autores [85,86], verifica-se uma ligeira diminuição da T_{onset} para as amostras sujeitas a tratamento térmico, porém também é verificado um ligeiro aumento do resíduo final das amostras sujeitas a tratamento térmico em relação à amostra controlo. O mesmo se sucede com as amostras PVA_160°C, 6h e PVA_4 ciclos. Os autores consideram este aumento de resíduo final como um aumento da estabilidade térmica.

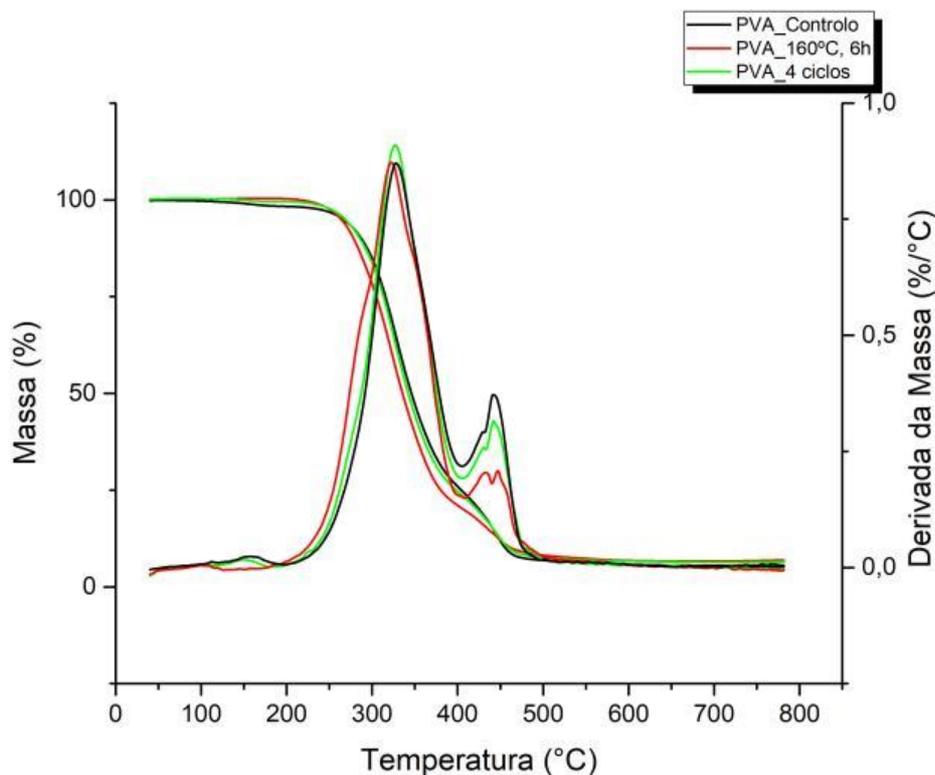


Figura 24 - TGA das amostras de PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h e PVA_4 ciclos.

Tabela 12- Dados de TGA das amostras de PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h e PVA_4 ciclos.

Amostras	Perda de massa (%)	T _{Onset} (°C)	Resíduo final (%)	Diferença final (%)
PVA_Controlo	94,36	289,80	5,64	0
PVA_160°C, 6h	93,50	275,84	6,5	0,86
PVA_4 ciclos	93,79	287,46	6,21	0,57

4.3 Ensaios de perda de massa

Após os tratamentos de recozimento e congelamento-descongelamento, indicados na secção 4.1.2, as amostras foram colocadas em água. A Tabela 13, indica as amostras que perderam integridade e o tempo correspondente, assim como a perda de massa das amostras que não perderam integridade calculada no final do ensaio, cujo tempo total foi de 18 dias.

Tabela 13- Percentagem de perda de massa das amostras de recozimento e congelamento-descongelamento após os ensaios de perda de massa

	Tratamento	Amostra	Tempo de perda de integridade	Perda de massa no final do teste (%)
PVA	Recozimento	145°C, 6h	1 dia e 2h	-----
		150°C, 6h	18 dias	-----
		155°C, 6h	-----	63%
		160°C, 4h30	-----	0,69%
		160°C, 5h	-----	0,08%
		160°C, 5h30	-----	0,04%
		160°C, 6h	-----	0,17%
	Congelamento- Descongelamento	1 ciclo	Imediato	-----
		2 ciclos	Imediato	-----
		3 ciclos	Imediato	-----
		4 ciclos	Imediato	-----
PVA_0.5	Recozimento	145°C, 6h	50 min	-----
		150°C, 6h	18 dias	-----
		155°C, 6h	-----	0,18%
		160°C, 4h30	18 dias	-----
		160°C, 5h	-----	0,08%

PVA_1	Congelamento- Descongelamento	160°C, 5h30	-----	6,69%	
		160°C, 6h	-----	0,22%	
		1 ciclo	Imediato	-----	
		2 ciclos	Imediato	-----	
		3 ciclos	Imediato	-----	
		4 ciclos	Imediato	-----	
		Recozimento	145°C, 6h	10 min	-----
			150°C, 6h	1 dia e 2h	-----
	155°C, 6h		18 dias	-----	
	160°C, 4h30		-----	0,15%	
	160°C, 5h		18 dias	-----	
	160°C, 5h30		-----	1,79%	
	160°C, 6h		18 dias	-----	
	Congelamento- Descongelamento	1 ciclo	Imediato	-----	
2 ciclos		Imediato	-----		
3 ciclos		Imediato	-----		
4 ciclos		Imediato	-----		

PVA_3	Recozimento	145°C, 6h	20 min	-----
		150°C, 6h	10 min	-----
		155°C, 6h	50 min	-----
		160°C, 4h30	10 min	-----
		160°C, 5h	35 min	-----
		160°C, 5h30	2 dias	-----
		160°C, 6h	3 dias	-----
	Congelamento- Descongelamento	1 ciclo	Imediato	-----
		2 ciclos	Imediato	-----
		3 ciclos	Imediato	-----
		4 ciclos	Imediato	-----
PVA_5	Recozimento	145°C, 6h	Imediato	-----
		150°C, 6h	Imediato	-----
		155°C, 6h	50 min	-----
		160°C, 4h30	Imediato	-----
		160°C, 5h	50 min	-----
		160°C, 5h30	Imediato	-----
		160°C, 6h	Imediato	-----

	Congelamento- Descongelamento	1 ciclo	Imediato	-----
		2 ciclos	Imediato	-----
		3 ciclos	Imediato	-----
		4 ciclos	Imediato	-----
Controles	PVA	Imediato	-----	
	PVA_0.5	Imediato	-----	
	PVA_1	Imediato	-----	
	PVA_3	Imediato	-----	
	PVA_5	Imediato	-----	

Tendo em conta os resultados da Tabela 13, das amostras sujeitas a recozimento, apenas 11 amostras mantiveram a integridade, e as amostras sujeitas à temperatura mais elevada e aos tempos mais longos foram as que apresentaram menor perda de massa. Destas amostras, foram seleccionadas duas para efetuar uma caracterização mais detalhada, PVA_160°C, 6h e PVA_0.5_160°C, 6h, tendo em conta que as percentagens de massa perdida foram muito reduzidas nessas amostras (0,17% e 0,22%, respectivamente).

Relativamente aos tratamentos de congelamento-descongelamento, Hassan e Peppas [59] verificaram que a estabilidade do PVA em meio aquoso aumentava a partir do 3º ciclo, e que ia aumentando até ao 7º ciclo. O tempo de estabilidade em água foi investigado durante 25 dias, no qual todas amostras mantiveram integridade, no entanto com perdas de massa com valores entre 5% para 3 ciclos e 3% para 7 ciclos. Concluiu-se neste artigo, que para além do número de ciclos é necessária uma massa molecular de PVA baixa ($\bar{M}_n = 35\,740$) ou intermédia ($\bar{M}_n = 64\,000$) para evitar o possível rearranjo da estrutura durante longos intervalos de tempo. Porém neste trabalho verificou-se que todas as amostras apresentaram perda de integridade instantânea. Uma vez que os tempos de congelamento e descongelamento não foram os mesmos utilizados no artigo referido (8h a -20°C e 4h a 25°C), poderá esta ser a causa do efeito de perda de integridade.

Pode ainda verificar-se que as amostras com 3% e 5%, de grafeno não mantiveram a integridade em nenhum dos tratamentos térmicos. Este facto sugere que, para percentagens elevadas de grafeno, a sua combinação com PVA inibe o esperado aumento da estabilidade em água após os tratamentos térmicos.

4.4 Calorimetria diferencial de varrimento

Foram realizados ensaios de calorimetria diferencial de varrimento (DSC) para estudar a influência da incorporação do grafeno e dos diferentes tratamentos térmicos nas propriedades térmicas dos filmes de PVA. Nas subsecções seguintes são discutidos estes efeitos separadamente. Nesta secção ainda foram incorporadas todas as amostras de forma a verificar se realmente não houve qualquer modificação a nível térmico das amostras sujeitas a congelamento-descongelamento e de forma a avaliar como é que o aumento da percentagem de grafeno altera as propriedades térmicas das amostras.

4.4.1 Incorporação de grafeno

A Figura 25 mostra as curvas de aquecimento para as amostras controlo de PVA e de PVA/grafeno. Nessas curvas é possível observar as variações da temperatura de transição vítrea, capacidade calorífica, temperatura de fusão e entalpia de fusão com o aumento da percentagem de grafeno.

A caracterização por DSC permitiu calcular a temperatura de fusão (T_f), temperatura de transição vítrea (T_g), variação da capacidade calorífica (ΔC_p), entalpia de fusão (ΔH_f) e grau de cristalinidade (X_c) dos filmes de PVA e PVA/grafeno. Os valores são apresentados na Tabela 14.

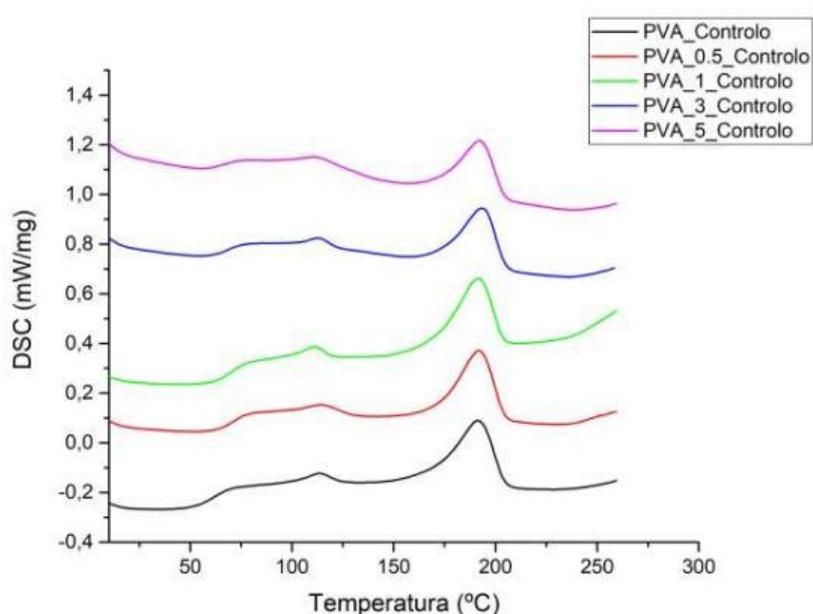


Figura 25 - DSC das amostras controlo de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.

Tabela 14 - Valores obtidos nos ensaios de DSC para as amostras controlo de PVA e PVA/grafeno 0.5%, 1%, 3% e 5%.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_Controlo	0,277	63,6	38,96	191,3	28,11
PVA_0.5_Controlo	0,339	70,2	36,75	191,7	26,65
PVA_1_Controlo	0,377	68,7	37,39	191,4	27,25
PVA_3_Controlo	0,141	65,3	29,95	193,3	22,28
PVA_5_Controlo	0,133	63,6	26,44	192,1	20,08

De forma a ser mais simples analisar o efeito da percentagem de grafeno e dos tratamentos térmicos nas propriedades térmicas do PVA, a variação dessas propriedades também está apresentada sob a forma gráfica -Figura 26.

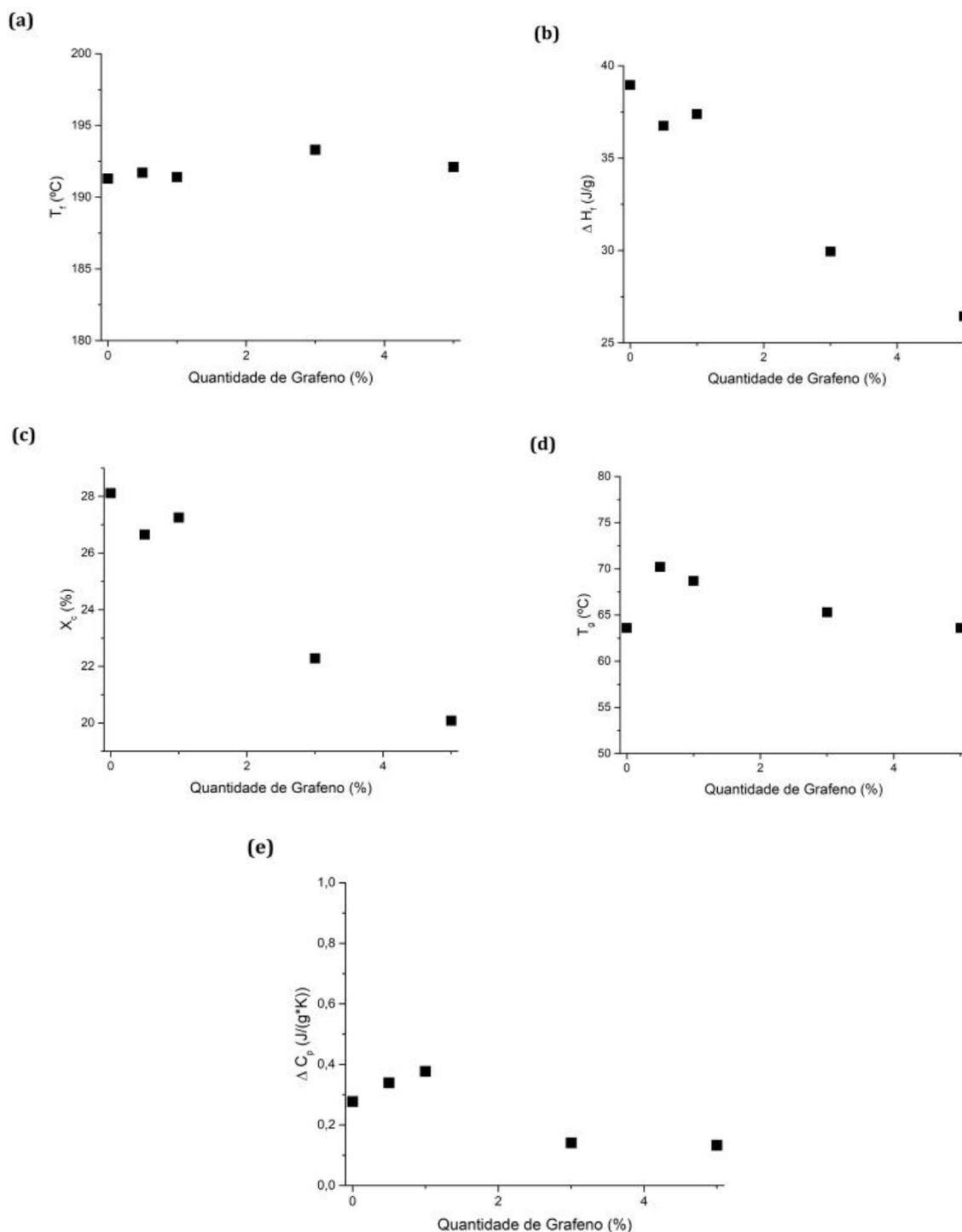


Figura 26 - a) Temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno, para as amostras de controlo.

Como se verifica na Figura 25, e nos valores apresentados ao longo das tabelas, o ΔC_p apresenta um aumento até 1% de grafeno e de seguida uma redução, a T_g apresenta um ligeiro aumento até 0,5% de grafeno, ΔH_f não apresenta variações até 1% de grafeno, valor a partir do qual apresenta uma diminuição, T_f mantém-se com valores semelhantes e X_c diminui com o aumento de concentração de grafeno.

De acordo com Tantis e co-autores [87], tipicamente verifica-se um aumento de ΔH_f e de X_c até valores de $\approx 2\%$ de grafeno e uma diminuição para valores mais elevados de concentração. Tal não é verificado neste trabalho, pois até 1% de grafeno os valores mantêm-se próximos, mas mais reduzidos do que o valor do PVA sem reforço.

Normalmente ocorre uma diminuição da T_f que se deve a uma diminuição do tamanho dos cristais de PVA, sendo estes intercalados por grafeno [87]. Tal não é observado neste trabalho, pois T_f aumenta ligeiramente. Este diferente comportamento pode ser justificado pela dispersão não homogénea de grafeno ao longo dos filmes e pelo facto de apenas se ter realizado um ensaio por amostra.

4.4.2 Recozimento

As amostras de PVA sujeitas a recozimento - Figura 27 e Tabela 15- apresentam um aumento de ΔC_p , T_g , ΔH_f , T_f e X_c , com o aumento do tempo e da temperatura do tratamento térmico, o que se traduz no gráfico como picos de fusão duplos ou picos com uma área maior, e por um desvio das curvas para temperaturas mais elevadas.

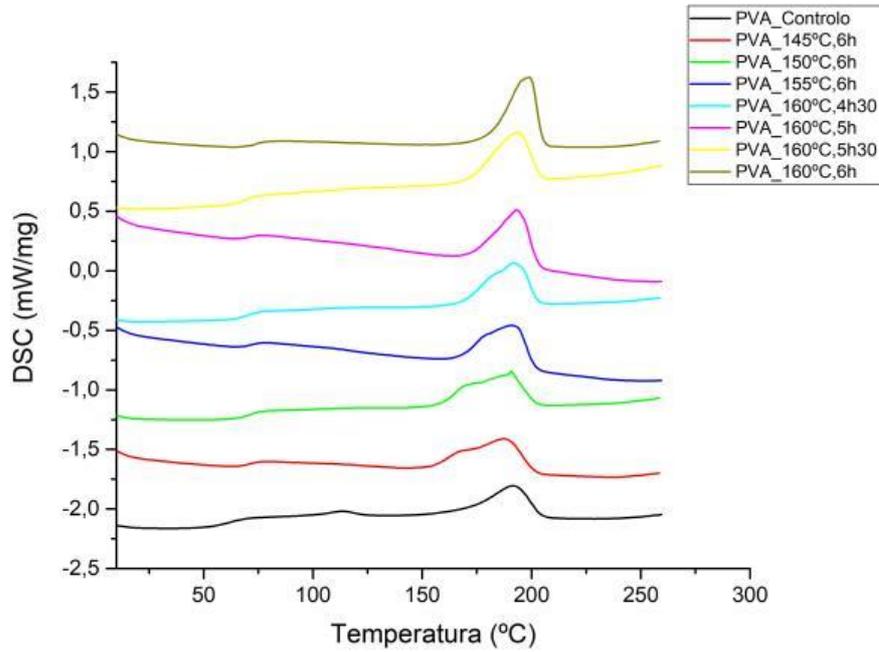


Figura 27- DSC das amostras de PVA sujeitas a recozimento.

Tabela 15 - Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA sujeito a recozimento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_Controlo	0,277	63,6	38,96	191,3	28,11
PVA_145°C, 6h	0,217	72,0	48,88	187,4	35,27
PVA_150°C, 6h	0,306	71,4	46,37	190,4	33,46
PVA_155°C, 6h	0,197	68,3	22,95	193,7	16,56
PVA_160°C, 4h30	0,349	69,6	45,26	192,1	32,66
PVA_160°C, 5h	0,230	70,1	50,92	193,1	36,74
PVA_160°C, 5h30	0,338	67,6	48,53	193,8	35,01
PVA_160°C, 6h	0,127	72,2	55,77	198,7	40,24

As amostras PVA/grafeno sujeitas a recozimento - Figura 28 à Figura 31 e Tabela 16 à Tabela 19- apresentam no geral um aumento de ΔH_f , e X_c o que se traduz no gráfico como picos endotérmicos duplos ou picos com uma área maior.

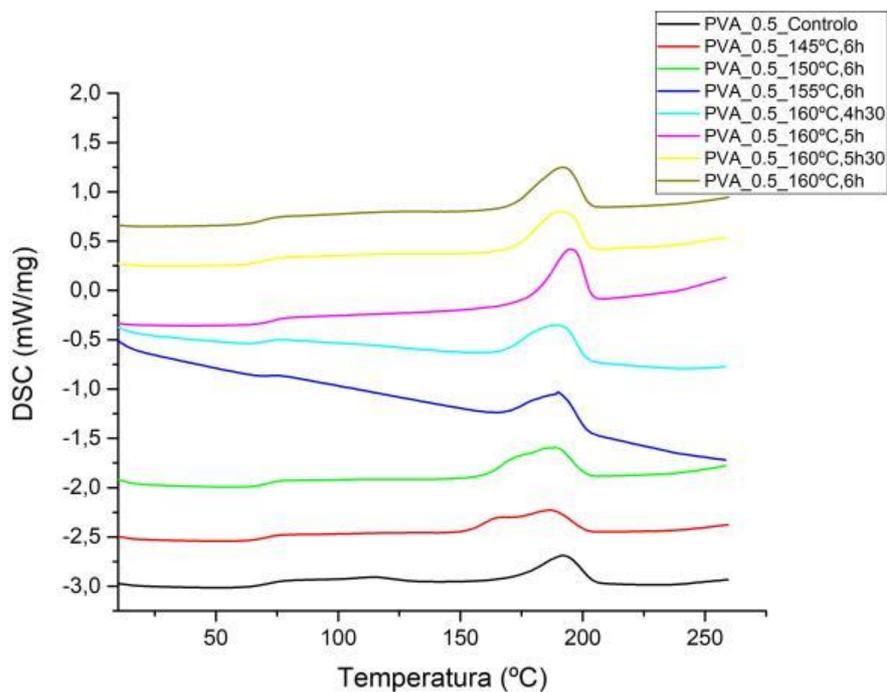


Figura 28- DSC das amostras de PVA + 0.5% G sujeitas a recozimento.

