



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tamara Reis

Estudo comparativo sobre a capacidade de encapsulação e liberação de corantes de hidrogéis de rede híbrida à base de PEO-Ca/SA-PAm obtidos via eletrofiação e polimerização *in situ*

Florianópolis

2022

Tamara Reis

Estudo comparativo sobre a capacidade de encapsulação e liberação de corantes de hidrogéis de rede híbrida à base de PEO-Ca/SA-PAm obtidos via eletrofiação e polimerização *in situ*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Edson Minatti, Dr.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Reis, Tamara

Estudo comparativo sobre a capacidade de encapsulação e liberação de corantes de hidrogéis de rede híbrida à base de PEO-Ca/SA-PAm obtidos via eletrofição e polimerização in situ / Tamara Reis ; orientador, Edson Minatti, 2022.

102 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Química. 2. Hidrogel. 3. Rede híbrida. 4. Poliacrilamida. 5. Eletrofição. I. Minatti, Edson. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Química. III. Título.

Tamara Reis

Estudo comparativo sobre a capacidade de encapsulação e liberação de corantes de hidrogéis de rede híbrida à base de PEO-Ca/SA-PAm obtidos via eletrofiação e polimerização *in situ*

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 15 de dezembro de 2022, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Alexandre Luís Parize, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Ismael Casagrande Bellettini, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Camila Fabiano de Freitas Marin, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Química.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química

Prof. Edson Minatti, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2022.

AGRADECIMENTOS

Ao Mateus pelo incentivo, pelo companheirismo e pelas intermináveis horas dedicadas à liofilização das amostras deste trabalho.

Ao professor Edson Minatti pela confiança e pela oportunidade.

Aos professores: Alexandre L. Parize, Ismael C. Bellettini e Camila F. de Freitas Marin por terem aceitado o convite para atuar como membros da banca examinadora e também por suas contribuições à versão final.

Aos grupos de pesquisa: LACFI (Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais), LaCBio (Laboratório de Catálise Biomimética) e LABINC (Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia) pelos reagentes cedidos.

À Central de Análises e aos técnicos Natália B. Caon e Nilton C. Pereira pelas análises prestadas e pela disposição em ajudar.

Ao LCME e à Juliana P. Dreyer pelo desempenho das análises microscópicas.

Aos colegas dos grupos Polissol e Solvuntur pelo acolhimento ao longo dessa jornada.

À UFSC pela infraestrutura disponibilizada e ao CNPq pelo apoio financeiro.

E, por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvida uma nova metodologia de preparo de hidrogéis de rede híbrida à base de fibras de poli(óxido de etileno) (**PEO**) e cálcio reticuladas em alginato de sódio (**SA**), interpenetradas por uma matriz de poliacrilamida (**PAm**) polimerizada *in situ*. A fim de detectar a influência da eletrofiação e os efeitos de múltiplas redes sobre as propriedades do hidrogel, todas as análises e testes foram reproduzidos com matrizes primárias puras de **Ca/SA** e **PAm**, sintetizadas sob condições diversas. As amostras foram caracterizadas por calorimetria diferencial de varredura (DSC), capacidade de intumescimento, ponto de carga zero (PZC) e microscopia eletrônica de varredura (SEM). Dentre os treze sistemas elaborados, as amostras de **PEO-Ca/SA-PAm** (**DNe**) obtidas por eletrofiação destacam-se por apresentarem a maior densidade de reticulação, com poros de área transversal média igual a $9,4 \mu\text{m}^2$, e por exibirem a menor capacidade de absorção de água - cerca de dezessete vezes o valor de seu peso inicial. A avaliação do ponto de carga zero demonstrou o surgimento de uma carga residual negativa ao longo da superfície em pH acima de 6,4. Estudos de encapsulação e liberação de azul de metileno (**MB**) e rodamina B (**RhB**) em pH 7,2 evidenciaram seu potencial de carreamento para compostos de caráter catiônico e zwitteriônico. Essas características associadas propiciaram ao sistema eletrofiado proposto (**DNe01**), obtido após uma hora de exposição à radiação UV-Vis, a exibição de um perfil de liberação de primeira ordem sustentado por até 240 horas para **MB**, e de Korsmeyer–Peppas para **RhB**, ambos gerenciados por um mecanismo de transporte anômalo, majoritariamente influenciado pelo intumescimento da matriz.