Tabela 16- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_0.5 sujeito a recozimento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_0.5_Controlo	0,339	70,2	36,75	191,7	26,65
PVA_0.5_145°C, 6h	0,232	69,9	41,5	186,9	30,09
PVA_0.5_150°C, 6h	0,334	70,4	49,14	188,1	35,63
PVA_0.5_155°C, 6h	0,163	72,3	44,47	189,4	32,25
PVA_0.5_160°C, 4h30	0,352	70,6	49,09	189,5	35,60
PVA_0.5_160°C, 5h	0,268	72,4	51,51	195,0	37,35
PVA_0.5_160°C, 5h30	0,089	68,0	47,38	171,8	34,36
PVA_0.5_160°C, 6h	0,332	68,7	50,02	191,9	36,27

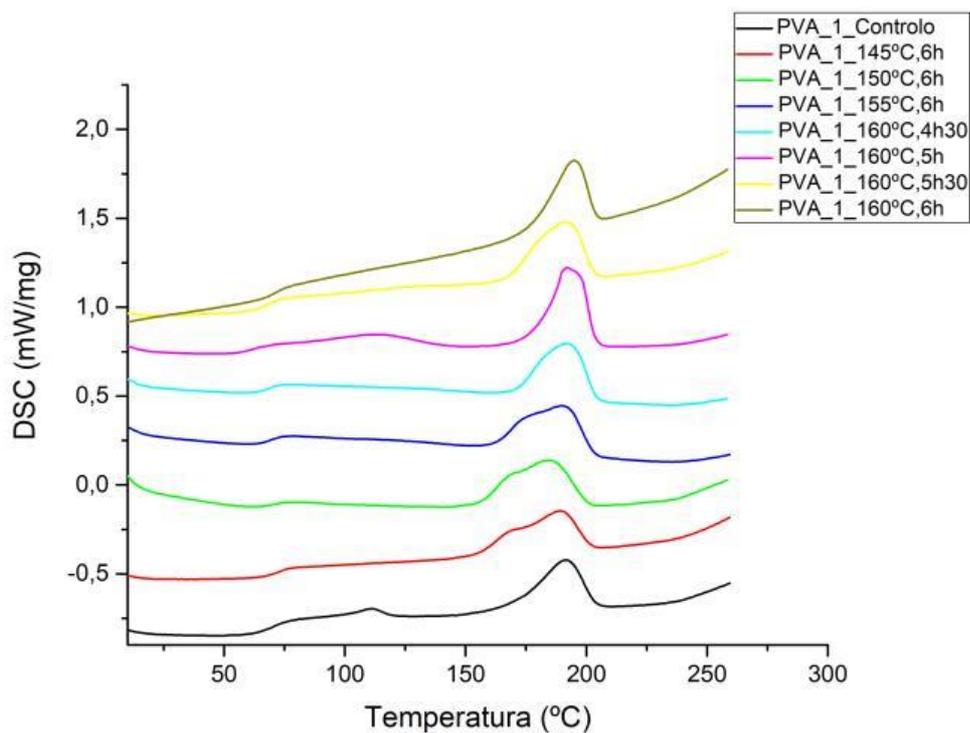


Figura 29- DSC das amostras de PVA + 1% G sujeitas a recozimento.

Tabela 17- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_1 sujeito a recozimento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_1_Controlo	0,377	68,7	37,39	191,4	27,25
PVA_1_145°C, 6h	0,187	72,5	37,65	189,4	27,44
PVA_1_150°C, 6h	0,168	70,3	44,36	184,4	32,33
PVA_1_155°C, 6h	0,193	68,9	43,86	189,8	31,96
PVA_1_160°C, 4h30	0,303	68,6	39,97	191,9	29,13
PVA_1_160°C, 5h	0,129	58,9	46,87	192,2	34,16
PVA_1_160°C, 5h30	0,286	67,6	43,53	191,8	31,72
PVA_1_160°C, 6h	0,178	70,4	38,24	195,1	27,87

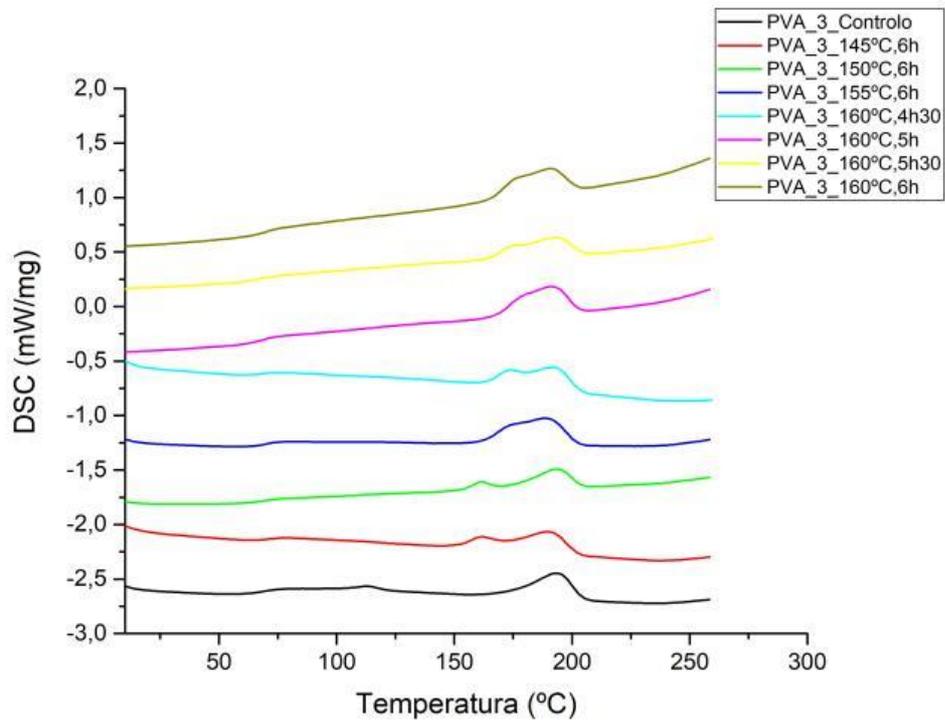


Figura 30- DSC das amostras de PVA + 3% G sujeitas a recozimento.

Tabela 18- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_3 sujeito a recozimento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f(°C)	X_c (%)
PVA_3_Controlo	0,141	65,3	29,95	193,3	22,28
PVA_3_145°C, 6h	0,328	69,3	36,27	188,9	26,98
PVA_3_150°C, 6h	0,086	67,7	23,66	193,8	17,60
PVA_3_155°C, 6h	0,169	69,5	39,82	188,6	29,62
PVA_3_160°C, 4h30	0,157	68,5	34,85	191,4	25,92
PVA_3_160°C, 5h	0,262	66,9	35,45	191,7	26,37
PVA_3_160°C, 5h30	0,066	64,0	26,75	192,8	19,90
PVA_3_160°C, 6h	0,259	69,2	34,93	190,4	19,67

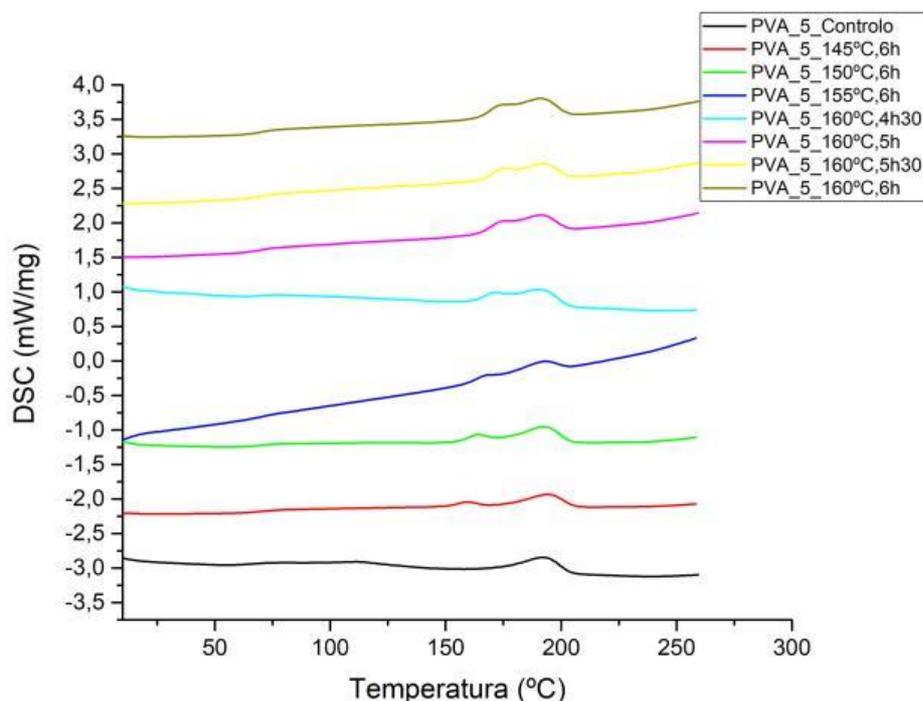


Figura 31- DSC das amostras de PVA + 5% G sujeitas a recozimento.

Tabela 19- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_5 sujeito a recozimento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_5_Controlo	0,133	63,6	26,44	192,1	20,08
PVA_5_145°C, 6h	0,226	69,8	27,81	194,2	21,12
PVA_5_150°C, 6h	0,128	69,2	36,87	192,7	28,00
PVA_5_155°C, 6h	0,197	68,3	22,95	193,7	17,43
PVA_5_160°C, 4h30	0,125	68,5	38,31	191,0	29,10
PVA_5_160°C, 5h	0,233	67,9	37,48	191,2	28,47
PVA_5_160°C, 5h30	0,181	69,2	33,39	191,8	25,36
PVA_5_160°C, 6h	0,345	69,2	42,38	190,9	32,19

De forma a ser mais simples analisar o efeito da percentagem de grafeno e dos tratamentos térmicos nas propriedades térmicas do PVA e compósitos de PVA/grafeno sujeitos a recozimento, a variação dessas propriedades também está presente sob a forma gráfica - Figura 33 à Figura 38.

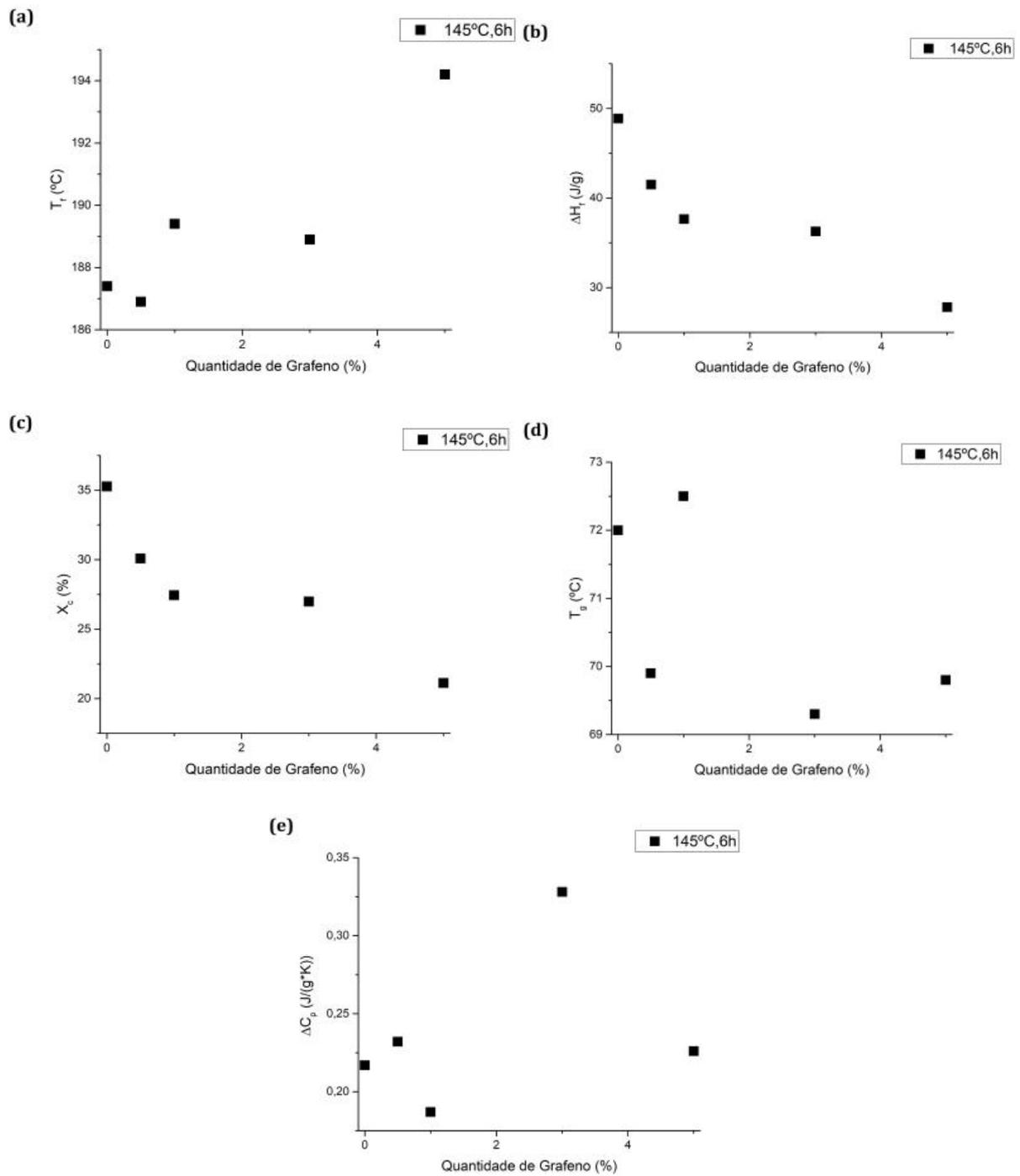


Figura 32 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 145°C, 6h.

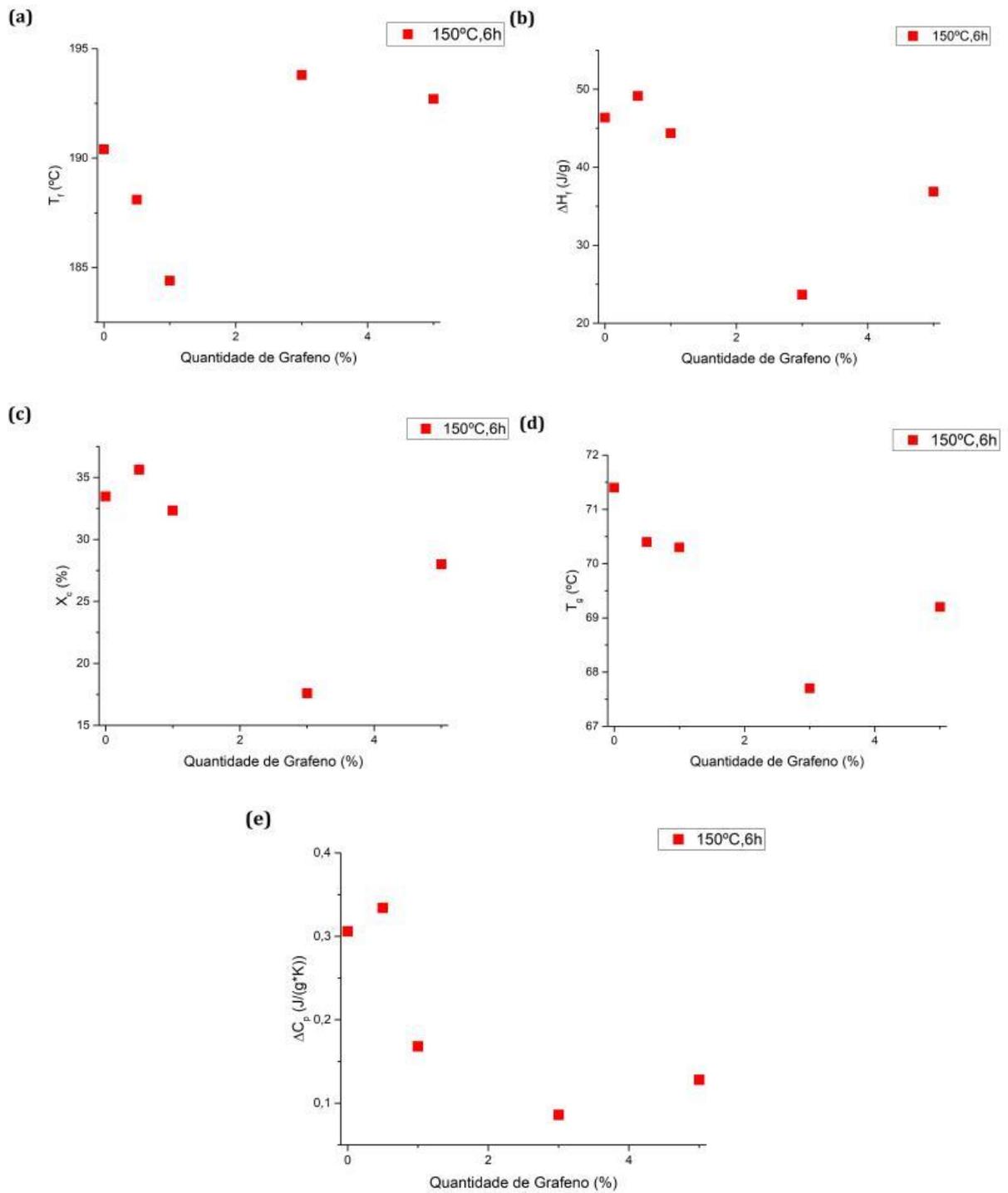


Figura 33- a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 150°C, 6h.

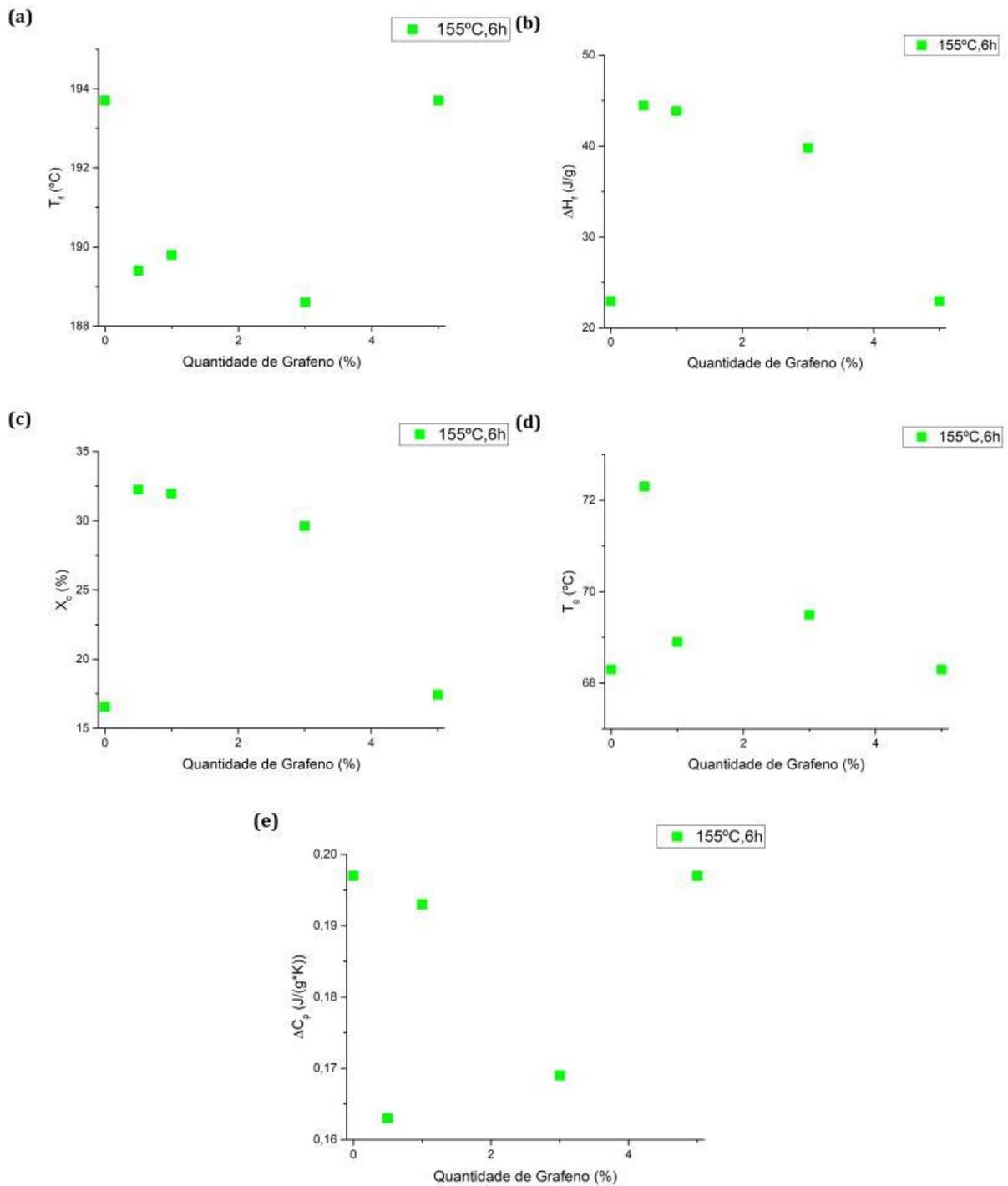


Figura 34 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 155°C, 6h.

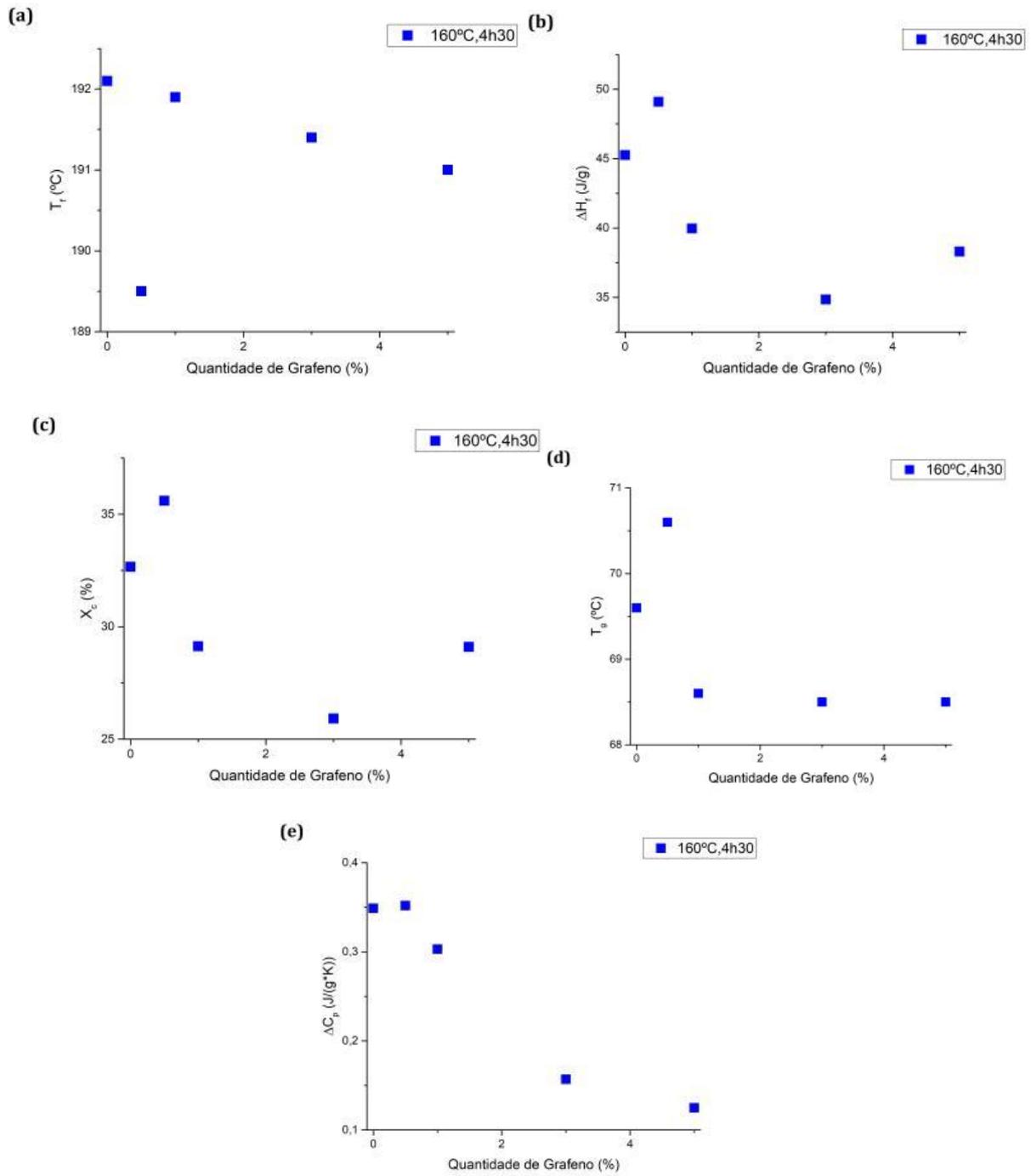


Figura 35- a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 4h30.

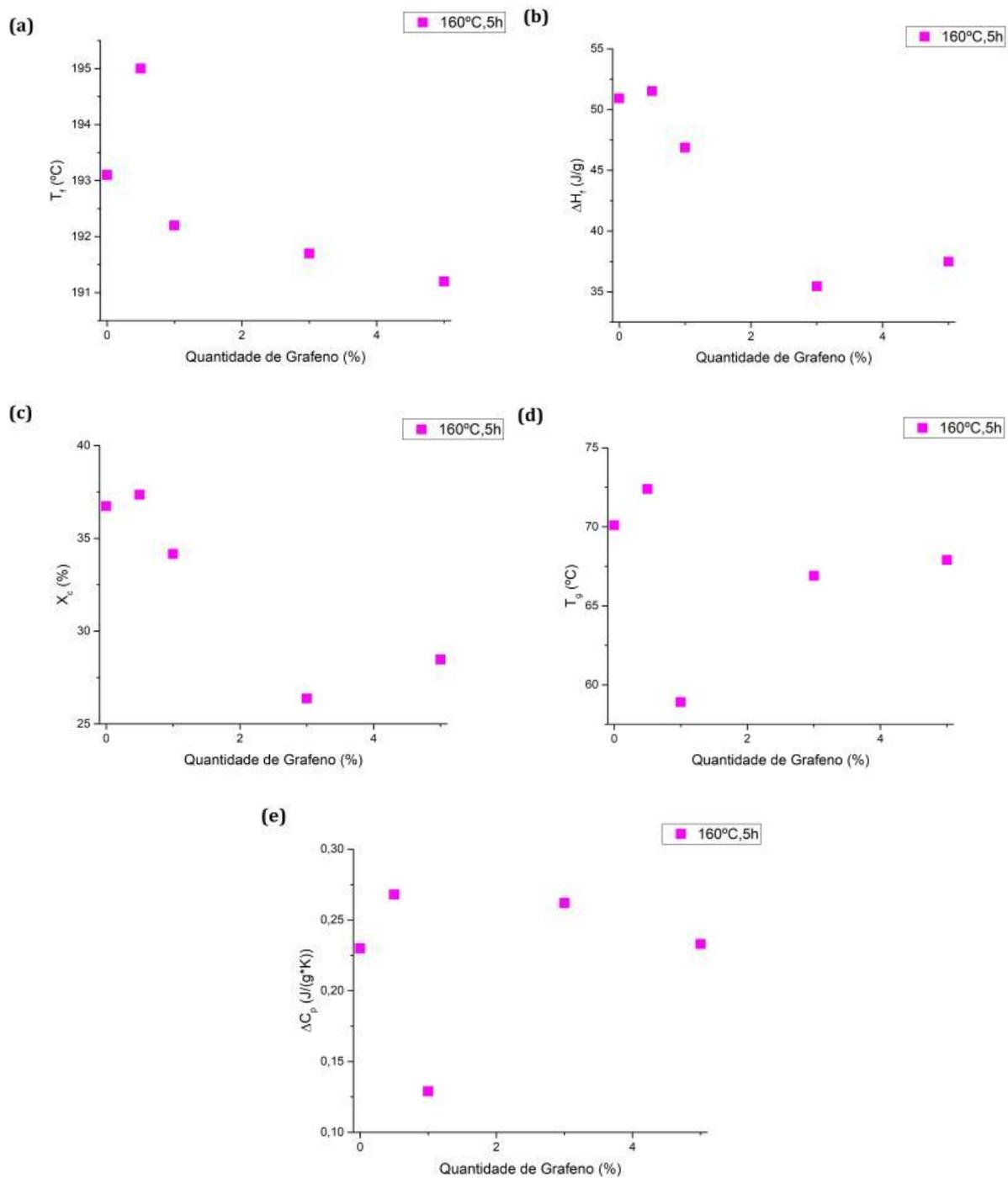


Figura 36 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 5h.

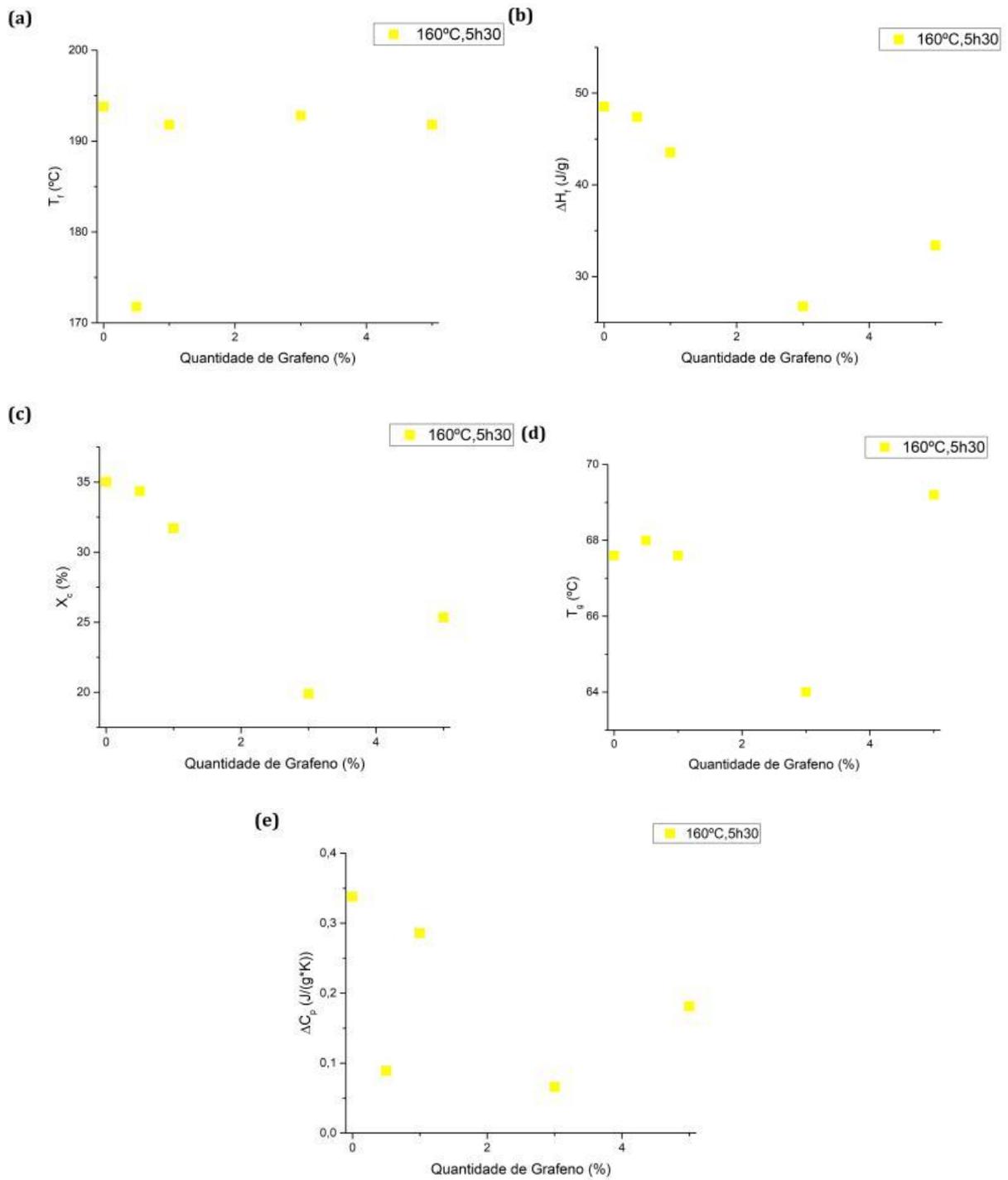


Figura 37 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 5h30.

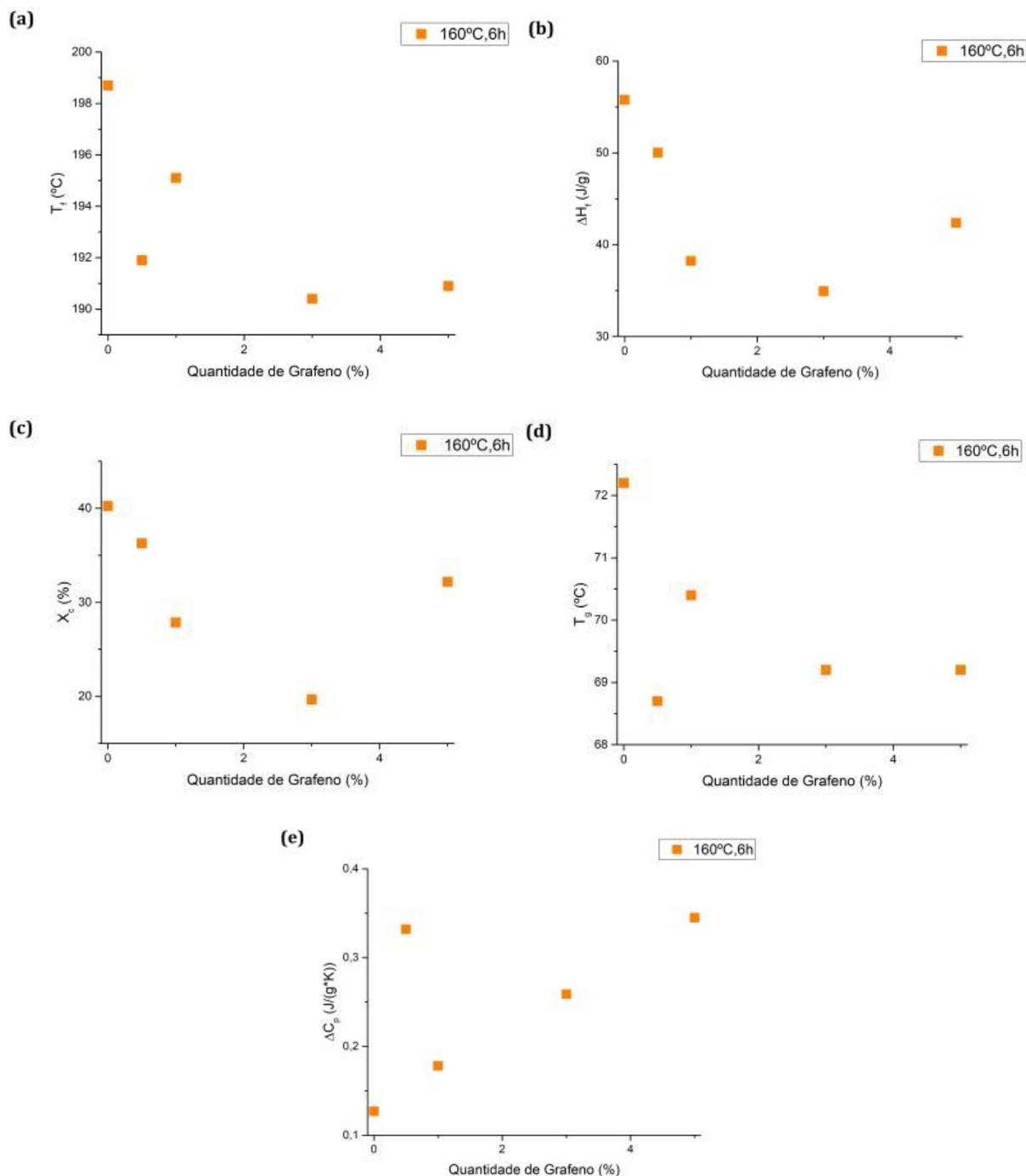


Figura 38 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 160°C, 6h.

De acordo com Fischer [5], a origem dos picos endotérmicos duplos está relacionada com a velocidade de aquecimento a que é realizado o ensaio de DSC e com a temperatura de recozimento (dado que para velocidades de aquecimento mais elevadas e temperaturas de recozimento mais elevadas não se costumam verificar picos duplos), uma vez que velocidades de aquecimento mais rápidas levam à fusão e à recristalização, enquanto que com

velocidades de aquecimento ligeiramente menores ocorre um espessamento dos cristais [5]. Assim, segundo Fischer, o primeiro pico pode ser interpretado como a fusão dos cristais originais do material e o segundo pico deve ser causado pelo material recristalizado [5].

De acordo com Fischer [5], o desvio do pico endotérmico para temperaturas mais elevadas relaciona-se não só com a temperatura mais elevada, mas também com os tempos mais elevados de recozimento. Petermann e co-autores [88], sugeriram que temperaturas e tempos elevados de recozimento, resultam em estruturas cristalinas mais espessas, assim, a temperatura de fusão aumenta com o aumento da espessura do cristal.

Como se pode observar nos gráficos, com o aumento das temperaturas de recozimento, os picos duplos são predominantes, porém, com temperatura e tempos elevados, o fator mais predominante é um desvio do pico endotérmico para temperaturas elevadas, tal como referido na referência [5]. Segundo Wong e co-autores, [89], a T_f é função da T_{ann} , ou seja, esta aumenta com o aumento da temperatura de recozimento e o mesmo pode ser verificado nos gráficos e segundo Luisa e co-autores [56], uma temperatura de recozimento elevada facilita a fusão de cristais pequenos e irregulares em detrimento de cristais maiores e mais regulares, resultando posteriormente numa necessidade de maior energia para que se dê a fusão do polímero, aumentando assim a temperatura de fusão.

O aumento de ΔH_f , ΔC_p e T_g com o aumento dos tempos de recozimento foi descrito por Schick e Androsch [90], o que é consistente com o observado desde a Figura 28 até à Figura 31 e que, de acordo com os autores, deve-se a uma solidificação parcial do sistema.

De acordo com Kishore et al. e Abdul-Majeed, Hussain e Al-Sultane [91,92], é verificado um aumento da cristalinidade (X_c) com o aumento da temperatura e do tempo de recozimento, o que é observado nas tabelas correspondentes. Este comportamento é atribuído a um aumento de densidade das regiões cristalinas, com o que faz com que o polímero apresente cristais com menos distâncias internas entre si. [92].

O aumento da cristalinidade (X_c), está diretamente relacionado com a estabilidade em água, tal como foi relatado em vários artigos [92,93]. De facto, o aumento do grau de cristalinidade de um polímero origina uma diminuição da sua solubilidade em água, pois a morfologia do polímero foi alterada. Um material na forma amorfa encontra-se num estado de energia mais elevado comparativamente à sua forma cristalina. Assim, o tratamento térmico resulta numa reorganização da estrutura (estrutura cristalina) que conduz o polímero a um estado de menor energia livre, tal como a uma diminuição de entropia. Em resultado desta diminuição de

energia livre a mobilidade no sistema diminui, verificando-se uma diminuição da solubilidade do polímero sujeito a recozimento [5,6].

Amostras de PVA e PVA/grafeno sujeitas ao recozimento com temperatura mais elevada e tempo mais longo (160°C, 6h) encontram-se representadas na Figura 39 e na Tabela 20.

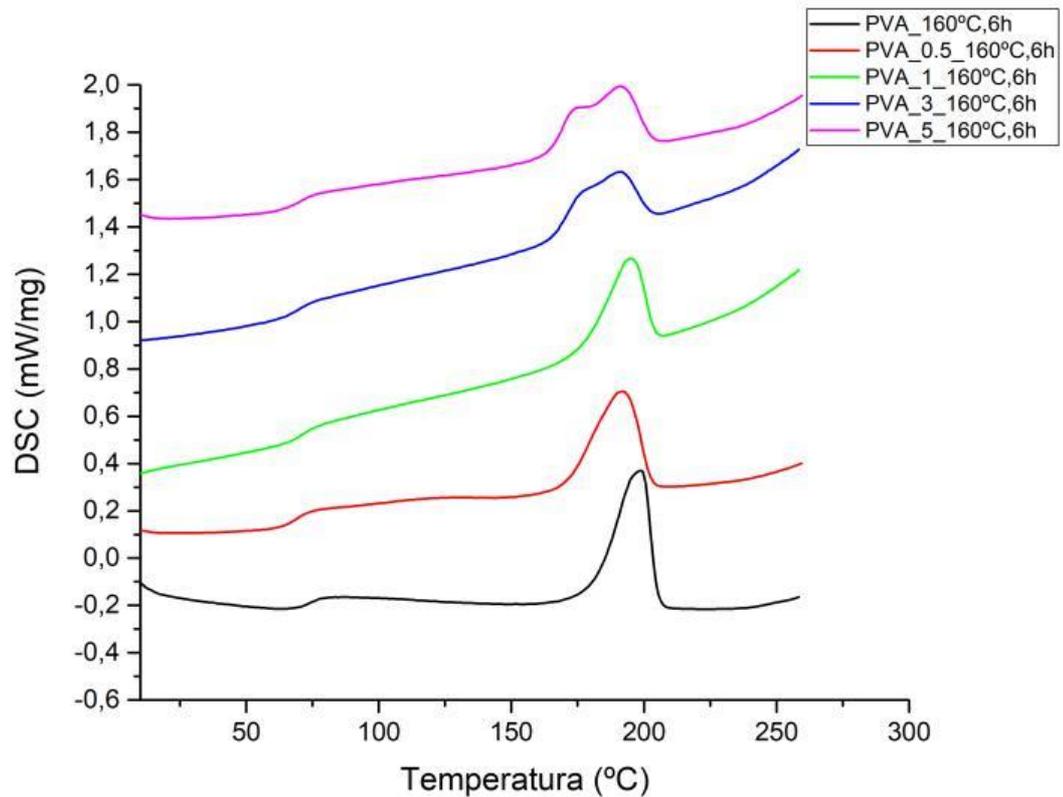


Figura 39 - DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao recozimento 160°C, 6h.

Tabela 20 - DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao recozimento 160°C, 6h.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_160°C, 6h	0,127	72,2	55,77	198,7	40,24
PVA_0.5_160°C, 6h	0,332	68,7	50,02	191,9	36,27
PVA_1_160°C, 6h	0,178	70,4	38,24	195,1	27,87
PVA_3_160°C, 6h	0,259	69,2	34,93	190,4	19,67
PVA_5_160°C, 6h	0,345	69,2	42,38	190,9	32,19

Como é possível verificar, as amostras sujeitas a 160°C, 6h apresentam uma diminuição de T_f , ΔH_f e X_c , assim, fica claro com estas amostras o efeito do grafeno na diminuição da temperatura de fusão (T_f) que não se verifica nas amostras controlo, mas que é verificado por Tantis e co-autores [87]. Em relação a ΔH_f e X_c , segundo Tantis e co-autores [87], no quais se devia verificar um aumento até $\approx 2\%$ de grafeno seguido de uma diminuição. Porém, tal como nas amostras controlo, esta relação não acontece. Pequenas quantidades de grafeno (até $\approx 2\%$) tendem a imobilizar as cadeias do polímero através de interações hidrofóbicas e/ou de ligações de hidrogénio com o grafeno. Quantidades de grafeno superiores a 2% intercalam as cadeias de PVA em forma de agregados de grafeno o que torna os cristais de PVA ainda mais pequenos [87].

4.4.3 Congelamento-Descongelamento

Nas amostras de PVA sujeitas a congelamento-descongelamento -Figura 40 e Tabela 21- observa-se uma diminuição de T_g , ΔH_f , T_f e X_c com o aumento do número dos ciclos.

As amostras PVA/ grafeno sujeitas a congelamento-descongelamento - Figura 41 à Figura 44 e Tabela 22 à Tabela 25 - apresentam no geral uma pequena diminuição de ΔH_f e X_c .