Palavras-chave: Hidrogel. Rede híbrida. Poliacrilamida. Alginato. Eletrofiação.

ABSTRACT

In this work, a new methodology for the preparation of hybrid hydrogels was developed based on a primary network of poly(ethylene oxide) (**PEO**) and calcium fibers crosslinked in sodium alginate (**SA**), interpenetrated by a secondary network of *in situ* polymerized polyacrylamide (**PAm**). In order to verify the influence of electrospinning and the effects of multiple networks on the hydrogel properties, all analysis and tests were reproduced for pure hydrogels of **Ca/SA** and **PAm**, synthesized under different conditions. The samples were characterized by differential scanning calorimetry (DSC), swelling degree, point of zero charge (PZC) and scanning electron microscopy (SEM). Among the thirteen elaborated systems, the **PEO-Ca/SA-PAm (DNe)** samples obtained by electrospinning stand out for having the highest crosslinking density, pores with an average cross-sectional area equal to $9,4 \mu\text{m}^2$ and, consequently, exhibiting the lowest capacity for water absorption - about seventeen times its initial weight. The analysis of the point of zero charge showed the appearance of a residual negative charge along the surface at pH above 6,4. Studies of encapsulation and release of methylene blue (**MB**) and rhodamine B (**RhB**) at pH 7,2 ensured its potential to act as a carrier system for cationic and zwitterionic compounds. These related characteristics suggest to the proposed electrospinning system obtained after one hour of exposure to UV-Vis radiation (**DNe01**) a first-order release profile sustained for up to 240 hours for **MB**, and a Korsmeyer–Peppas profile for **RhB**, both resulted from an anomalous transport mechanism, being mainly influenced by matrix swelling.

Keywords: Hybrid Network Hydrogel. Polyacrylamide. Alginate. Electrospinning.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação simplificada do sistema de eletrofiação e da formação do cone de Taylor.....	21
Figura 2. Representação estrutural da cadeia de poli(óxido de etileno) (PEO).....	22
Figura 3. Adaptação do esquema elaborado por Kaassis e colaboradores para ilustrar o mecanismo de liberação de ibuprofeno sódico (SI) a partir de fibras de PEO-SA em pH 3,0. ⁶	23
Figura 4. Representação esquemática do método <i>one-pot</i> aplicado para a obtenção de um hidrogel de rede híbrida composto por uma rede primária fisicamente ligada e uma rede secundária covalentemente ligada.	24
Figura 5. Representação esquemática do método aplicado por Song e colaboradores para a obtenção de fibras reticuladas por <i>wet-spinning</i> . ¹⁵	26
Figura 6. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de PAm.....	29
Figura 7. Imagens da placa de Petri contendo os reagentes precursores da rede de PAm (a) e da placa inserida no porta-amostra do sistema de polimerização (b)	30
Figura 8. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de Ca/SA (INc) e PEO_{IPN}-Ca/SA (s-IPINc) envolvendo o uso da técnica de gotejamento.....	31
Figura 9. Lamínula de vidro utilizada durante coleta prévia para a verificação da formação de fibras a partir do sistema PEO 5% (m/v)	33
Figura 10. Professional Electrospinner (modelo: 2.0S-500, marca: Yflow), situado no laboratório Polissol, utilizado para a confecção das amostras de fibras e hidrogéis deste trabalho.....	34
Figura 11. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de PEO-Ca/SA (INe) envolvendo o uso da técnica de eletrofiação.....	35
Figura 12. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de PAm-SA/Ca (DNc)	36
Figura 13. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de PEO-Ca/SA-PAm (DNe)	38
Figura 14. Amostras de hidrogéis intumescidos após a absorção de MB e RhB	43
Figura 15. Imagens capturadas durante a realização dos testes de liberação de MB encapsulado nas amostras DNc01 (a) , DNc03 (b) e DNem03 (c)	43