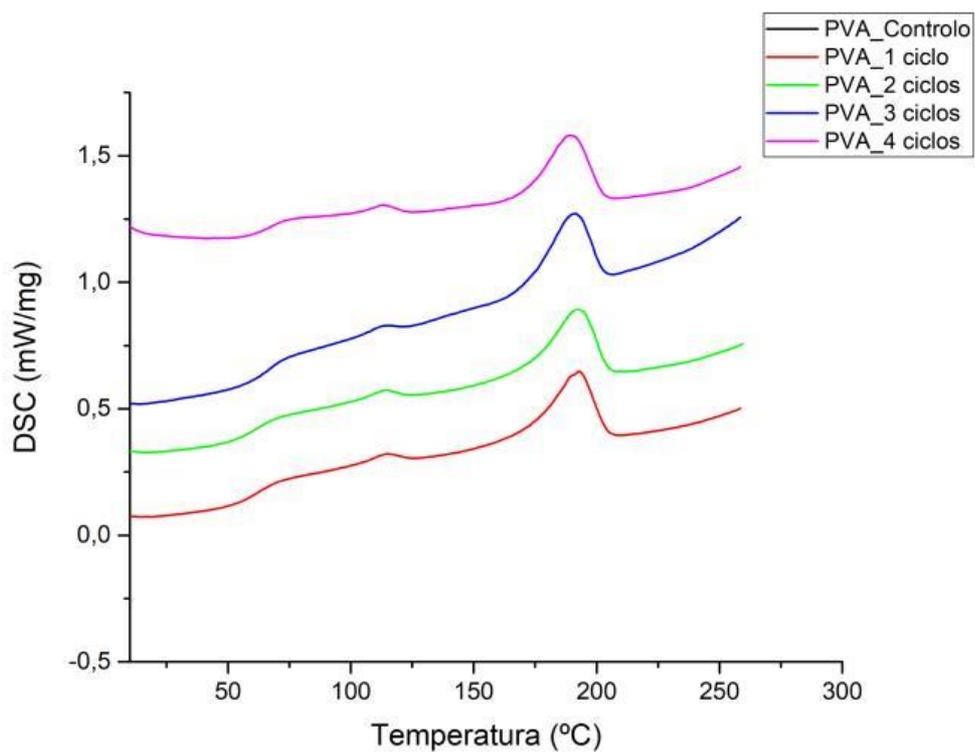


Figura 40- DSC das amostras de PVA sujeitas a congelamento-descongelamento.

Tabela 21- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA sujeito a congelamento-descongelamento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_Controlo	0,277	63,6	38,96	191,3	28,11
PVA_1 ciclo	0,053	63,5	37,15	193,0	26,80
PVA_2 ciclos	0,233	59,7	36,79	192,2	26,54
PVA_3 ciclos	0,426	64,1	33,9	191,3	24,46
PVA_4 ciclos	0,240	68,0	31,46	188,2	22,70

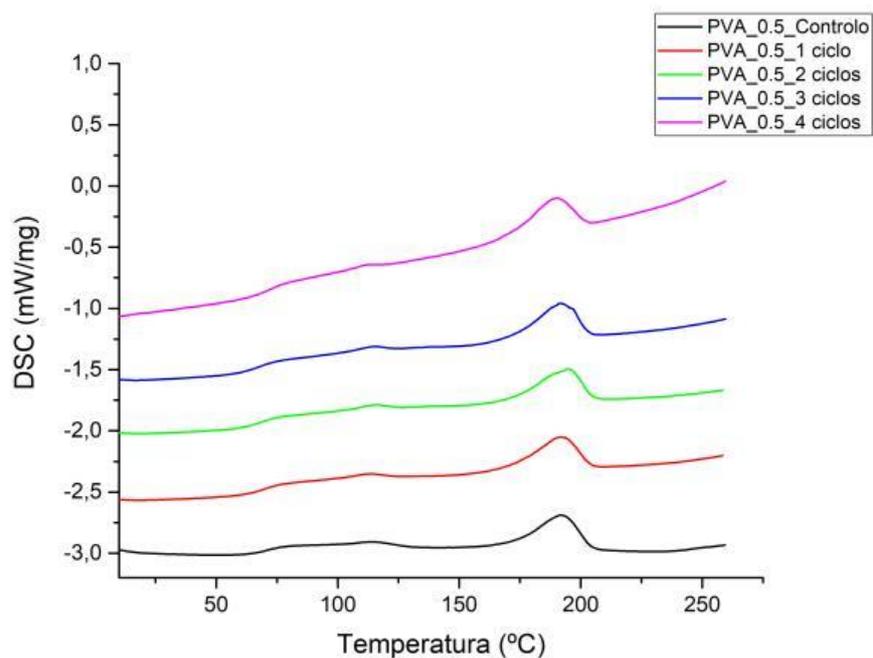


Figura 41- DSC das amostras de PVA + 0.5% G sujeitas a congelamento-descongelamento.

Tabela 22- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_0.5 sujeito a congelamento-descongelamento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_0.5_Controlo	0,339	70,2	36,75	191,7	26,65
PVA_0.5_1 ciclo	0,331	67,9	34,16	192,0	24,77
PVA_0.5_2 ciclos	0,174	63,8	33,34	194,9	24,18
PVA_0.5_3 ciclos	0,395	67,0	35,13	191,7	25,47
PVA_0.5_4 ciclos	0,355	70,0	33,91	189,9	24,59

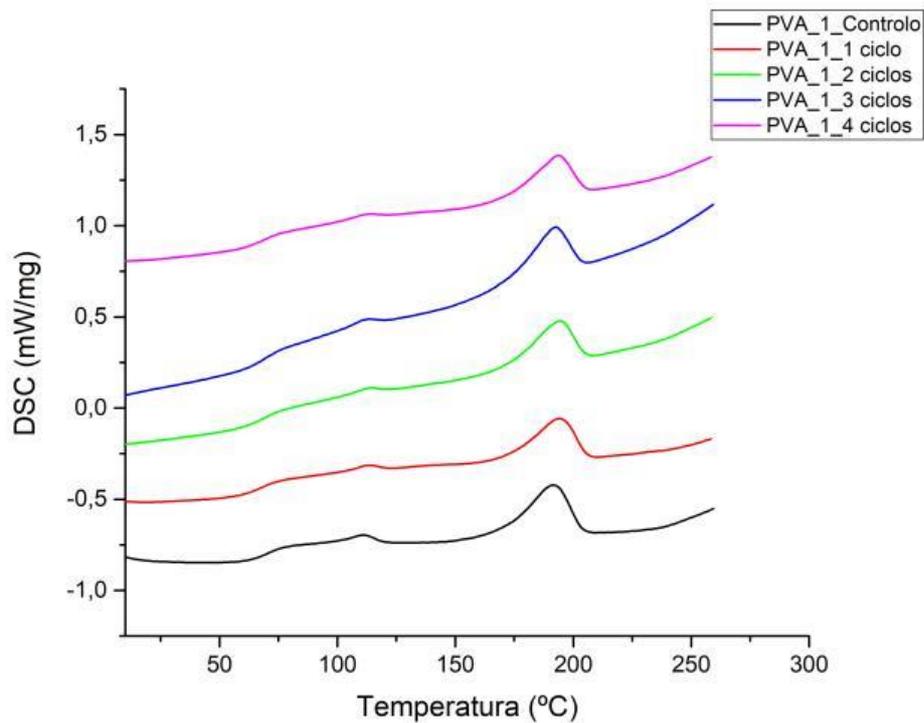


Figura 42- DSC das amostras de PVA + 1% G sujeitas a congelamento-descongelamento.

Tabela 23- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_1 sujeito a congelamento-descongelamento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_1_Controlo	0,377	68,7	37,39	191,4	27,25
PVA_1_1 ciclo	0,104	63,9	27,65	194,2	20,15
PVA_1_2 ciclos	0,319	65,2	27,91	194,6	20,34
PVA_1_3 ciclos	0,244	68,8	31,25	192,7	22,77
PVA_1_4 ciclos	0,289	66,3	26,15	193,9	19,06

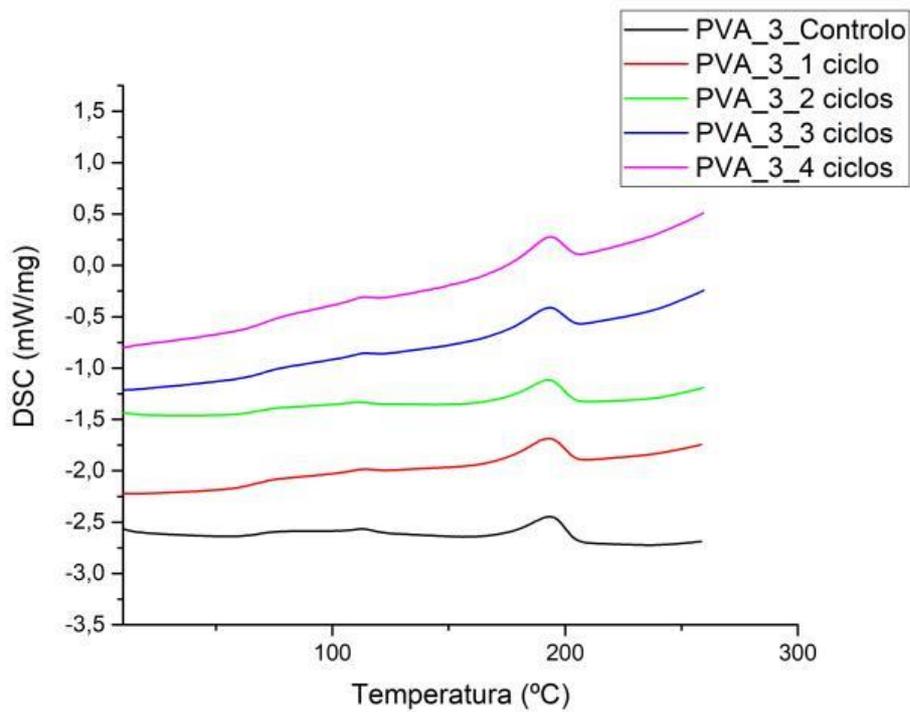


Figura 43- DSC das amostras de PVA + 3% G sujeitas a congelamento-descongelamento.

Tabela 24- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_3 sujeito a congelamento-descongelamento.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_3_Controlo	0,141	65,3	29,95	193,3	22,28
PVA_3_1 ciclo	0,262	65,3	29,04	192,9	21,60
PVA_3_2 ciclos	0,313	65,7	27,05	192,9	20,01
PVA_3_3 ciclos	0,335	65,5	26,53	193,3	19,73
PVA_3_4 ciclos	0,293	65,9	29,94	193,9	22,27

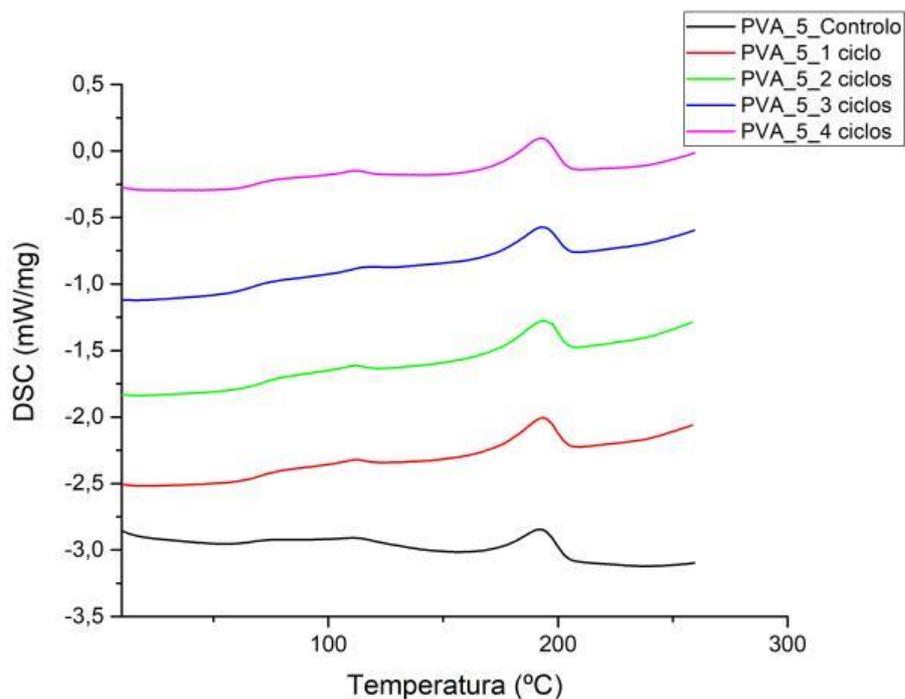


Figura 44- DSC das amostras de PVA + 5% G sujeitas a congelamento-descongelamento.

Tabela 25- Valores obtidos nos ensaios de DSC para o PVA_5 sujeito a congelamento-descongelamento

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_5_Controlo	0,133	63,6	26,44	192,1	20,08
PVA_5_1 ciclo	0,255	70,3	30,38	193,7	23,07
PVA_5_2 ciclos	0,207	66,6	29,62	193,6	20,22
PVA_5_3 ciclos	0,271	64,0	26,81	193,5	20,36
PVA_5_4 ciclos	0,255	67,2	31,51	192,8	23,93

De forma a ser mais simples analisar o efeito da percentagem de grafeno e dos tratamentos térmicos nas propriedades térmicas do PVA e compósitos de PVA/grafeno sujeitos a congelamento-descongelamento, a variação dessas propriedades também está presente sob a forma gráfica - Figura 45 à Figura 48.

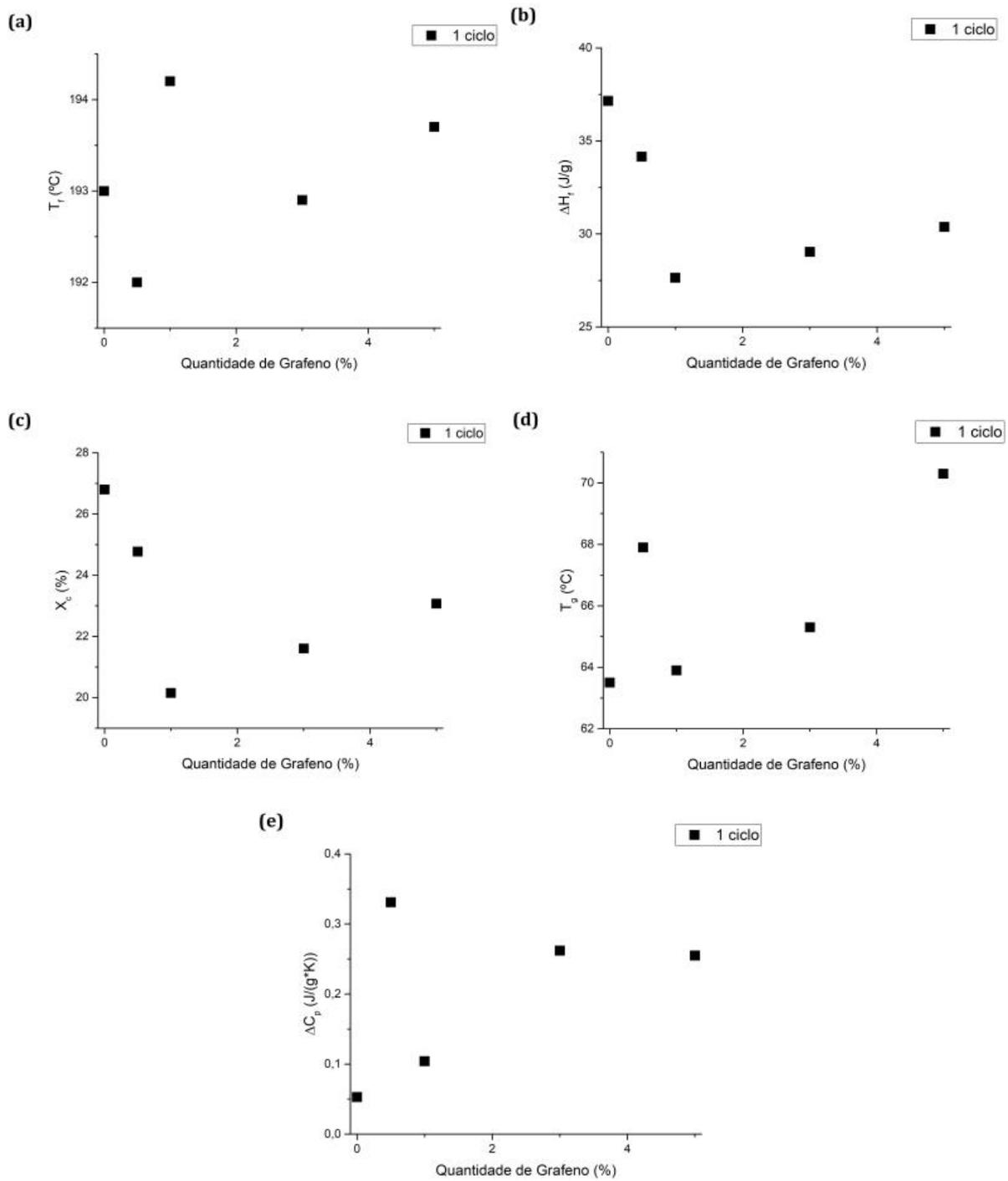


Figura 45 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 1 ciclo.

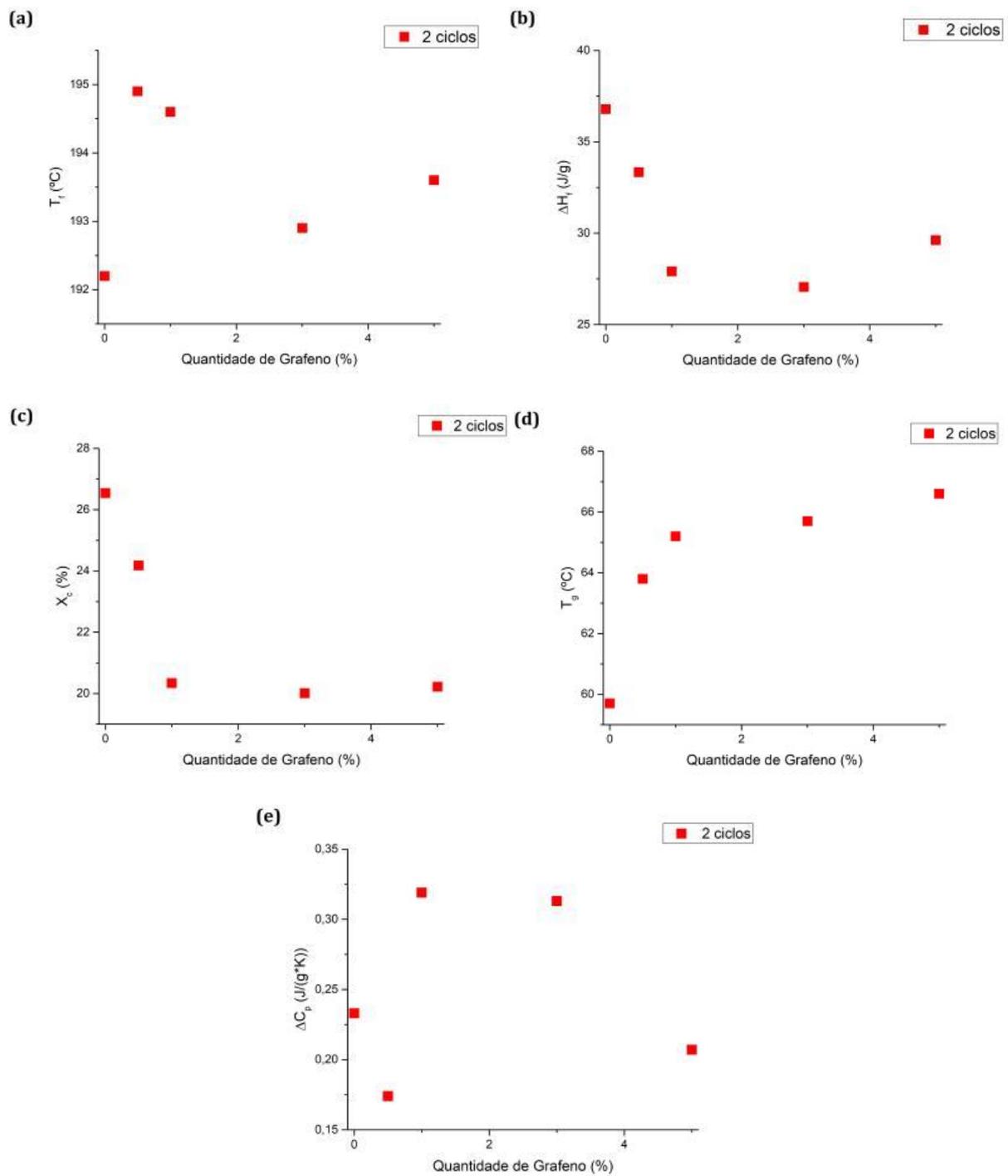


Figura 46 - a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 2 ciclos.

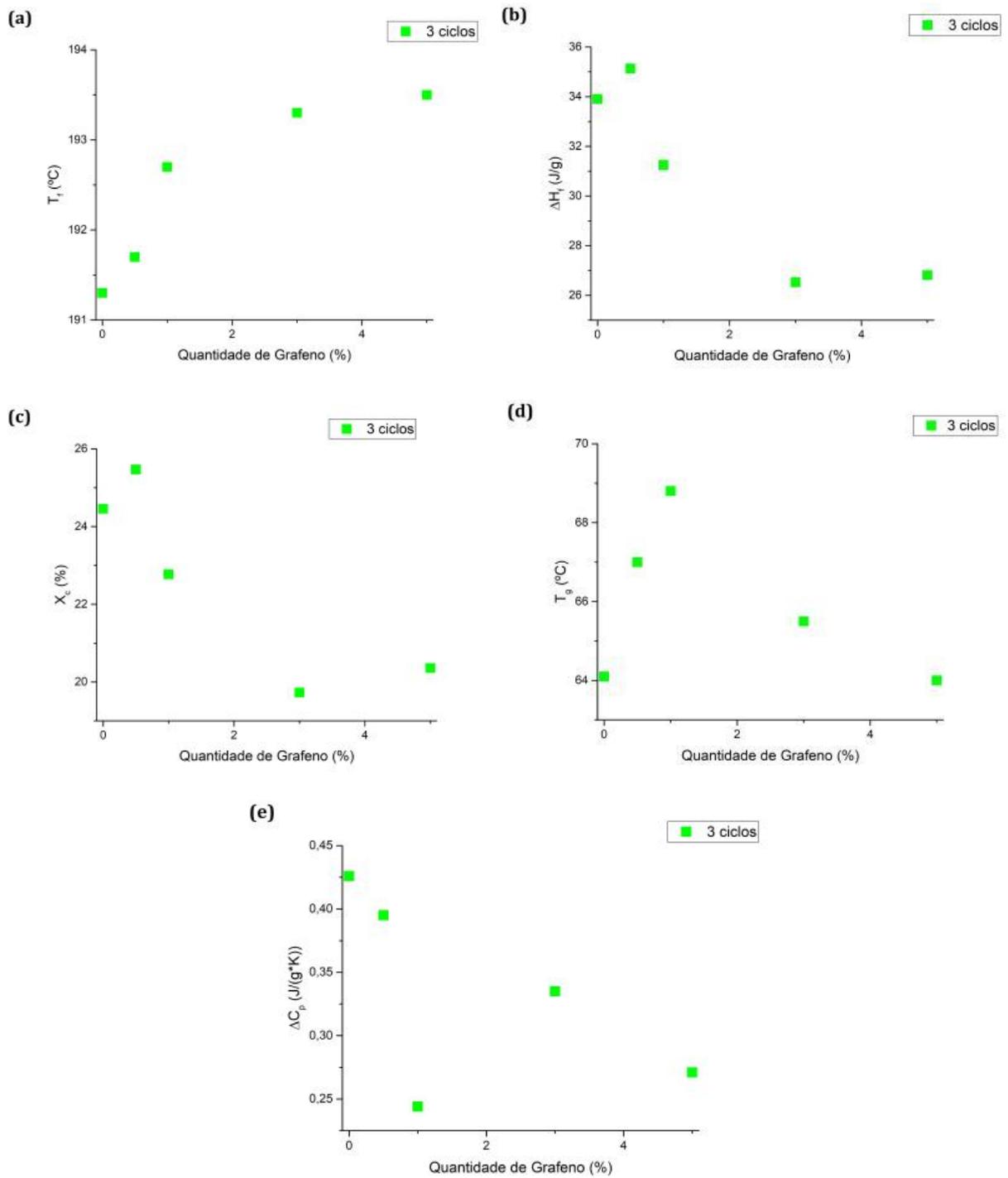


Figura 47- a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 3 ciclos.

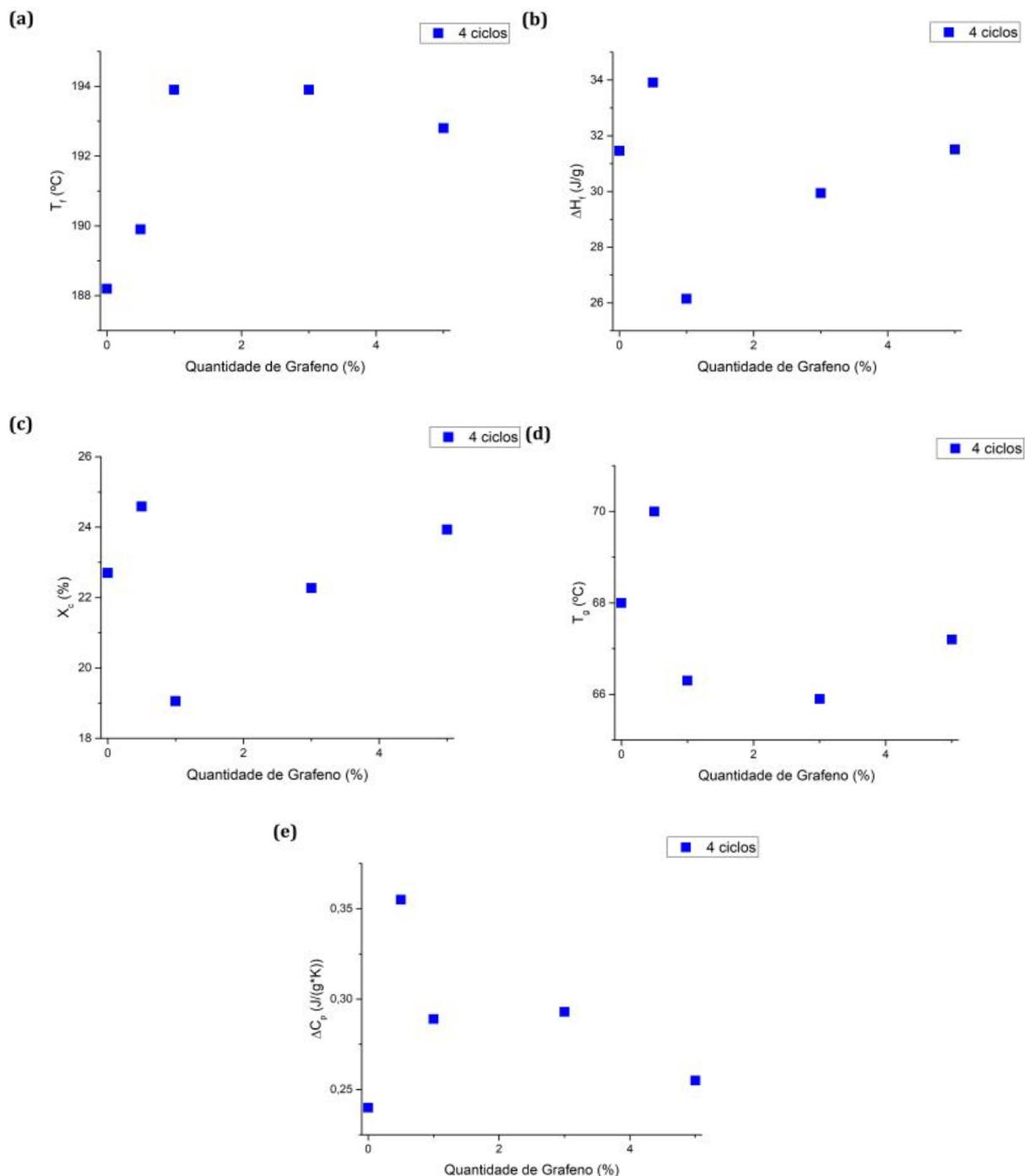


Figura 48- a) temperatura de fusão (T_f); b) entalpia de fusão (ΔH_f); c) grau de cristalinidade (χ_c); d) temperatura de transição vítrea (T_g); e e) capacidade calorífica (ΔC_p); em função da percentagem de grafeno sujeitas a 4 ciclos.

Segundo Liu e co-autores, ocorre um aumento na T_f e X_c após o tratamento por congelamento-descongelamento, que aumenta com o aumento de número de ciclos [94] dado que os grupos hidroxilo do PVA são capazes de formar pontes de hidrogénio dentro de cadeias ou entre cadeias, que leva ao crescimento de pequenas cristalites dispersas na matriz polimérica amorfa.

Com ciclos adicionais de congelamento-descongelamento, o domínio cristalino cresce, devido às pontes de hidrogénio reforçadas, que estão associadas a um aumento na rigidez da cadeia. No entanto, neste trabalho tal não foi observado. Gupta e co-autores [95] efetuaram um número de ciclos muito superior aos utilizados neste trabalho, entre 15 a 45, sendo talvez esse um dos motivos para que não se verificassem diferenças entre as amostras não tratadas e as tratadas por congelamento-descongelamento. Como não se observou um aumento de X_c , a estabilidade em meio aquoso não foi atingida com este tipo de tratamento térmico.

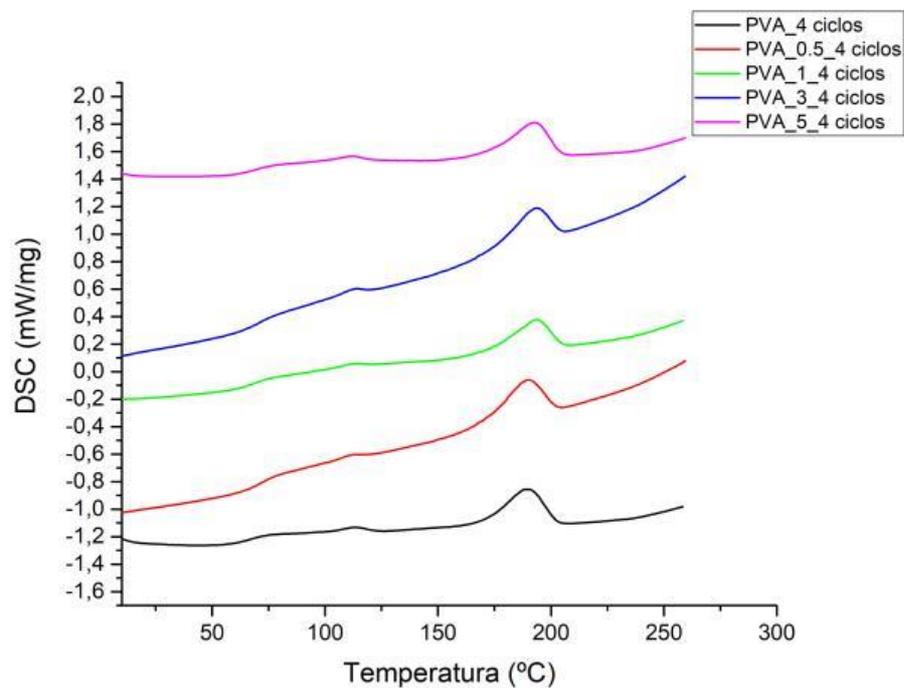


Figura 49 - DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao congelamento-descongelamento 4 ciclos.

Tabela 26- DSC das amostras de sujeitas a sujeitas ao congelamento-descongelamento 4 ciclos.

Amostra	ΔC_p (J/(g*K))	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)	X_c (%)
PVA_4 ciclos	0,240	68,0	31,46	188,2	22,70
PVA_0.5_4 ciclos	0,355	70,0	33,91	189,9	24,59
PVA_1_4 ciclos	0,289	66,3	26,15	193,9	19,06
PVA_3_4 ciclos	0,293	65,9	29,94	193,9	22,27
PVA_5_4 ciclos	0,255	67,2	31,51	192,8	23,93

Como é possível verificar, as amostras sujeitas a 4 ciclos apresentam uma estabilização generalizada de ΔC_p , T_g , ΔH_f , e X_c , assim, entende-se que nestas amostras não se verifica um aumento até $\approx 2\%$ de grafeno seguido de uma diminuição no ΔH_f e X_c , como observado por Tantis e co-autores [87]. Na tabela pode ainda verificar-se um ligeiro aumento da temperatura de fusão (T_f) com o aumento da percentagem de grafeno que também não é verificado por Tantis e co-autores que verificam uma diminuição da temperatura de fusão com o aumento da percentagem de grafeno [87].

4.5 Espetroscopia de Infravermelhos por Transformada de Fourier – ATR

Realizaram-se ensaios de FTIR - ATR nas amostras anteriormente referidas como amostras sujeitas a tratamentos térmicos, e os resultados podem ser observados na Figura 50.

Nestes ensaios apenas se caracterizaram as amostras 160°C, 6h de PVA e PVA com 0,5% de grafeno e as suas respetivas amostras controlo, uma vez que, após os ensaios de perda de massa e ensaios térmicos, estas foram as amostras com menor perda de massa e com uma variação mais significativa das propriedades térmicas.

Como é possível observar pela Figura 50, e de acordo com Mansur e co-autores [96], a banda observada entre 3550 e 3200 cm^{-1} , está relacionada com o alongamento O–H das ligações do hidrogénio intermolecular e intramolecular. A banda vibracional observada entre 3000 e 2840 cm^{-1} corresponde ao alongamento de C–H dos grupos alquilo. As bandas entre 1750 e 1735 cm^{-1} são devido ao alongamento de C=O e C–O do grupo acetato. A presença do grupo acetato deve-se à forma de produção do PVA, através da hidrólise incompleta do poli(acetato vinílico) (PVAc). O PVA utilizado neste trabalho tem um grau de hidrólise de 88% sendo que quanto maior o grau de hidrólise menor a quantidade de grupos acetatos presentes nas amostras. Com os tratamentos térmicos a concentração (intensidade da banda) dos grupos acetato não foram alterados.

Não se observa nenhuma diferença entre os diferentes espectros das amostras. Assim, os resultados de FTIR sugerem que o aumento da estabilidade do PVA em água nas amostras analisadas não parece ser devido à formação de novas ligações. No entanto a técnica de FTIR não é muito sensível e por isso não é adequada para detetar a formação de ligações químicas

em baixas concentrações. Outros autores também não observaram a formação de novas ligações com a adição do grafeno ao PVA [97] ou após recozimento do PVA [89].

Apenas é reportado um aumento de intensidade na banda dos 1140 cm^{-1} , que na Figura 50 se observa como um ombro da banda principal nas amostras sujeitas a recozimento. De acordo com Mansur e co-autores [96], a intensidade deste pico é influenciada pela fracção cristalina das cadeias poliméricas. Esta banda está relacionada com o alongamento simétrico C–C ou alongamento do C–O de uma porção da cadeia onde uma ligação de hidrogénio intramolecular é formada entre dois grupos OH vizinhos que estão no mesmo lado do plano da cadeia de carbono. A porção cristalina é dependente do número de grupos OH do precursor PVA ou, em outras palavras, do grau de hidrólise para formar as ligações de hidrogénio.

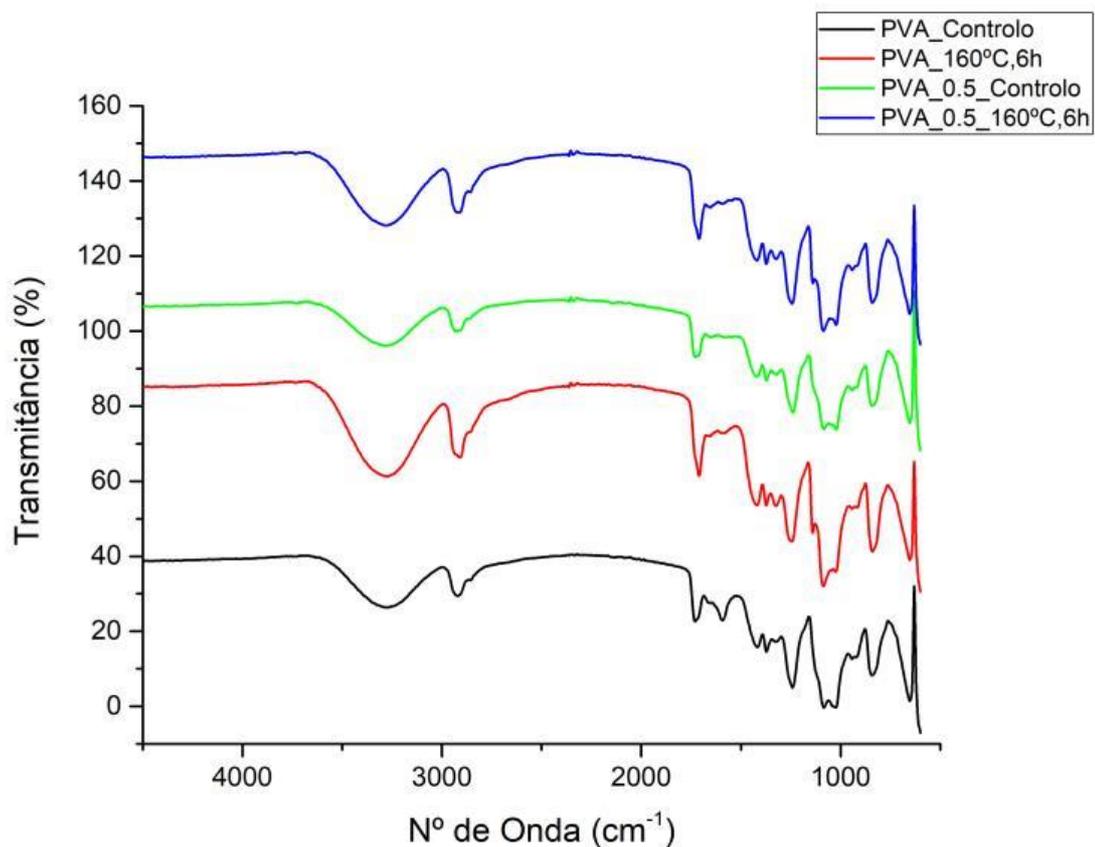


Figura 50 - FTIR-ATR das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.

4.6 Análise mecânica dinâmica

Foram realizados ensaios de análise mecânica dinâmica (DMA) para analisar o efeito da incorporação de grafeno e dos tratamentos térmicos nas propriedades mecânicas do PVA.

Nestes ensaios apenas se caracterizaram as amostras 160°C, 6h de PVA e PVA com 0,5% de grafeno e as suas respectivas amostras controlo, pelas mesmas razões explicada na secção 4.5. Os resultados de DMA são apresentados na Figura 51, Figura 52 e Figura 53. Os ensaios das amostras são mostrados individualmente no anexo I.

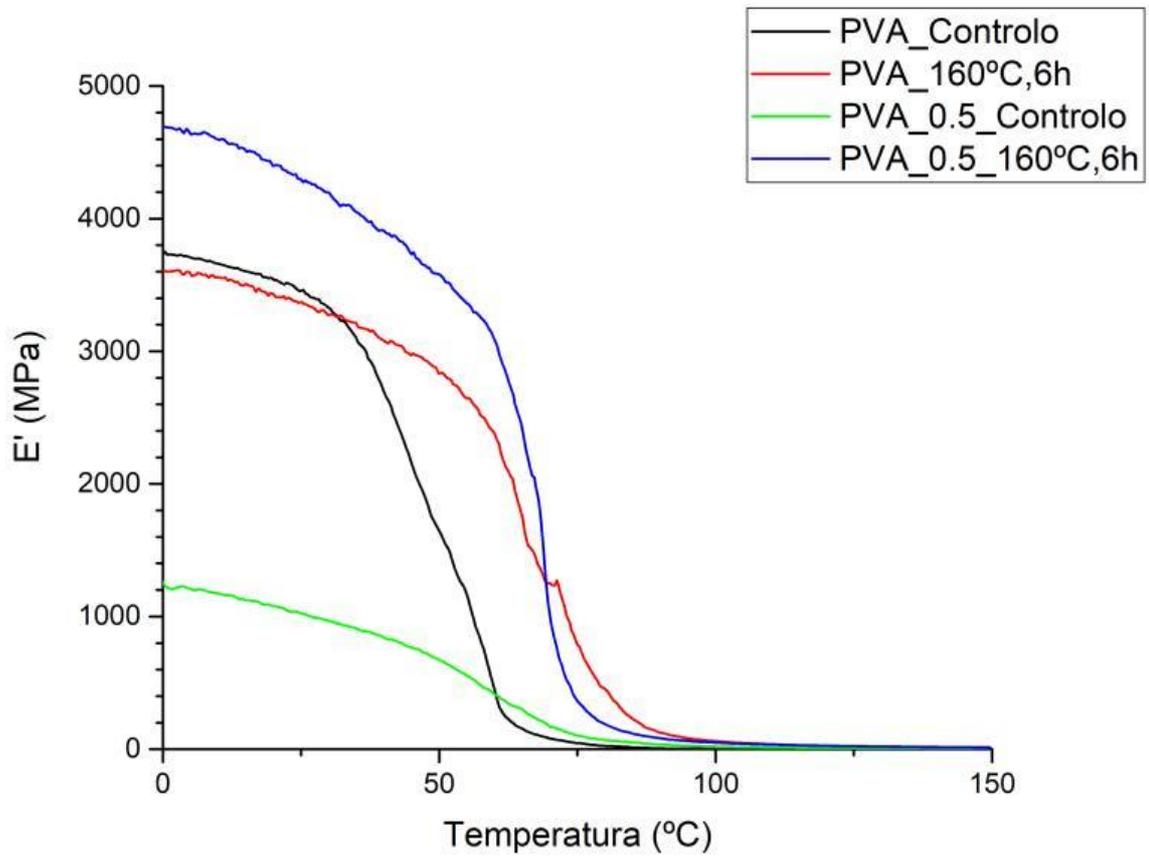


Figura 51 - Módulo elástico do DMA das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.

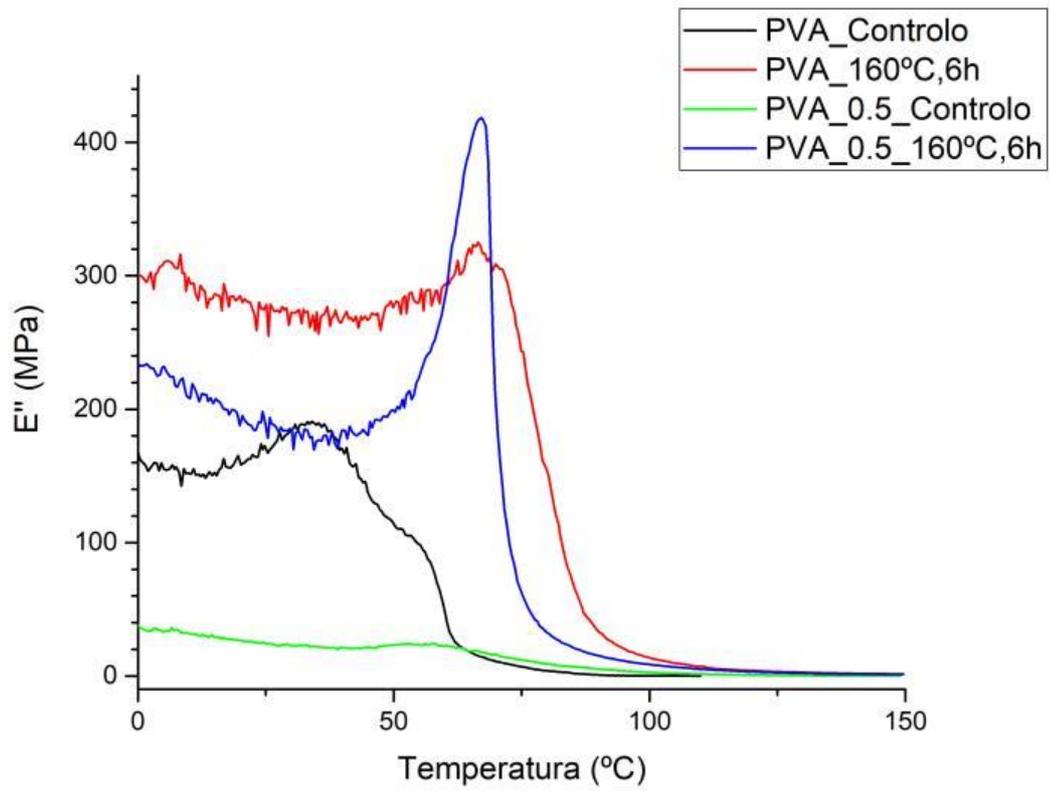


Figura 52 - Módulo dissipativo do DMA das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.