Figura 16. Imagens capturadas após 4, 24, 48 e 144h de liberação de MB encapsulado na amostra DNe01	44
Figura 17. Fotografia de um recorte da amostra CN01	45
Figura 18. Estruturas dos reagentes e representação estrutural do produto obtido a partir da reação de polimerização da acrilamida.....	45
Figura 19. Representação esquemática do mecanismo de polimerização radicalar que conduz à formação da poliacrilamida.....	46
Figura 20. Termogramas dos hidrogéis de rede covalente à base de PAm polimerizada <i>in situ</i> (CN) após uma, três e doze horas de exposição à radiação ultravioleta, obtidos via análise por DSC.....	47
Figura 21. Cinéticas de intumescimento desempenhadas em pH 7,2 (a) e resultados dos ensaios de PZC (b) para as amostras CN01 , CN03 e CN12	49
Figura 22. Micrografias das amostras: CN01 (a) , CN03 (b) e CN12 (c)	52
Figura 23. Micrografia das fibras de PEO 5% (m/v) (a) e histograma de distribuição do tamanho do raio das fibras (b).....	54
Figura 24. Micrografia das fibras de PEO5% - CL3% (m/v) (a) e histograma de distribuição do tamanho do raio das fibras (b).....	55
Figura 25. Fotografia da amostra INe	56
Figura 26. Representação estrutural do retículo iônico formado por Ca/SA e das unidades monoméricas que compõem o polissacarídeo.....	57
Figura 27. Termogramas dos hidrogéis de rede iônica à base de Ca/SA (INe, s-IPINc e INc) , obtidos via análise por DSC.....	57
Figura 28. Representação da estrutura interconectada formada por PEO/SA e das unidades monoméricas que compõem suas cadeias poliméricas.....	59
Figura 29. Cinéticas de intumescimento desempenhadas em pH 7,2 (a) e resultados dos ensaios de PZC (b) para as amostras INe , s-IPINc e INc	60
Figura 30. Micrografias das amostras: INe (a) , s-IPINc (b) e INc (c)	63
Figura 31. Fotografia da amostra DNe01	64
Figura 32. Micrografia das fibras de PEO5% - CL3% - Mt2% (m/v) (a) e histograma de distribuição do tamanho do raio das fibras (b).....	65
Figura 33. Imagem da amostra DNeMt01 obtida após uma hora de exposição à radiação ultravioleta.....	66
Figura 34. Termogramas dos hidrogéis de rede híbrida à base de PEO-Ca/SA-PAm (DNe) e PAm-SA/Ca (DNc) , obtidos via análise por DSC.....	67