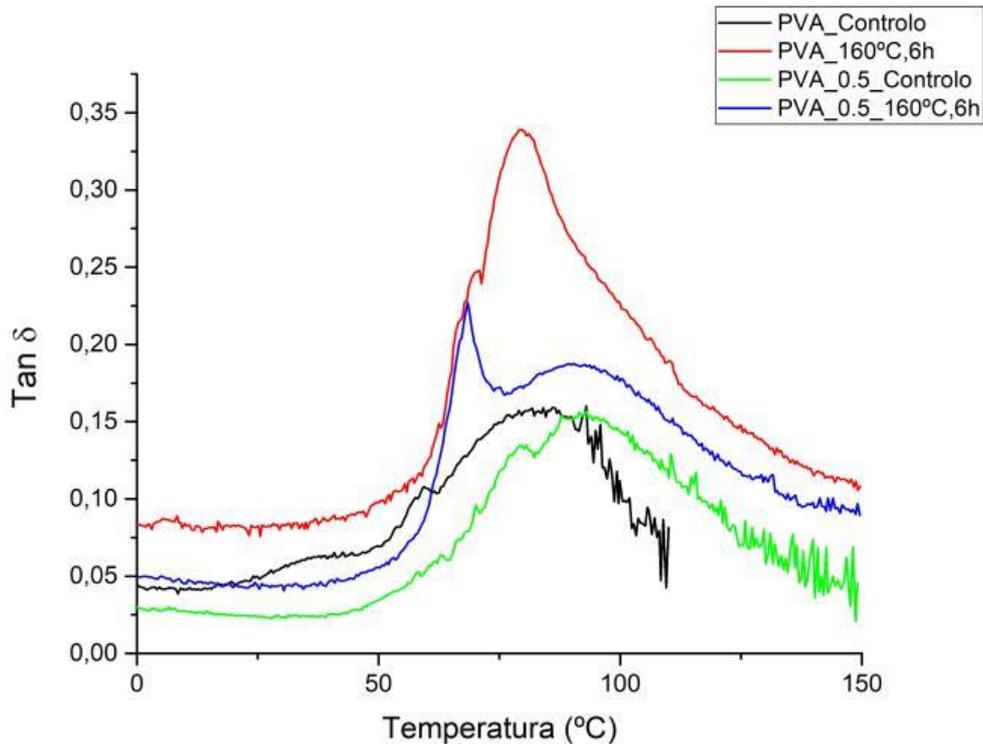


Figura 53 - Tan δ do DMA das amostras PVA_Controlo, PVA_160°C, 6h, PVA_0.5_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h.

Tal como observado nos gráficos, verifica-se um aumento do módulo elástico e do módulo dissipativo na amostra PVA_0.5_160°C, 6h em relação à respetiva amostra controlo. A amostra PVA_160°C, 6h apenas apresenta aumento do modulo dissipativo em relação à respetiva amostra controlo. Este resultado não seria de esperar uma vez que o X_c da amostra PVA_160°C, 6h é maior do que o da amostra controlo. Porém estes ensaios apenas foram realizados uma vez por amostra, não sendo assim possível saber se este é o verdadeiro comportamento da amostra recozida. Tal como se verifica pelas Figura 51 e Figura 52, E' começa a diminuir na região da transição vítrea, como seria de esperar. Verifica-se ainda uma diminuição do módulo elástico e do módulo dissipativo quando é adicionado grafeno ao PVA que pode dever-se a alguma humidade presente no PVA, uma vez que este material é bastante higroscópico, e se traduza num efeito plasticizante.

Bao, Guo, Song e Hu [74] observaram um aumento do módulo elástico quando combinaram grafeno com PVA, o que não se verificou neste trabalho. No trabalho referido, este aumento estava associado a um aumento do X_c . No entanto esse aumento de X_c não se observou na amostra PVA_0.5_Controlo, quando comparada com a amostra PVA_Controlo (Tabela 14), o

que pode explicar esta diminuição do módulo elástico. Este resultado também pode estar associado a uma dispersão heterogénea das cargas nos compósitos. De facto, segundo vários autores [29,72,74,98,99], quando não existe uma boa dispersão do grafeno na matriz do compósito formam-se aglomerados de grafeno que estão ligados entre si através de forças de Van der Waals, o que não acontece quando a dispersão do grafeno é heterogénea, uma vez que o grafeno se liga à matriz através de pontes de hidrogénio, ligações que são mais estáveis e que conseqüentemente necessitam de mais energia para serem quebradas, tornando o compósito mais estável e com melhores propriedades.

No entanto, o mesmo efeito não ocorreu com as amostras PVA_0.5_160°C, 6h e PVA_160°C, 6h uma vez que a primeira apresenta um valor de módulo elástico superior a PVA_160°C, 6h, mesmo verificando-se que PVA_0.5_160°C, 6h não apresenta valores de X_c mais elevados do que PVA_160°C, 6h (Tabela 15 e Tabela 16), o que aparenta corroborar o que é dito no artigo de Bao, Guo, Song e Hu [74], de que a adição de grafeno contribui para um aumento do módulo elástico e que, talvez a razão para a diminuição do módulo elástico das amostras PVA_0.5_Controlo em relação à amostra PVA_Controlo seja apenas humidade absorvida pelo filme anteriormente ao ensaio.

Em relação ao efeito do recozimento nas propriedades mecânicas, diferentes autores reportaram um aumento do módulo elástico em amostras sujeitas a recozimento [74,100], o que é atribuído ao aumento do X_c das amostras. O mesmo efeito foi observado nos resultados de DMA deste trabalho para a amostra PVA_0.5_160°C, 6h pois a amostra também apresentou um aumento do X_c após ser sujeita ao recozimento, tal como evidenciaram os resultados de DSC (secção 4.4.2, capítulo 4) e um posterior aumento de E' .

Em relação à $\tan \delta$, cujo pico está associado à T_g , sofreu um desvio para temperaturas mais elevadas, tal como já foi observado anteriormente [101]. A T_g aumenta com o aumento da temperatura e dos tempos de recozimento dado que temperaturas e tempos de recozimento mais longos resultam em graus de cristalinidade mais elevados, tal como pode ser comprovado através da caracterização por DSC (secção 4.4.2 do capítulo 4, Figura 27 à Figura 31 e Tabela 15 à Tabela 19) e este aumento de cristalinidade contribui para o aumento da transição vítrea [101].

4.7 Espetroscopia de Raman

Foram realizados ensaios de espectroscopia de Raman para analisar o efeito da incorporação de grafeno nos filmes compósitos de PVA e dos tratamentos térmicos nas propriedades do PVA. Nestes ensaios foram caracterizadas as amostras PVA_Controlo, PVA_0.5_Controlo, PVA_1_Controlo e PVA_0.5_160°C, 6h de forma a verificar a distribuição de grafeno nas amostras de acordo com a percentagem e a amostra PVA_0.5_160°C, 6h de forma a verificar que tipo de diferenças se encontram num espectro de Raman sujeito a recozimento. Os resultados da espectroscopia de Raman são apresentados nas Figura 54, Figura 55 e Figura 56. Nas Figura 57 e Figura 58 encontram-se os mapeamentos de distribuição de grafeno das amostras PVA_0.5_Controlo e PVA_1_Controlo, respetivamente.

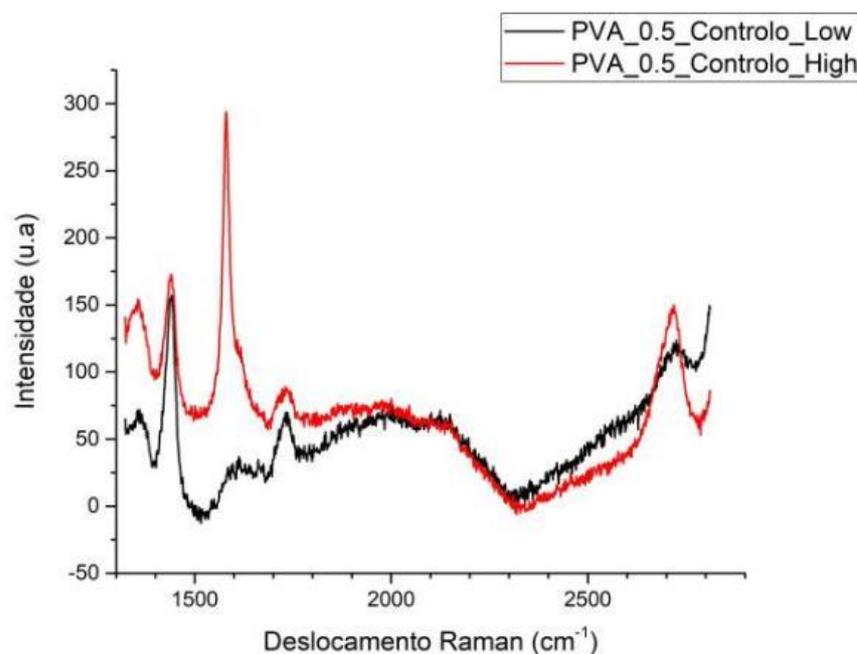


Figura 54 - Espetroscopia de Raman das zonas com menor (low) e maior (high) intensidade da banda G para a amostra PVA_0.5_Controlo.

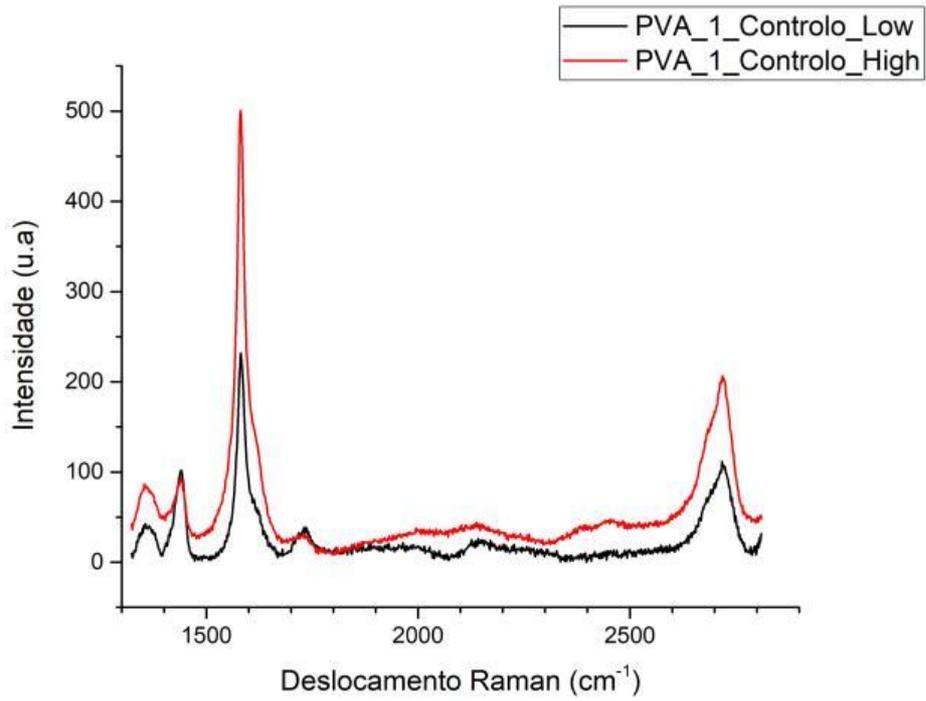


Figura 55- Espectroscopia de Raman das zonas com menor (low) e maior (high) intensidade da banda G da amostra PVA_1_Controlo.

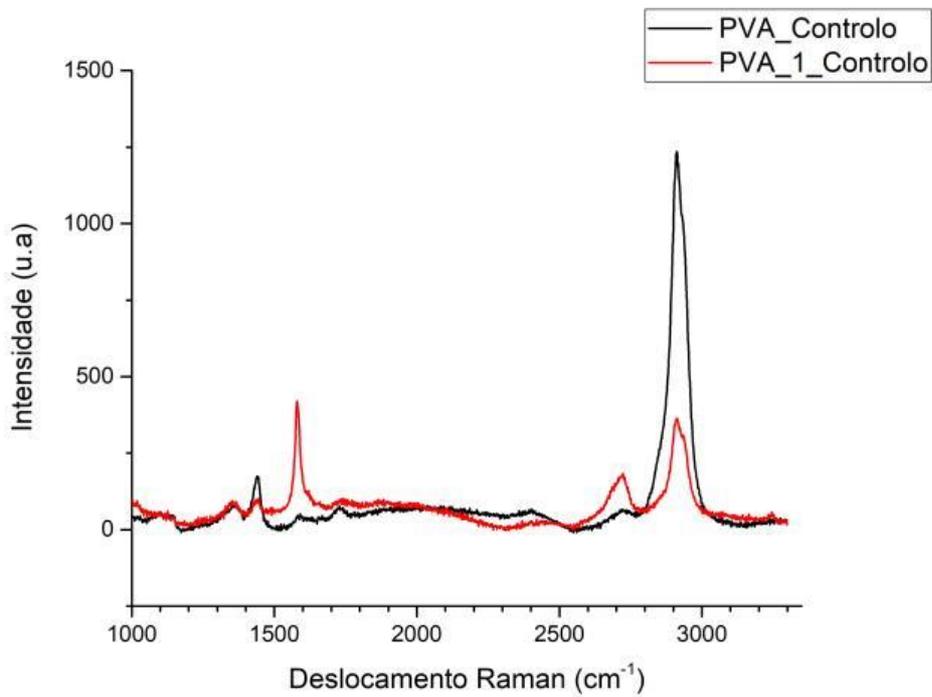


Figura 56 - Espectroscopia de Raman da PVA_Controlo e PVA_1_Controlo.

Todos os espectros (Figura 54, Figura 55 e Figura 56) mostram a presença das bandas características D, G e 2D de materiais de carbono, que estão ausentes nos filmes de PVA puro, em particular o PVA não apresenta sinal na região da banda G do material gráfitico (Figura 56).

O pico perto dos 1350 cm^{-1} corresponde ao pico da banda D, estando esta banda associada a defeitos estruturais de carbono sp^2 do grafeno. O pico que se encontra perto dos 1580 cm^{-1} corresponde à banda G [84] e está associado ao fonão E_{2g} no centro da zona Brillouin que está relacionado com a vibração plana dos átomos de carbono sp^2 [102].

A banda 2D, tem um pico a aproximadamente 2700 cm^{-1} , através dela é possível determinar o número de camadas de grafeno presente na amostra [102]. O número de camadas de grafeno pode ser estimado através da análise da relação de intensidades de pico I_{2D}/I_G , forma, largura e posição da banda 2D [102].

O espectro Raman de PVA mostra picos a 1360 cm^{-1} e 1440 cm^{-1} que correspondem à vibração das ligações C-H e O-H e ainda o pico perto de 2900 cm^{-1} que corresponde ao alongamento da ligação C-H no PVA [84]. O pico de PVA para as amostras de PVA para PVA/grafeno encontra-se aproximadamente em 2800 cm^{-1} .

Nos espectros onde se distinguem as zonas com maior e menor concentração de grafeno (Figura 54 e Figura 55), verifica-se que a banda G e a banda 2D apresentam maior intensidade nas amostras com maior concentração.

O espectro obtido dos compósitos é uma sobreposição do grafeno e PVA, e quanto maior a concentração de grafeno, mais intenso é o sinal. Para as concentrações mais baixas (Figura 54) é possível distinguir regiões em que predomina o PVA e outras em que predomina o grafeno. As Figuras 57 e 58 mostram o mapeamento de uma zona da superfície dos filmes de PVA_0.5_Controlo e PVA_1_Controlo respetivamente. Nestes mapeamentos é possível observar no tom claro a presença de grafeno (intensidade elevada da banda G) e a escuro a matriz polimérica de PVA. No filme com menor concentração identificam-se os flocos de grafeno espalhados de uma forma mais espaçada pela matriz polimérica. Na amostra com maior concentração é difícil identificar uma região em que não se encontre o sinal da banda G, com maior ou menor intensidade conforme a sua proximidade à superfície do filme.

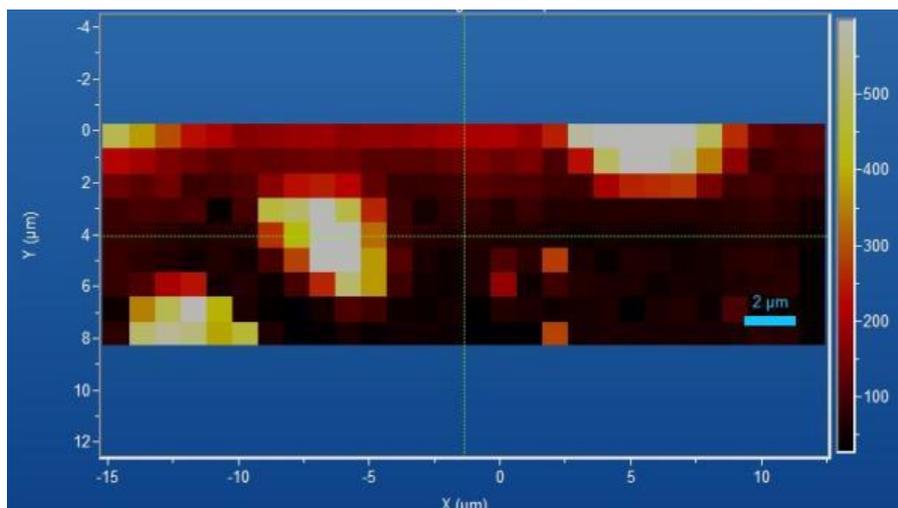


Figura 57 - Mapeamento da amostra PVA_0.5_Controlo

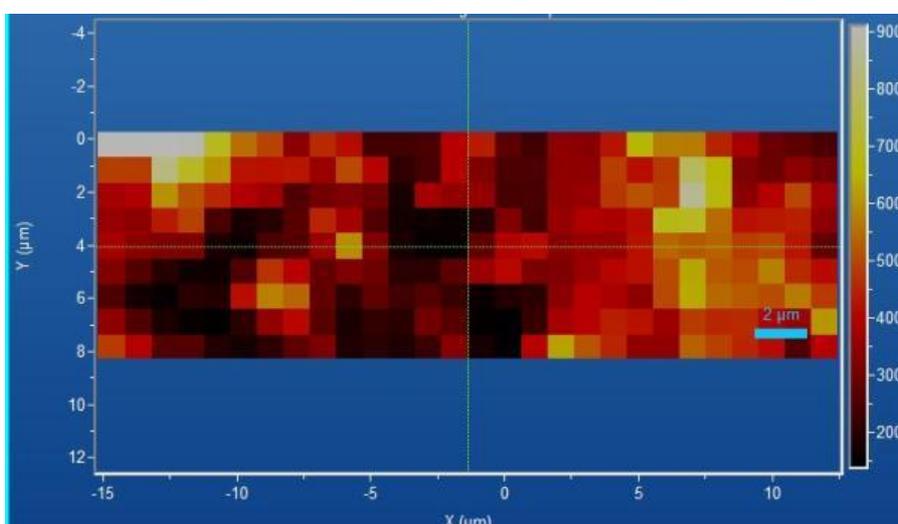


Figura 58- Mapeamento da amostras PVA_1_Controlo.

Na amostra sujeita a recozimento (Figura 59) verifica-se o fenómeno de luminescência. Embora a causa da luminescência não seja referida em muitos artigos, segundo Lu e co-autores [103], pode dever-se à presença de impurezas na amostra ou nas unidades repetitivas do polímero que contem cromóforos. Segundo Duan e co-autores [104], pode ainda dever-se a alterações na estrutura. No caso presente o filme PVA_0.5_160°C, 6h foi obtido por tratamento térmico do filme PVA_0.5_Controlo, por esse motivo é provável que o efeito de luminescência observado resulte de alterações estruturais induzidas pelo tratamento.

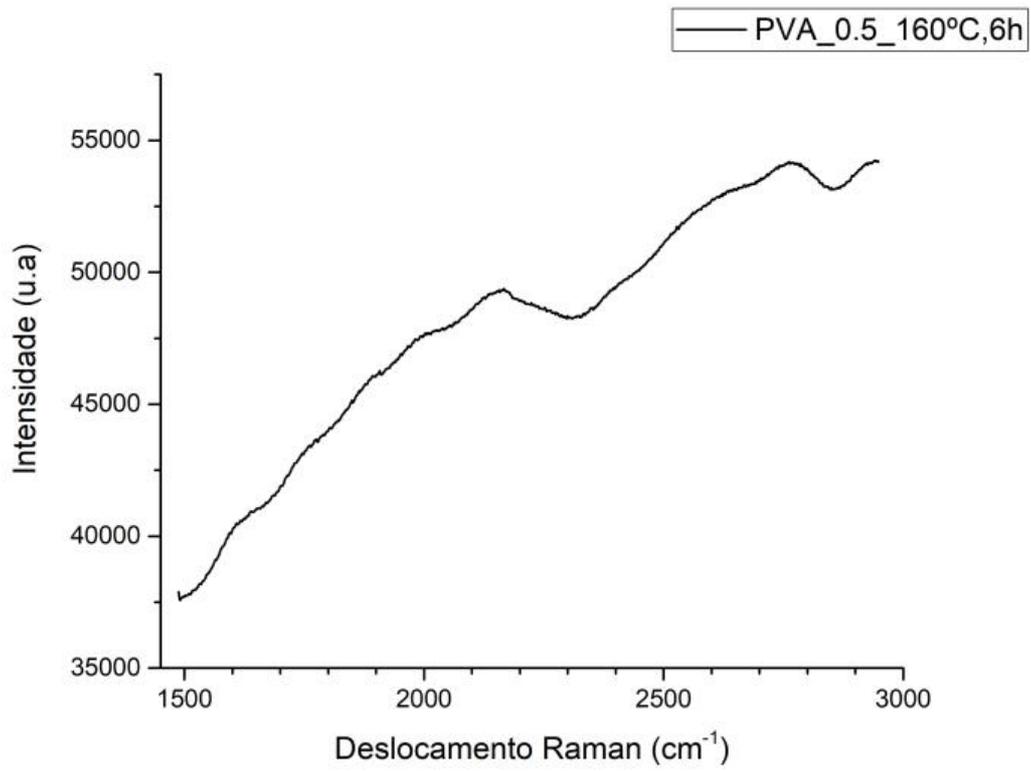


Figura 59 - Espectroscopia de Raman da amostra PVA_0.5_160°C, 6h.

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

5. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

5.1 Conclusão

No presente trabalho, filmes de PVA e PVA/grafeno foram produzidos de forma a aliar as propriedades vantajosas de ambos os materiais para aplicações biomédicas.

Para tal, três tipos de estabilização foram investigados, sendo a primeira uma estabilização química (com Genipin), na qual se concluí que as amostras obtidas não apresentavam um grau de reticulação suficiente para que estas fossem insolúveis em água, e as restantes duas estabilizações físicas (recozimento e congelamento-descongelamento).

Verificou-se que a técnica de evaporação por solvente permitiu produzir com sucesso filmes de PVA e de PVA/grafeno com 0,5%, 1%, 3% e 5% de grafeno.

Para avaliar as propriedades dos filmes, foram utilizadas várias técnicas de caracterização.

Observando o ensaio de perda de massa, é possível concluir que tanto as amostras sujeitas a estabilização química como a congelamento-descongelamento não foram bem-sucedidas, havendo sempre perda de integridade. Já nas amostras sujeitas a recozimento verificou-se que as amostras sujeitas a temperaturas e tempos mais elevados apresentavam menor perda de massa. A percentagem de grafeno apresenta influência no recozimento uma vez que apenas amostras com até ~1% de grafeno mantiveram a integridade.

Através da caracterização térmica, pela técnica de TGA é possível concluir que os filmes de PVA e PVA/grafeno começam a degradar por volta dos 250°C, porém tanto a presença de grafeno como os tratamentos térmicos fizeram diminuir a T_{onset} das amostras.

A partir dos ensaios de DSC é possível observar valores muito parecidos para as amostras controlo, diferentes daqueles encontrados na literatura apontado para uma dispersão não homogénea das partículas de grafeno na matriz e a possível existência de alguns aglomerados. Para as amostras sujeitas a recozimento verificou-se um aumento de ΔH_f e X_c observando-se picos duplos e aumento da T_f para tempos de temperaturas mais elevadas de recozimento. Para amostras sujeitas a congelamento-descongelamento não se verificaram alterações nos parâmetros calculados.

Através dos ensaios de FTIR-ATR, é possível observar que a presença de grafeno e de tratamentos térmicos não causa a formação de novas ligações no polímero. Apenas se verifica um aumento de intensidade no pico de 1140 cm^{-1} causado pelo recozimento.

Os resultados da caracterização mecânica, feita através da técnica de DMA, mostram que para a amostra PVA_0.5_160°C, 6h ocorre um aumento do E' e E'' em relação à sua respetiva amostra controlo, tal como observado na literatura, embora o mesmo aumento não ocorra na amostra PVA_160°C, 6h em que esta apenas apresenta aumento do E'' quando comparada com a sua amostra controlo. Os resultados para a amostra PVA_0.5_160°C, 6h encontram-se interligados com o aumento de cristalinidade observado no DSC, apresentando melhores resultados mecânicos do que a respetiva amostra controlo. No entanto este ensaio apenas foi realizado uma vez por amostra não se podendo tirar qualquer resultado definitivo através destes ensaios.

Os resultados da espectroscopia de Raman mostram que o grafeno foi incorporado com sucesso nas amostras de PVA apresentando todas as bandas características do grafeno. Quando sujeitas a recozimento as amostras produzem espectros com luminescência devido à alteração de cor das amostras, o que pode ser um indicador de grandes alterações a nível estrutural.

Este projeto permitiu verificar que todas as propriedades finais dos filmes PVA e PVA/grafeno sujeitas a recozimento a temperaturas e tempos mais elevados, apresentavam melhorias significativas. Assim, tanto o polímero como os compósitos apresentam características adequadas a possíveis aplicações biomédicas como *scaffolds*.

5.2 Trabalhos Futuros

De forma a explorar o potencial do PVA e PVA/grafeno para aplicações biomédicas, os seguintes tópicos são sugeridos como trabalhos futuros:

- I. Otimização do processo de produção de filmes através da exploração de métodos como o *spray coating* de forma a obter um filme homogéneo e com o mínimo de defeitos.
- II. Produzir filmes compósitos com grafeno funcionalizado de forma a melhorar, não só as propriedades do filme como a proporcionar uma melhor adesão e proliferação das células.

- III. Produzir filmes através de recozimento a temperaturas e tempos diferentes e mais elevados de forma a encontrar a temperatura e tempo ótimo para conseguir filmes com pouca perda de massa em meio aquoso.
- IV. Produzir filmes com estabilização química e física (congelamento-descongelamento) tendo em conta outras metodologias existentes na literatura de forma a verificar se podem ou não ser viáveis.
- V. Realizar estudos de biocompatibilidade, dependendo da aplicação pretendida, aumentando a diversidade de aplicações potenciais.
- VI. Realizar um estudo de mercado verificando se os custos com a produção e estabilização do PVA são viáveis para uma produção em grande escala.

BIBLIOGRAFIA

- [1] X. Tang, S.K. Thankappan, P. Lee, S.E. Fard, M.D. Harmon, K. Tran, X. Yu, Polymeric Biomaterials in Tissue Engineering and Regenerative Medicine, Elsevier Inc., 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396983-5.00022-3>.
- [2] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons, Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, 2004.
- [3] T.A.W. Wijanarko, A. Kusumaatmaja, Chotimah, Roto, K. Triyana, Effect of heat treatment on morphology and crystallinity of electrospun Poly(vinyl alcohol) nanofibers, AIP Conf. Proc. 1755 (2016). <https://doi.org/10.1063/1.4958583>.
- [4] E. Marin, J. Rojas, Y. Ciro, A review of polyvinyl alcohol derivatives: Promising materials for pharmaceutical and biomedical applications, African J. Pharm. Pharmacol. 8 (2014) 674–684. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013.3906>.
- [5] E.W. Fischer, Effect Of Annealing And Temperature On The Morphological Structure Of Polymers, Pure Appl. Chem. 31 (1972) 113–132. <https://doi.org/10.1351/pac197231010113>.
- [6] H. Grohganz, K. Löbmann, P. Priemel, K. Tarp Jensen, K. Graeser, C. Strachan, T. Rades, Amorphous drugs and dosage forms, J. Drug Deliv. Sci. Technol. 23 (2013) 403–408. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(13\)50057-8](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(13)50057-8).
- [7] H.O. Pierson, Graphite Structure and Properties, Handb. Carbon, Graph. Diamonds Fullerenes. (1993) 43–69. <https://doi.org/10.1016/b978-0-8155-1339-1.50008-6>.
- [8] F. Group, Graphite, graphene, sem data.
- [9] K.S. Novoselov, V.I. Fal'ko, L. Colombo, P.R. Gellert, M.G. Schwab, K. Kim, A roadmap for graphene, Nature. 490 (2012) 192–200. <https://doi.org/10.1038/nature11458>.
- [10] M.A. Shamekhi, H. Mirzadeh, H. Mahdavi, A. Rabiee, D. Mohebbi-Kalhari, M. Baghaban Eslaminejad, Graphene oxide containing chitosan scaffolds for cartilage tissue engineering, Int. J. Biol. Macromol. 127 (2019) 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.020>.
- [11] G. Wypych, Production of Graphene and Its Derivatives, Graphene. (2019) 9–84. <https://doi.org/10.1016/b978-1-927885-51-2.50005-5>.
- [12] N. Bouhfid, M. Raji, M. Bensalah, A. el kacem Qaiss, Functionalized Graphene and Thermoset Matrices–Based Nanocomposites, Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814548-7.00003-9>.
- [13] J.H. Warner, F. Schäffel, A. Bachmatiuk, M.H. Rummeli, Properties of Graphene, 2013. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394593-8.00003-5>.
- [14] T. Kuila, S. Bose, A.K. Mishra, P. Khanra, N.H. Kim, J.H. Lee, Chemical functionalization of graphene and its applications, Prog. Mater. Sci. 57 (2012) 1061–1105. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2012.03.002>.
- [15] J. Liu, J. Tang, J.J. Gooding, Strategies for chemical modification of graphene and applications of chemically modified graphene, J. Mater. Chem. 22 (2012) 12435–12452. <https://doi.org/10.1039/c2jm31218b>.
- [16] A.M. Pinto, I.C. Gonçalves, F.D. Magalhães, Graphene-based materials biocompatibility: A review, Colloids Surfaces B Biointerfaces. 111 (2013) 188–202. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.05.022>.
- [17] J. Liu, L. Cui, D. Losic, Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug

- delivery applications, *Acta Biomater.* 9 (2013) 9243–9257. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.08.016>.
- [18] V.C. Sanchez, A. Jachak, R.H. Hurt, A.B. Kane, Biological interactions of graphene-family nanomaterials: An interdisciplinary review, *Chem. Res. Toxicol.* 25 (2012) 15–34. <https://doi.org/10.1021/tx200339h>.
- [19] A. Bianco, Graphene: Safe or toxic? the two faces of the medal, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 52 (2013) 4986–4997. <https://doi.org/10.1002/anie.201209099>.
- [20] Y. Zhang, T.R. Nayak, H. Hong, W. Cai, Graphene: A versatile nanoplatform for biomedical applications, *Nanoscale.* 4 (2012) 3833–3842. <https://doi.org/10.1039/c2nr31040f>.
- [21] H.Y. Mao, S. Laurent, W. Chen, O. Akhavan, M. Imani, A.A. Ashkarran, M. Mahmoudi, Graphene: Promises, facts, opportunities, and challenges in nanomedicine, *Chem. Rev.* 113 (2013) 3407–3424. <https://doi.org/10.1021/cr300335p>.
- [22] D. Moura, S.G. Caridade, M.P. Sousa, E. Cunha, H.C. Rocha, J.F. Mano, M.C. Paiva, N.M. Alves, High performance free-standing films by layer-by-layer assembly of graphene flakes and ribbons with natural polymers, *J. Mater. Chem. B.* 4 (2016) 7718–7730. <https://doi.org/10.1039/c6tb02344d>.
- [23] M. Silva, S.G. Caridade, A.C. Vale, E. Cunha, M.P. Sousa, J.F. Mano, M.C. Paiva, N.M. Alves, Biomedical films of graphene nanoribbons and nanoflakes with natural polymers, *RSC Adv.* 7 (2017) 27578–27594. <https://doi.org/10.1039/c7ra04173j>.
- [24] C. Silva, S.G. Caridade, E. Cunha, M.P. Sousa, H. Rocha, J.F. Mano, M.C. Paiva, N.M. Alves, Nanostructured Biopolymer/Few-Layer Graphene Freestanding Films with Enhanced Mechanical and Electrical Properties, *Macromol. Mater. Eng.* 303 (2018) 1–16. <https://doi.org/10.1002/mame.201700316>.
- [25] T.S. Gaaz, A.B. Sulong, M.N. Akhtar, A.A.H. Kadhum, A.B. Mohamad, A.A. Al-Amiery, D.J. McPhee, Properties and applications of polyvinyl alcohol, halloysite nanotubes and their nanocomposites, *Molecules.* 20 (2015) 22833–22847. <https://doi.org/10.3390/molecules201219884>.
- [26] U. Siemann, Solvent cast technology - A versatile tool for thin film production, *Prog. Colloid Polym. Sci.* 130 (2005) 1–14. <https://doi.org/10.1007/b107336>.
- [27] M. Ali Khan, S. Ameen, A. Zia, U. Ijaz, H. Muhammad Jahanzaib, T. Sehar, B. Ali Sherazi, M. Hameed, N. Tabassum, Extraction, formulation and evaluation of fast dissolving oral films of nicotine for smoking cessation, *J. Contemp. Pharm.* 2 (2018) 6.
- [28] Indriyati, R. Yudianti, M. Karina, Development of Nanocomposites from Bacterial Cellulose and Poly(vinyl Alcohol) using Casting-drying Method, *Procedia Chem.* 4 (2012) 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2012.06.011>.
- [29] S. Mo, L. Peng, C. Yuan, C. Zhao, W. Tang, C. Ma, J. Shen, W. Yang, Y. Yu, Y. Min, A.J. Epstein, Enhanced properties of poly(vinyl alcohol) composite films with functionalized graphene, *RSC Adv.* 5 (2015) 97738–97745. <https://doi.org/10.1039/c5ra15984a>.
- [30] J. Liang, Y. Huang, L. Zhang, Y. Wang, Y. Ma, T. Cuo, Y. Chen, Molecular-level dispersion of graphene into poly(vinyl alcohol) and effective reinforcement of their nanocomposites, *Adv. Funct. Mater.* 19 (2009) 2297–2302. <https://doi.org/10.1002/adfm.200801776>.
- [31] N. Theophile, H.K. Jeong, Electrochemical properties of poly(vinyl alcohol) and graphene oxide composite for supercapacitor applications, *Chem. Phys. Lett.* 669 (2017) 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2016.12.029>.
- [32] W. Liu, H. Zhao, Y. Inoue, X. Wang, P.D. Bradford, H. Kim, Y. Qiu, Y. Zhu, Poly(vinyl

- alcohol) reinforced with large-diameter carbon nanotubes via spray winding, *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* 43 (2012) 587–592. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2011.12.029>.
- [33] C. Yu, B. Li, Morphology and properties of conducting polyvinyl alcohol hydrosulfate/graphite nanosheet composites, *J. Compos. Mater.* 42 (2008) 1491–1504. <https://doi.org/10.1177/0021998308092200>.
- [34] Q. Wu, Y. Xu, Z. Yao, A. Liu, G. Shi, Supercapacitors Based on Flexible Graphene/Polyaniline Nanofiber Composite Films, *ACS Nano.* 4 (2010) 1963–1970. <https://doi.org/10.1021/nn1000035>.
- [35] H. Kim, C.W. Macosko, Processing-property relationships of polycarbonate/graphene composites, *Polymer (Guildf).* 50 (2009) 3797–3809. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.05.038>.
- [36] M. Zahid, E.L. Papadopoulou, A. Athanassiou, I.S. Bayer, Strain-responsive mercerized conductive cotton fabrics based on PEDOT:PSS/graphene, *Mater. Des.* 135 (2017) 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.09.026>.
- [37] S. Watcharotone, D.A. Diking Sasha Stankovich, R. Pinery, I. Jung, G.H.B. Dommett, G. Evmenenko, S.E. Wu, S.F. Chen, C.P. Liu, S.T. Nguyen, R.S. Ruoff, Graphene-silica composite thin films as transparent conductors, *Nano Lett.* 7 (2007) 1888–1892. <https://doi.org/10.1021/nl070477+>.
- [38] W. Zheng, S.C. Wong, Electrical conductivity and dielectric properties of PMMA/expanded graphite composites, *Compos. Sci. Technol.* 63 (2003) 225–235. [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(02\)00201-4](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(02)00201-4).
- [39] D.U. Imaan, F.Q. Mir, B. Ahmad, Synthesis and characterization of a novel poly (vinyl alcohol)-based zinc oxide (PVA-ZnO) composite proton exchange membrane for DMFC, *Int. J. Hydrogen Energy.* (2020). <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.05.008>.
- [40] S. Singh, S. Roy, V. Singh, M. Vijayakumar, Synthesis and morphology of electrospun PVA/PLZT composite and single phase PLZT nanofibers, *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.* 176 (2011) 1099–1109. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2011.05.050>.
- [41] A. Abdal-Hay, A.S.H. Makhlof, P. Vanegas, A Novel Approach for Facile Synthesis of Biocompatible PVA-Coated PLA Nanofibers as Composite Membrane Scaffolds for Enhanced Osteoblast Proliferation, Elsevier Ltd., 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799947-0.00004-3>.
- [42] C.C. Yang, Synthesis and characterization of the cross-linked PVA/TiO₂ composite polymer membrane for alkaline DMFC, *J. Memb. Sci.* 288 (2007) 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.10.048>.
- [43] J. Kim, T. Kang, H. Kim, H.J. Shin, S.G. Oh, Preparation of PVA/PAA nanofibers containing thiol-modified silica particles by electrospinning as an eco-friendly Cu (II) adsorbent, *J. Ind. Eng. Chem.* 77 (2019) 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.04.048>.
- [44] Y. Kamal, T.L. San, I. Zulhelmi, A.A. Hannifa, Solution casting of polyvinyl alcohol-functionalized graphene nanocomposites, *Mater. Today Proc.* 17 (2019) 640–645. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.345>.
- [45] C.C. Lin, K.S. Anseth, *The Biodegradation of Biodegradable Polymeric Biomaterials*, Third Edit, Elsevier, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00061-9>.
- [46] E. Chiellini, A. Corti, S. D'Antone, R. Solaro, *Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials*, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(02\)00149-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(02)00149-1).
- [47] G. Wypych, Introduction, *Handb. Curatives Crosslinkers.* (2018) 1–2.

- <https://doi.org/10.1016/b978-1-927885-47-5.50003-0>.
- [48] N.P. Rijal, U. Adhikari, N. Bhattarai, Production of electrospun chitosan for biomedical applications, Elsevier, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100230-8.00009-1>.
- [49] B. Bolto, T. Tran, M. Hoang, Z. Xie, Crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes, *Prog. Polym. Sci.* 34 (2009) 969–981. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.05.003>.
- [50] S.N. Alhosseini, F. Moztarzadeh, A. Karkhaneh, Genipin-cross-linked poly(Vinyl alcohol) for neural scaffold, *Bioinspired, Biomim. Nanobiomaterials.* 6 (2017) 191–198. <https://doi.org/10.1680/jbibn.16.00043>.
- [51] A.A. Aly, Heat Treatment of Polymers: A Review, *Int. J. Mater. Chem. Phys.* 1 (2015) 132–140. <http://www.aiscience.org/journal/ijmcp>.
- [52] R. Liu and N. Zhao, *Advanced Materials Research*, (2012) 535–537, 473–476.
- [53] B. Manickam, R. Sreedharan, M. Elumalai, ‘Genipin’ – The Natural Water Soluble Cross-linking Agent and Its Importance in the Modified Drug Delivery Systems: An Overview, *Curr. Drug Deliv.* 11 (2014) 139–145. <https://doi.org/10.2174/15672018113106660059>.
- [54] K. Pal, A.T. Paulson, D. Rousseau, *Biopolymers in Controlled-Release Delivery Systems*, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2834-3.00014-8>.
- [55] V. Perez-Puyana, J.F. Rubio-Valle, M. Jiménez-Rosado, A. Guerrero, A. Romero, Chitosan as a potential alternative to collagen for the development of genipin-crosslinked scaffolds, *React. Funct. Polym.* 146 (2020) 104414. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104414>.
- [56] M. Luisa, D. Vona, D. Di, S. Technologie, *Encyclopedia of Membranes, Encycl. Membr.* (2015). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-40872-4>.
- [57] G. Alberti, R. Narducci, M.L. Di Vona, S. Giancola, Annealing of nafion 1100 in the presence of an annealing agent: A powerful method for increasing ionomer working temperature in PEMFCs, *Fuel Cells.* 13 (2013) 42–47. <https://doi.org/10.1002/fuce.201200126>.
- [58] C.M. Hassan, J.H. Ward, N.A. Peppas, Modeling of crystal dissolution of poly(vinyl alcohol) gels produced by freezing/thawing processes, *Polymer (Guildf).* 41 (2000) 6729–6739. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00031-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00031-8).
- [59] C.M. Hassan, N.A. Peppas, Structure and morphology of freeze/thawed PVA hydrogels, *Macromolecules.* 33 (2000) 2472–2479. <https://doi.org/10.1021/ma9907587>.
- [60] F. Lotfipour, M. Alami-Milani, S. Salatin, A. Hadavi, M. Jelvehgari, Freeze-thaw-induced cross-linked PVA/chitosan for oxytetracycline-loaded wound dressing: The experimental design and optimization, *Res. Pharm. Sci.* 14 (2019) 175–189. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.253365>.
- [61] F.J. Schoen, J.E. Lemons, *Introduction: Applications of Biomaterials*, Third Edit, Elsevier, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00064-4>.
- [62] Y. Jiang, *Poly (vinyl alcohol) for Biomedical Applications*, (2009) 115.
- [63] F. Sefat, M. Mozafari, A. Atala, *Introduction to tissue engineering scaffolds*, Elsevier Ltd, 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102563-5.00001-0>.
- [64] N. Sultana, *Mechanical and biological properties of scaffold materials*, Elsevier Ltd, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100979-6.00001-X>.
- [65] M. Okamoto, *The role of scaffolds in tissue engineering*, Elsevier Ltd, 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102563-5.00002-2>.
- [66] K.L. Collins, E.M. Gates, C.L. Gilchrist, B.D. Hoffman, *Bio-Instructive Cues in Scaffolds for Musculoskeletal Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2017.

- <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803394-4.00001-X>.
- [67] F.J. O'Brien, Biomaterials & scaffolds for tissue engineering, *Mater. Today*. 14 (2011) 88–95. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X).
- [68] P. Tomlins, Material types for tissue scaffolds, Elsevier Ltd, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-087-3.00001-8>.
- [69] K.J. Ramalingam, N.R. Dhineshbabu, S.R. Srither, B. Saravanakumar, R. Yuvakkumar, V. Rajendran, Electrical measurement of PVA/graphene nanofibers for transparent electrode applications, *Synth. Met.* 191 (2014) 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2014.03.004>.
- [70] Y. Wang, C. Shen, W. Lou, F. Shentu, Fiber optic humidity sensor based on the graphene oxide/PVA composite film, *Opt. Commun.* 372 (2016) 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2016.04.030>.
- [71] N. Golafshan, M. Kharaziha, M. Fathi, Tough and conductive hybrid graphene-PVA: Alginate fibrous scaffolds for engineering neural construct, *Carbon N. Y.* 111 (2017) 752–763. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2016.10.042>.
- [72] P. Ginestra, L. Riva, A. Fiorentino, D. Zappa, E. Comini, E. Ceretti, Electrospinning of Poly(vinyl alcohol)-Graphene oxide aligned fibers, *Procedia CIRP*. 89 (2020) 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2020.05.126>.
- [73] Y. Liu, Q. Zhang, N. Zhou, J. Tan, J. Ashley, W. Wang, F. Wu, J. Shen, M. Zhang, Study on a novel poly (vinyl alcohol)/graphene oxide-citicoline sodium-lanthanum wound dressing: Biocompatibility, bioactivity, antimicrobial activity, and wound healing effect, *Chem. Eng. J.* 395 (2020) 125059. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125059>.
- [74] C. Bao, Y. Guo, L. Song, Y. Hu, Poly(vinyl alcohol) nanocomposites based on graphene and graphite oxide: A comparative investigation of property and mechanism, *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 13942–13950. <https://doi.org/10.1039/c1jm11662b>.
- [75] T. Cheng-An, Z. Hao, W. Fang, Z. Hui, Z. Xiaorong, W. Jianfang, Mechanical properties of Graphene Oxide/Polyvinyl Alcohol Composite Film, *Polym. Polym. Compos.* 25 (2017) 11–16. <https://doi.org/10.1177/096739111702500102>.
- [76] X. Zhao, Q. Zhang, D. Chen, P. Lu, Enhanced mechanical properties of graphene-based polyvinyl alcohol composites, *Macromolecules*. 43 (2010) 2357–2363. <https://doi.org/10.1021/ma902862u>.
- [77] S. Morimune, T. Nishino, T. Goto, Poly(vinyl alcohol)/graphene oxide nanocomposites prepared by a simple eco-process, *Polym. J.* 44 (2012) 1056–1063. <https://doi.org/10.1038/pj.2012.58>.
- [78] E. De Engenharia, Sérgio Ferreira Rodrigues Films based on biodegradable polymers and graphene for biomedical applications, (2018).
- [79] S.D. Sheet, SIGMA-ALDRICH, (2018) 1–7.
- [80] P. Elmer, Thermogravimetric Analysis (TGA), (sem data) 19. https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/FAQ_Beginners-Guide-to-Thermogravimetric-Analysis_009380C_01.pdf.
- [81] T. Fisher, FTIR Sample Techniques: Attenuated Total Reflection (ATR), (sem data). <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-sample-handling-techniques/ftir-sample-handling-tec>.
- [82] T. Hatakeyama, F. Quinn, Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science, Wiley, 1995.