Figura 35. Cinéticas de intumescimento desempenhadas em pH 7,2 (a) e resultados dos ensaios de PZC (b) para as amostras DNe01 , DNc01 e DNeMt01	70
Figura 36. Representação estrutural da montmorilonita.....	72
Figura 37. Micrografias das amostras: DNc01 (a) , DNc03 (b) e DNc12 (c) e histograma de distribuição da área da seção transversal dos poros da amostra DNc12 (d)	73
Figura 38. Micrografias das amostras: DNe01 (a) e DNe03 (b) e histograma de distribuição da área da seção transversal dos poros da amostra DNe03 (c)	74
Figura 39. Micrografias das amostras: DNeMt01 (a) e DNeMt03 (b)	75
Figura 40. Estrutura dos corantes azul de metileno (MB) e rodamina B (RhB) utilizados nos ensaios de encapsulação e liberação.....	76
Figura 41. Ensaio de liberação cumulativa de MB (a) e RhB (b) encapsulados em hidrogéis de rede covalente (PAm) obtidos a partir de uma, três e doze horas de exposição à radiação UV.	78
Figura 42. Ensaio de liberação cumulativa de MB (a) e RhB (b) encapsulados em hidrogéis de rede iônica (Ca/SA) obtidos sob diferentes condições.	80
Figura 43. Fotografia da amostra INe após quatro horas de imersão em ambiente tamponado (pH 7,2) a 25°C para a liberação de azul de metileno (MB).	82
Figura 44. Ensaio de liberação cumulativa de MB (a) e RhB (b) encapsulados em hidrogéis de rede híbrida à base de Ca/SA-PAm	83
Figura 45. Fotografias das amostras DNe01 (a) , DNeMt01 (b) e DNc01 (c) coletadas após quarenta e oito horas de imersão em ambiente tamponado (pH 7,2) a 25°C para a liberação de azul de metileno (MB).....	85
Figura 46. Fotografias das amostras DNe01 (a) e DNeMt01 (b) coletadas durante o processo de liberação de azul de metileno (MB).	85
Figura 47. Ensaio de liberação cumulativa de MB encapsulado em hidrogéis de rede iônica (INe) e dupla (DNe e DNeMt) confeccionados por eletrofiação.	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sumário das amostras desenvolvidas.....	39
Tabela 2. Parâmetros térmicos resultantes da análise dos hidrogéis de rede covalente à base de poliacrilamida por DSC.....	48
Tabela 3. Capacidade máxima de intumescimento ($Q_{\text{máx,água}}$) das amostras CN01 e CN03 determinada a partir do ensaio de PZC sob diferentes valores de pH.	50
Tabela 4. Parâmetros de eletrofiação e condições ambientais vinculadas às fibras de PEO 5% (m/v)	53
Tabela 5. Parâmetros de eletrofiação e condições ambientais vinculadas às fibras de PEO5% - CL3% (m/v)	54
Tabela 6. Capacidade máxima de intumescimento ($Q_{\text{máx,água}}$) das amostras INe e INc determinada a partir do ensaio de PZC sob diferentes valores de pH.	62
Tabela 7. Parâmetros de eletrofiação e condições ambientais vinculadas às fibras de PEO5% - CL3% - Mt2% (m/v)	65
Tabela 8. Parâmetros de eletrofiação e condições ambientais observadas durante a obtenção das amostras DNe (PEO-CL/SA-PAm) e DNeMt (PEO-CL-Mt/SA-PAm) . 66	
Tabela 9. Parâmetros térmicos resultantes da análise dos hidrogéis de rede híbrida à base de PEO-Ca/SA-PAm (DNe) por DSC.....	68
Tabela 10. Parâmetros térmicos resultantes da análise dos hidrogéis de rede híbrida à base de PAm-SA/Ca (DNc) por DSC.	70
Tabela 11. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 25°C) de MB⁽¹⁾ e RhB⁽²⁾ de hidrogéis à base de PAm (CN) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.....	78
Tabela 12. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 25°C) de MB⁽¹⁾ e RhB⁽²⁾ de hidrogéis à base de Ca/SA (INe, s-IPINc, INc) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.....	81
Tabela 13. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 25°C) de MB⁽¹⁾ e RhB⁽²⁾ de hidrogéis de rede híbrida à base de Ca/SA-PAm (DNe, DNc, DNeMt) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.....	84
Tabela 14. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 37°C) de MB de hidrogéis de rede iônica (INe) e dupla (DNe, DNeMt) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.....	88

Tabela 15. Índices de capacidade máxima de encapsulação ($Q_{\text{máx,corante}}$) de **MB** e **RhB** aferidos para hidrogéis de diferentes composições.89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APS	Persulfato de amônio (<i>Ammonium Persulfate</i>)
CL	Lactato de cálcio (<i>Calcium Lactate</i>)
CN	Rede covalente (<i>Covalent Network</i>)
DN	Rede dupla (<i>Double Network</i>)
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
IN	Rede iônica (<i>Ionic Network</i>)
IPN	Interpenetrado
MB	Azul de metileno (<i>Methylene Blue</i>)
MBA _m	<i>N,N</i> -metilenobisacrilamida
Mt	Montmorilonita
PA _m	Poliacrilamida
PEO	Poli(óxido de etileno)
PZC	Ponto de Carga Zero (<i>Point of Zero Charge</i>)
RhB	Rodamina B (<i>Rhodamine B</i>)
SA	Alginato de sódio (<i>Sodium Alginate</i>)
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
s-IP	Semi-Interpenetrado
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	Objetivo geral	18
1.1.2	Objetivos específicos	18
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1.2.1	Nanofibras poliméricas e a técnica de eletrofiação	20
1.2.2	Hidrogéis convencionais e <i>Double Networks</i> (DN)	23
2.	DESENVOLVIMENTO	28
2.1	MATERIAIS E REAGENTES	28
2.2	METODOLOGIA	29
2.2.1	Elaboração dos sistemas de rede covalente (CN)	29
2.2.2	Elaboração dos sistemas de rede iônica (INc, s-IPINc e INe)	31
2.2.2.1	<i>Método de reticulação inversa por gotejamento (INc e s-IPINc)</i>	31
2.2.2.2	<i>Método de reticulação inversa por eletrofiação (INe)</i>	32
2.2.3	Elaboração dos sistemas de rede híbrida (DNe e DNc)	36
2.2.3.1	<i>Método de reticulação iônica direta (DNc)</i>	36
2.2.3.2	<i>Método de reticulação iônica inversa com eletrofiação (DNe)</i>	37
2.2.4	Elaboração do sistema de rede híbrida incorporado com montmorilonita (DNe_{Mt})	38
2.3	CARACTERIZAÇÕES.....	40
2.3.1	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	40
2.3.2	Espessura	40
2.3.3	Grau de intumescimento	40
2.3.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	41
2.3.5	Ponto de Carga Zero (PZC)	42
2.3.6	Ensaio de encapsulação e liberação de corantes	42
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3.1	SISTEMAS DE REDE COVALENTE	45
3.2	SISTEMAS DE REDE IÔNICA.....	53
3.3	SISTEMAS DE REDE HÍBRIDA.....	64
3.4	ENSAIOS DE ENCAPSULAÇÃO E LIBERAÇÃO	76
3.4.1	Sistemas de rede covalente (CN)	78

3.4.2	Sistemas de rede iônica (INc, s-IPINc e INe).....	80
3.4.3	Sistemas de rede híbrida (DNe, DNC e DNemt)	83
3.4.4	Efeito do aquecimento sobre a cinética de liberação.....	87
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
	REFERÊNCIAS	92
	APÊNDICE	97

1. INTRODUÇÃO

Elaborar sistemas eficazes para o carreamento e a liberação controlada de fármacos é uma tarefa minuciosa que exige a análise e a conciliação de vários aspectos. Biocompatibilidade, biodegradabilidade, destinação, capacidade de encapsulação, bem como o mecanismo e a taxa de liberação são alguns dos critérios que circundam o estudo desses sistemas e elegem sua aplicabilidade.

Nesse contexto, materiais à base de polímeros são amplamente investigados uma vez que estes compreendem uma ampla variedade de substâncias biocompatíveis e biodegradáveis, de caráter hidrofílico ou hidrofóbico, com propriedades mecânicas distintas e aptidão para serem combinados na forma de compósitos. Dentre os principais sistemas de encapsulação e liberação que abordam o uso dessas macromoléculas destacam-se as matrizes nanofibrosas e os hidrogéis poliméricos.

Embora a eletrofiação seja uma técnica bem consolidada para a obtenção de nanofibras, sua implementação para a produção de hidrogéis configura uma recente área de estudos que tem ganhado relevância nas últimas décadas. Os resultados se mostram promissores principalmente para aplicações na área biomédica, abrangendo os setores de engenharia de tecidos no que concerne à elaboração de *scaffolds* – suportes temporários para cultura e desenvolvimento celular - e de dispositivos para o carreamento de fármacos (*drug delivery*).

A principal razão para a popularização desses nanomateriais se concentra na sua morfologia. A estrutura altamente reticulada e porosa, contendo elevada área superficial, possibilita tanto a incorporação e o aprisionamento de ativos por mecanismos de adsorção e absorção, como o transporte desses ativos através de seus poros por intermédio de intumescimento.

Apesar de suas potencialidades, a elevada taxa de liberação inicial ainda é um dos maiores desafios enfrentados por pesquisadores que buscam o desenvolvimento de sistemas de carreamento a partir de hidrogéis. Existem, contudo, diferentes estratégias que podem ser implementadas durante a etapa de fabricação com o intuito de aumentar a performance mecânica e estrutural das matrizes.

Recentemente, estudos envolvendo a formação de compósitos contendo redes covalentes e iônicas interpenetradas têm apontado para uma melhora na resistência mecânica desses materiais, visto que auxiliam na dispersão de energia e evitam a formação de pontos de ruptura. A presença de redes formadas por interações iônicas também confere reversibilidade e responsividade aos hidrogéis em função do pH, da temperatura e da salinidade do meio em que se encontram, impactando diretamente na capacidade de expansão do retículo e, por consequência, no mecanismo de liberação de compostos encapsulados.