- [83] Horiba, What is Raman Spectroscopy?, (sem data). https://www.horiba.com/en_en/raman-imaging-and-spectroscopy/.
- [84] F. Barzegar, A. Bello, F. Mopeli, Saleh, D. Momodu¹, F. Taghizadeh¹, J. Dangbegnon¹, N. Manyala¹, Preparation and characterization of Poly(vinyl alcohol)/graphene nanofibers synthesized by electrospinning, (sem data) 1–16.
- [85] S. Deb, D. Sarkar, Effect of annealing temperature on optical properties of silver-PVA nanocomposite, *Optik (Stuttg)*. 157 (2018) 1115–1121. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2017.11.112>.
- [86] Sunaryono, A. Taufiq, N. Mufti, N. Hidayat, S. Rugmai, S. Soontaranon, E.G.R. Putra, Darminto, Analysis of Distribution of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Nanocrystalline by using SAXS Synchrotron, *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 202 (2017). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/202/1/012041>.
- [87] I. Tantis, G.C. Psarras, D. Tasis, Functionalized graphene - poly(vinyl alcohol) nanocomposites: Physical and dielectric properties, *Express Polym. Lett.* 6 (2012) 283–292. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2012.31>.
- [88] J. Petermann, M. Miles, H. Gleiter, Growth of Polymer Crystals during Annealing, *J. Macromol. Sci. Part B.* 12 (1976) 393–404. <https://doi.org/10.1080/00222347608019327>.
- [89] K.K.H. Wong, M. Zinke-Allmang, W. Wan, Effect of annealing on aqueous stability and elastic modulus of electrospun poly(vinyl alcohol) fibers, *J. Mater. Sci.* 45 (2010) 2456–2465. <https://doi.org/10.1007/s10853-010-4217-x>.
- [90] C. Schick, R. Androsch, The origin of annealing peaks in semicrystalline polymers: Enthalpy recovery or melting?, *Macromolecules.* 53 (2020) 8751–8756. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.0c01879>.
- [91] V. Kishore, X. Chen, A.A. Hassen, J. Lindahl, V. Kunc, C. Duty, Effect of post-processing annealing on crystallinity development and mechanical properties of polyphenylene sulfide composites printed on large-format extrusion deposition system, *Int. SAMPE Tech. Conf. 2019-May* (2019). <https://doi.org/10.33599/nasampe/s.19.1589>.
- [92] B.A. Abdul-Majeed, H.K. Hussain, N.A.K. Al-Sultanee, Effect of Annealing on the Crystallization of Poly Vinyl Chloride for Drug Delivery System, *Iraqi J. Chem. Pet. Eng.* 13 (2012) 29–36.
- [93] P.R. Byron, R.N. Dalby, Effects of heat treatment on the permeability of polyvinyl alcohol films to a hydrophilic solute, *J. Pharm. Sci.* 76 (1987) 65–67. <https://doi.org/10.1002/jps.2600760118>.
- [94] Y. Liu, L.M. Geever, J.E. Kennedy, C.L. Higginbotham, P.A. Cahill, G.B. McGuinness, Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 3 (2010) 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2009.07.001>.
- [95] S. Gupta, S. Goswami, A. Sinha, A combined effect of freeze-thaw cycles and polymer concentration on the structure and mechanical properties of transparent PVA gels, *Biomed. Mater.* 7 (2012). <https://doi.org/10.1088/1748-6041/7/1/015006>.
- [96] H.S. Mansur, C.M. Sadahira, A.N. Souza, A.A.P. Mansur, FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde, *Mater. Sci. Eng. C.* 28 (2008) 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.10.088>.
- [97] J.A.T. Marín, S.R. Londoño, J. Delgado, D.P.N. Porras, M.E.V. Zapata, J.H.M. Hernandez, C.H. Valencia, C.D.G. Tovar, Biocompatible and antimicrobial electrospun membranes

- based on nanocomposites of chitosan/poly (Vinyl alcohol)/graphene oxide, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019). <https://doi.org/10.3390/ijms20122987>.
- [98] H.M. Afzal, S.S.I. Mitu, M.A. Al-Harhi, Microwave radiations effect on electrical and mechanical properties of poly (vinyl alcohol) and PVA/graphene nanocomposites, *Surfaces and Interfaces*. 13 (2018) 65–78. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2018.07.006>.
- [99] N. Samadi, M. Sabzi, M. Babaahmadi, Self-healing and tough hydrogels with physically cross-linked triple networks based on Agar/PVA/Graphene, *Int. J. Biol. Macromol.* 107 (2018) 2291–2297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.104>.
- [100] X. Wang, X. Liu, H. Yuan, H. Liu, C. Liu, T. Li, C. Yan, X. Yan, C. Shen, Z. Guo, Non-covalently functionalized graphene strengthened poly(vinyl alcohol), *Mater. Des.* 139 (2018) 372–379. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.11.023>.
- [101] Z. Yang, H. Peng, W. Wang, T. Liu, Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites, *J. Appl. Polym. Sci.* 116 (2010) 2658–2667. <https://doi.org/10.1002/app>.
- [102] L.M. Malard, M.A. Pimenta, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus, Raman spectroscopy in graphene, *Phys. Rep.* 473 (2009) 51–87. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2009.02.003>.
- [103] P. Lu, J. Ding, R. Cheng, R. Qian, Suppression of fluorescence in raman spectroscopy of chromophore-containing polymer samples, *Macromol. Rapid Commun.* 15 (1994) 835–840. <https://doi.org/10.1002/marc.1994.030151105>.
- [104] A. Duan, S. An, J. Xue, X. Zheng, Y. Zhao, Absorption, fluorescence, Raman spectroscopic and density functional theoretical studies on the singlet and triplet excited state decay of 3-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole, *RSC Adv.* 10 (2020) 13442–13450. <https://doi.org/10.1039/d0ra01628d>.

ANEXO I – DMA

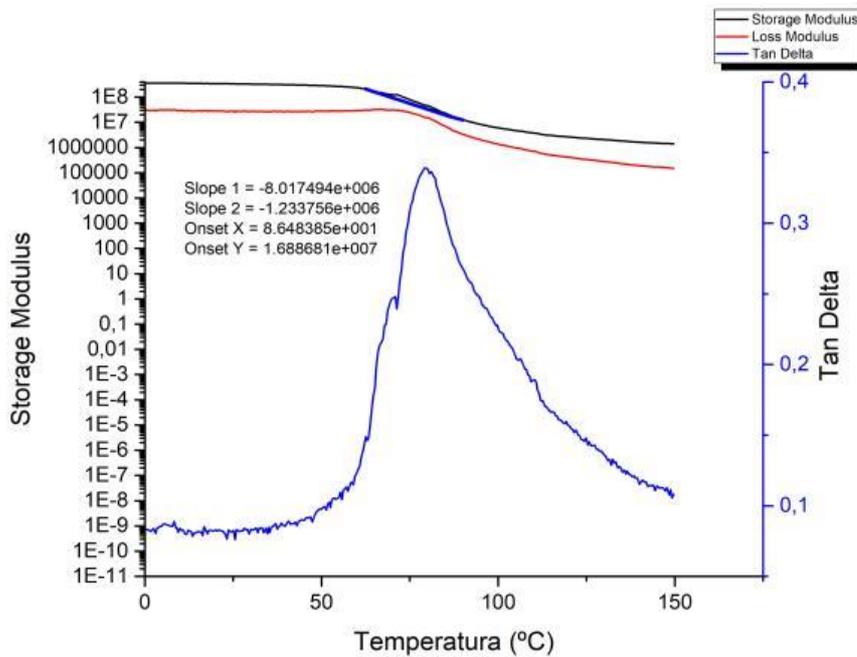


Figura 60 - DMA ao PVA_Controlo

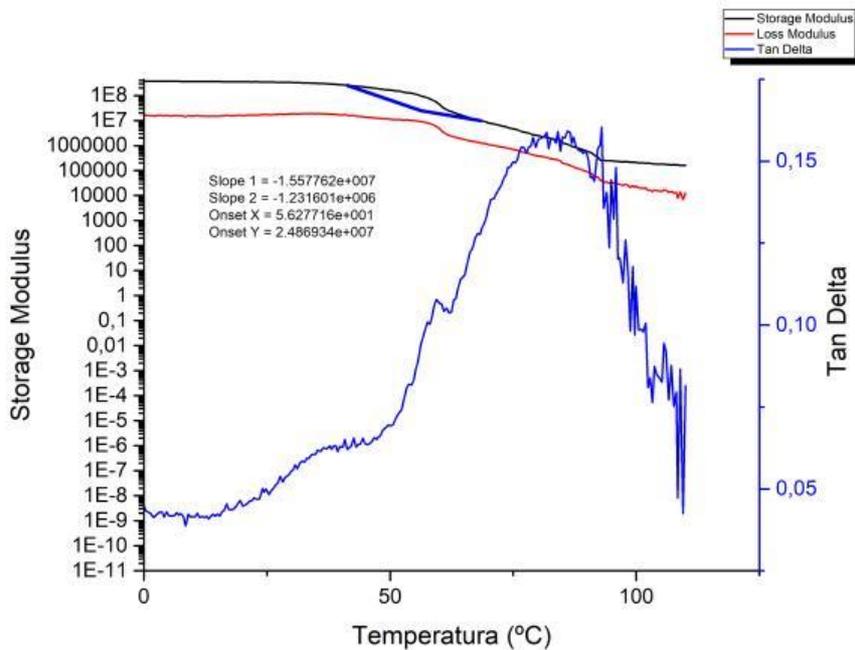


Figura 61 - DMA ao PVA_160°C,6h.

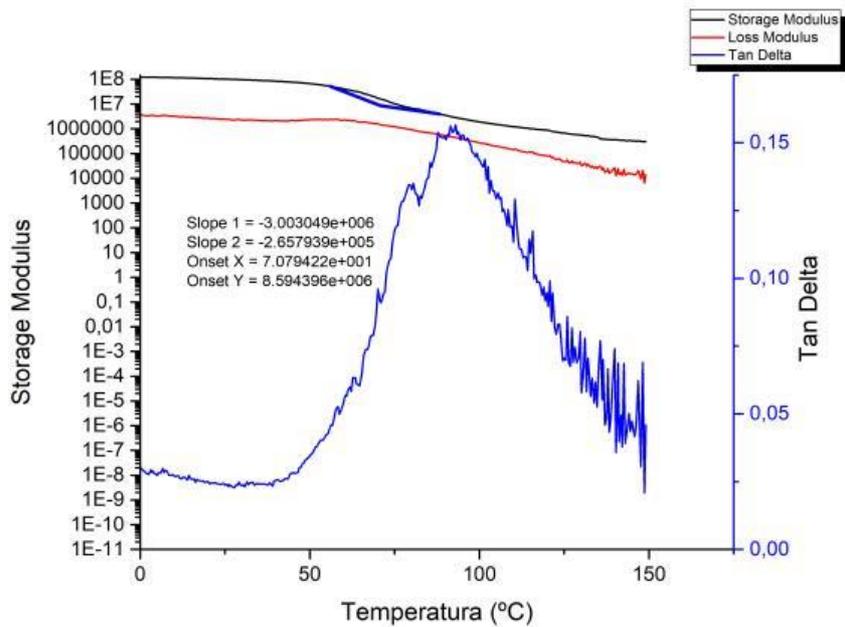


Figura 62 - DMA ao PVA_0.5_Controlo

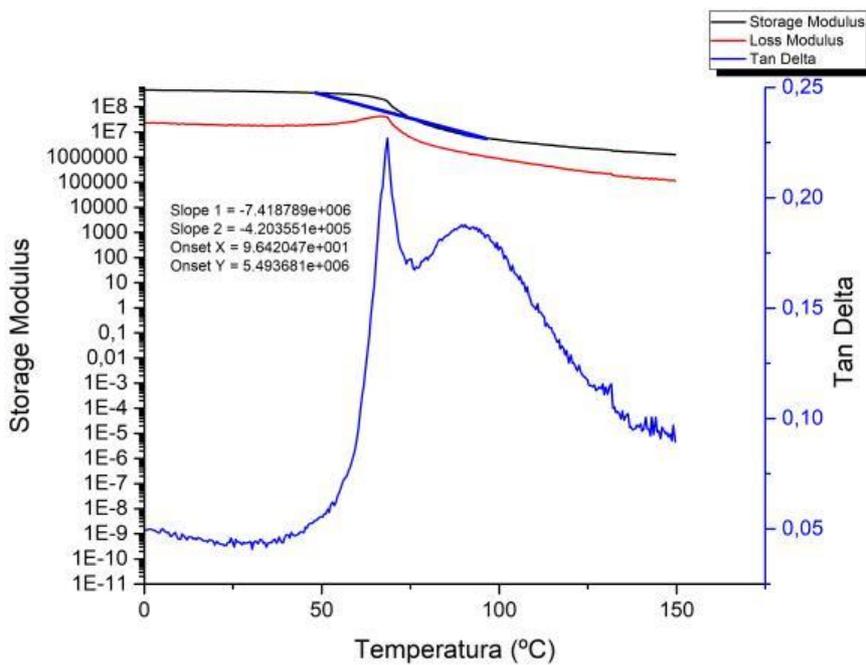


Figura 63 - DMA ao PVA_0.5_160°C,6h.

ANEXO II- TERMOGRAVIMETRIA-TGA

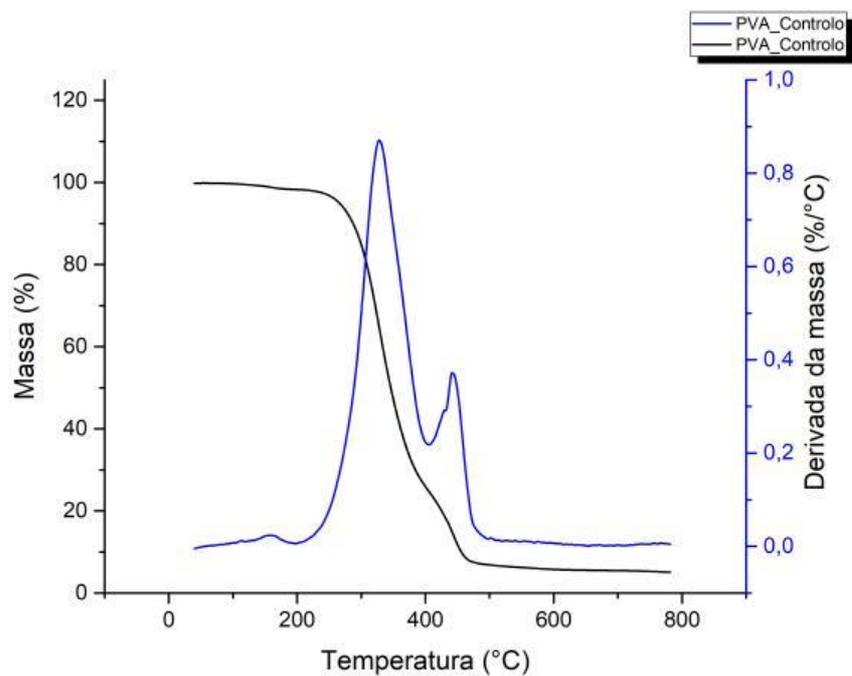


Figura 64 - TGA do PVA_Controlo

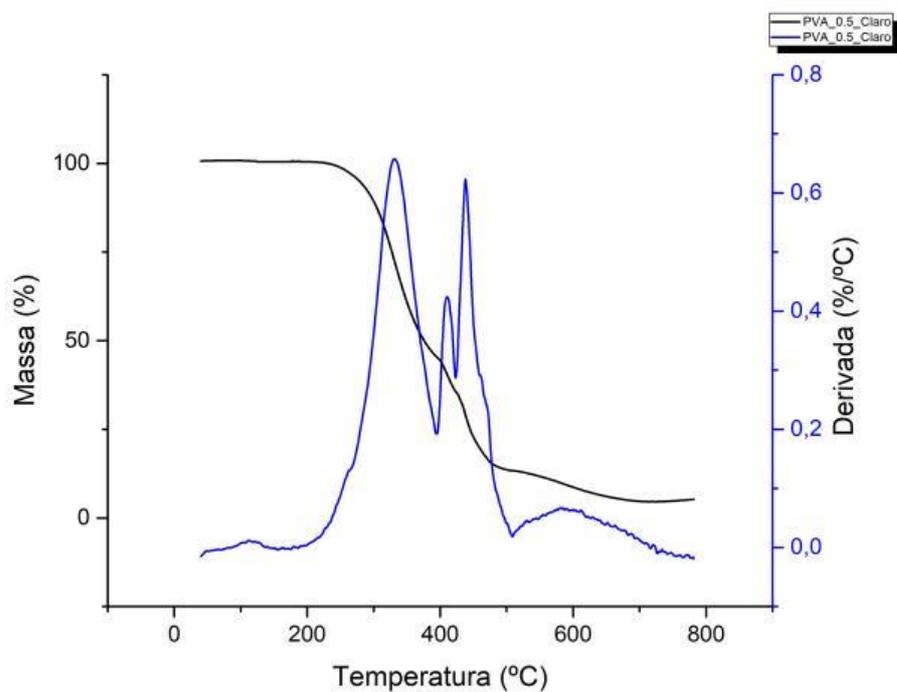


Figura 65- TGA do PVA_0.5_Controlo

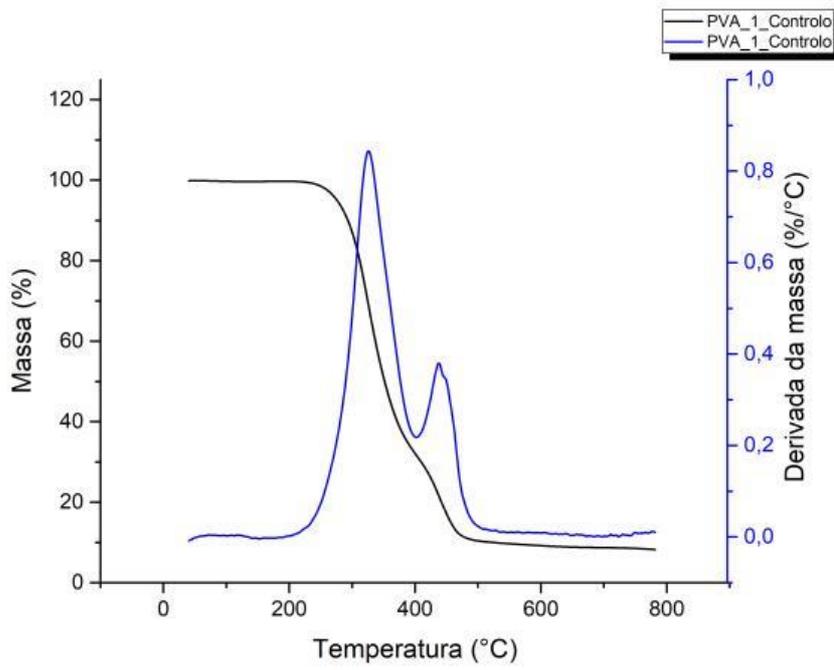


Figura 66- TGA do PVA_1_Controlo

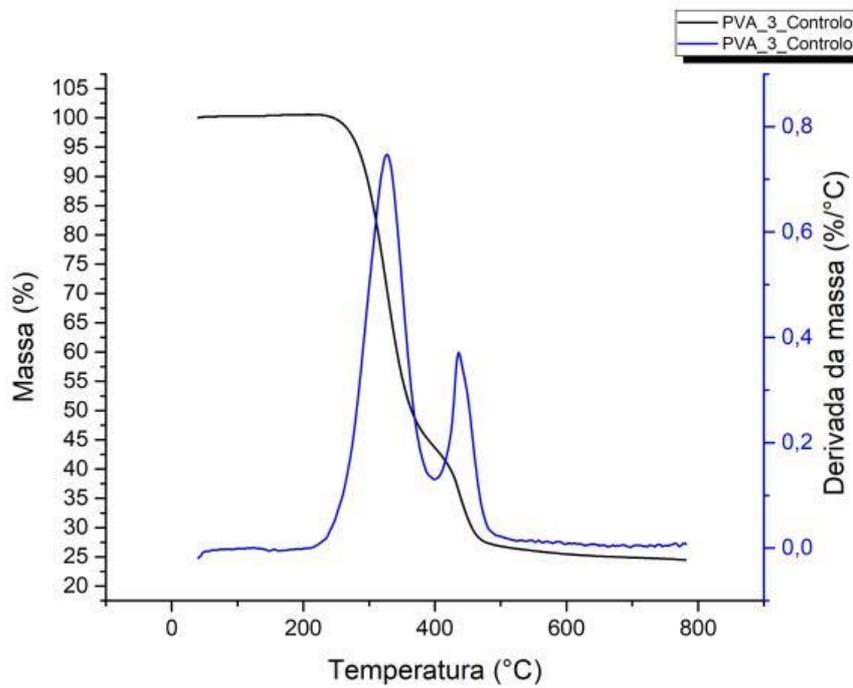


Figura 67 - TGA do PVA_3_Controlo.

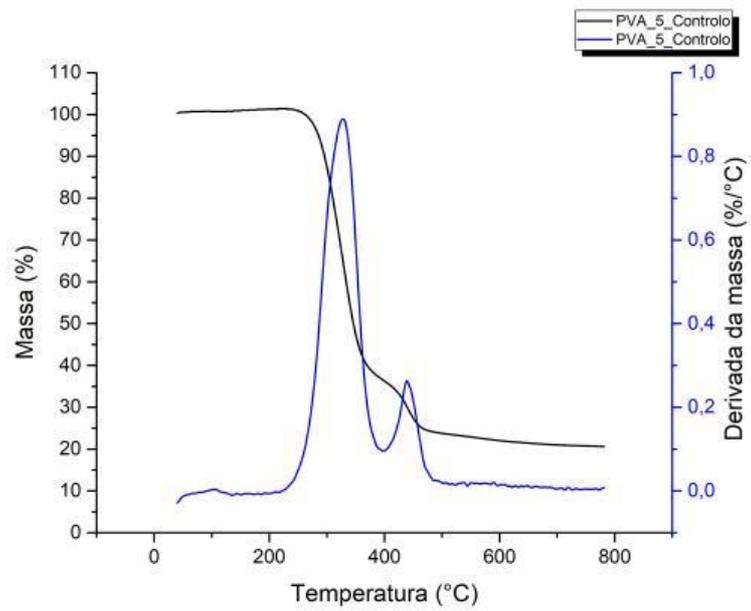


Figura 68 - TGA do PVA_5_Controlo.