Outra estratégia consiste na dispersão de polímeros ou nanofibras poliméricas no interior do hidrogel. Sistemas de rede semi-interpenetrada tendem a dificultar o processo de intumescimento da matriz uma vez que as macromoléculas dispersas atuam como barreiras contra o fluxo de transporte. Além disso, aditivos podem ser incorporados às fibras a fim de propiciar mecanismos adicionais de interação com princípios ativos a serem encapsulados, aumentando a eficiência de carregamento e promovendo a contenção da taxa de liberação.

Diante das vantagens e desafios enfrentados na encapsulação de compostos em matrizes poliméricas porosas e do potencial da reticulação híbrida na moderação da taxa de liberação, propõe-se o desenvolvimento de uma nova metodologia de fabricação de hidrogéis de rede híbrida à base de cálcio e alginato (**Ca/SA**) interpenetrados por uma rede de poliacrilamida (**PAm**) polimerizada *in situ*.

Neste trabalho, serão investigados: os efeitos do uso da eletrofiação na composição da rede iônica; o tempo de exposição à radiação ultravioleta necessário para a polimerização *in situ* da rede covalente; as características estruturais e responsivas de hidrogéis puros de rede iônica (**Ca/SA**) e covalente (**PAm**); e, como essas propriedades podem ser afetadas pela presença de um segundo retículo.

Após a caracterização, essas amostras serão comparadas, sob diferentes condições de temperatura, quanto à eficiência de encapsulação e liberação de rodamina B (**RhB**) e azul de metileno (**MB**). A seleção desses compostos visa simular a interação de fármacos hidrofílicos de caráter zwitteriônico ou catiônico com as matrizes elaboradas. Ambos têm como característica a emissão de radiação na região do ultravioleta visível, possibilitando sua detecção e quantificação ao longo dos ensaios de liberação cumulativa por meio de espectroscopia UV-Vis.

Ademais, a incorporação de um aditivo com propriedades adsorventes (como por exemplo, montmorilonita - **Mt**) nas fibras poliméricas será implementada com o intuito de investigar uma possível modificação na capacidade de retenção dos hidrogéis, almejando o desenvolvimento de sistemas que desempenhem um maior controle sobre a taxa de liberação.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho visa o desenvolvimento de um sistema de rede híbrida à base de **PEO-Ca/SA-PAm** e o estudo comparativo, em relação aos seus análogos de rede pura iônica (**Ca/SA**) e covalente (**PAm**), de suas propriedades e características de carregamento envolvendo modelos de fármacos hidrofílicos.

1.1.2 Objetivos específicos

1. Identificar a composição, a voltagem e o fluxo de solução necessários para a obtenção de fibras de **PEO**, **PEO-Ca** e **PEO-Ca-Mt** por eletrofiação;
2. Obter hidrogéis de rede iônica à base de **Ca/SA** via eletrofiação e gotejamento e investigar a influência da metodologia e da incorporação de **PEO** sobre as propriedades físicas do retículo;
3. Compreender os efeitos do tempo de exposição à radiação ultravioleta sobre o grau de reticulação da rede covalente (**PAm**);
4. Produzir hidrogéis de rede híbrida à base de **Ca/SA-PAm** por duas metodologias distintas e avaliar como a escolha do retículo primário afeta as propriedades da matriz;
5. Avaliar aspectos qualitativos e quantitativos da morfologia de fibras e hidrogéis através de análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM);
6. Determinar as características térmicas das amostras por intermédio da técnica de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC);
7. Verificar a capacidade máxima de intumescimento de hidrogéis de rede simples e híbrida sob diferentes condições de pH e força iônica;
8. Examinar a formação de cargas superficiais sob diferentes condições de pH via análise do Ponto de Carga Zero (PZC);

9. Realizar ensaios de encapsulação de azul de metileno (**MB**) e rodamina B (**RhB**) e constatar o perfil e o mecanismo de liberação a 25,0°C e 37,0°C;
10. Averiguar as consequências da incorporação de **Mt** nas fibras reticuladas de **PEO-Ca/SA** sobre a capacidade de encapsulação e o mecanismo de liberação de **MB** e **RhB**.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O desenvolvimento de novos sistemas de carreamento de princípios ativos visando o melhoramento da eficiência de encapsulação e liberação move anualmente um grande número de pesquisas em nanotecnologia.

A utilização de polímeros como materiais de partida para a elaboração desses sistemas emerge como uma possibilidade para atender a critérios como biodegradabilidade e biocompatibilidade, fundamentais para o setor biomédico. A versatilidade dessas macromoléculas é uma projeção da ampla gama de estruturas que, advindas de origem natural ou sintética, podem ter suas propriedades mecânicas combinadas na forma de compósitos.

Dentre os principais veículos de carreamento que normalmente incluem polímeros em sua composição, destacam-se: as vesículas, as nanopartículas, as nano/microcápsulas, as membranas permeáveis formuladas a partir de nanofibras ou filmes e os hidrogéis.^{1,2}

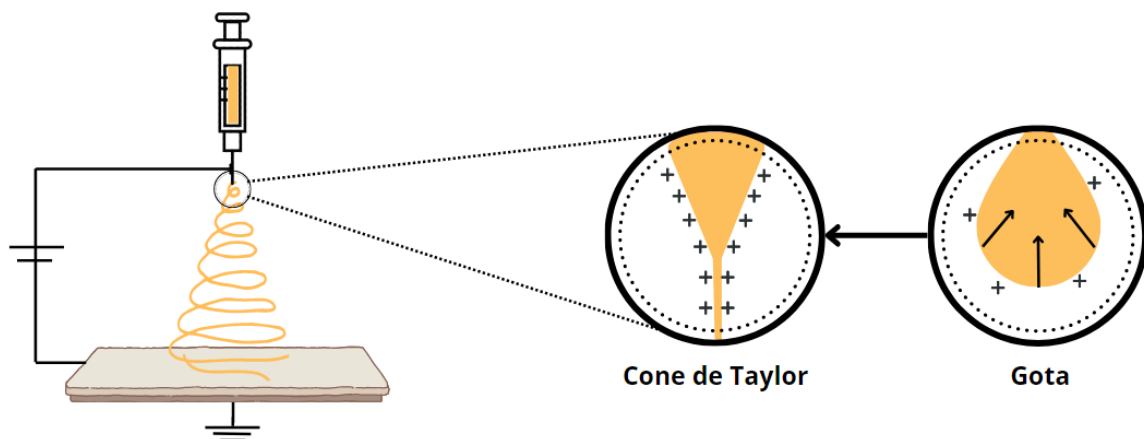
1.2.1 Nanofibras poliméricas e a técnica de eletrofiação

As nanofibras poliméricas constituem uma classe de materiais de escala nanométrica que se destaca por apresentar uma elevada área superficial por unidade de volume. Essa característica é relativamente apreciada em aplicações biomédicas de administração tópica visto que, além de potencializar a capacidade de encapsulação, possibilita uma maior área de contato entre o agente terapêutico e a superfície aplicada.³

Dentre os variados métodos de obtenção de nanofibras (e.g. autoassociação, separação de fases, impressão em molde) a eletrofiação é a técnica que proporciona a maior autonomia e reprodutibilidade ao processo de fabricação, permitindo o uso de uma grande variedade de polímeros e solventes. Matrizes poliméricas que utilizam deste mecanismo de fiação apresentam fibras mais longas, contínuas e com maior homogeneidade na distribuição de diâmetros em relação aos métodos alternativos supracitados.⁴

A técnica consiste no bombeamento de um volume constante de solução polimérica através de uma agulha sobre a qual é aplicada uma alta diferença de potencial que induz o acúmulo de cargas no líquido ejetado. A deformação da gota suspensa na ponta da agulha por ação de forças de repulsão eletrostática dá origem ao Cone de Taylor (**Figura 1**). Uma vez que a magnitude das forças eletrostáticas excedem a tensão superficial do líquido, um jato de solução polimérica é acelerado em direção à superfície coletora à medida que tem seu diâmetro estreitado pela evaporação do solvente. Quando desempenhada sob condições ótimas, ao término do processo podem ser obtidas fibras de ordem micro ou nanométrica, depositadas aleatoriamente sobre a superfície coletora na forma de uma membrana.³

Figura 1. Representação simplificada do sistema de eletrospinning e da formação do cone de Taylor.

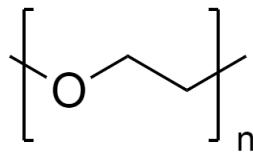


Esquema elaborado pela autora.

Naturalmente, o procedimento possui uma complexidade atrelada a parâmetros de solução, operacionais e até às condições do ambiente. A concentração polimérica, a viscosidade, a tensão superficial, a condutividade e a pressão de vapor do solvente são algumas das variáveis únicas de cada sistema polímero-solvente, que influenciarão na escolha do diâmetro da agulha, na distância entre a agulha e o coletor, no fluxo de solução e na tensão elétrica necessária para romper o formato esférico em cone de Taylor, e, portanto, demandam estudo e otimização. Além disso, a umidade relativa do ar e a temperatura ambiente são fatores de impacto crucial na morfologia das fibras, podendo dificultar a evaporação do solvente ou conduzir à total coalescência das fibras.³⁻⁵

Um dos polímeros mais bem conceituados na eletrofiação, com parâmetros operacionais estabelecidos para uma série de massas molares e concentrações, é o poli(óxido de etileno) (**PEO**). O **PEO** é um polímero biocompatível de origem sintética muito utilizado na produção de sistemas de carreamento de fármacos. Sua estrutura (**Figura 2**) ligeiramente anfifílica auxilia na estabilização de compostos pouco solúveis em água, contribuindo para o carreamento de drogas hidrofóbicas.⁶⁻⁸

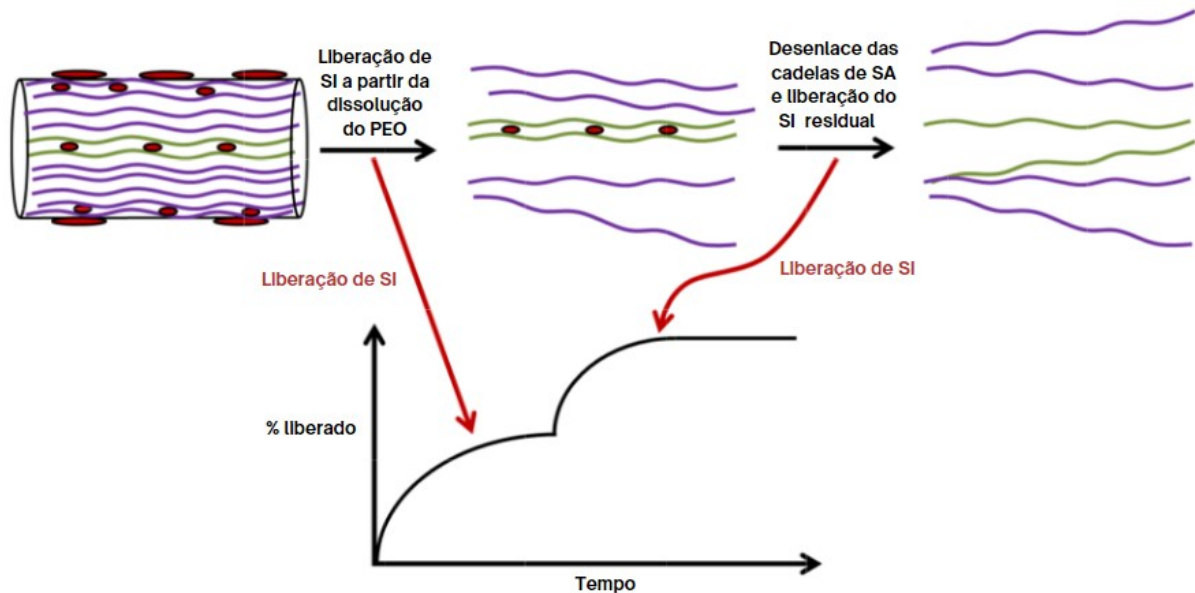
Figura 2. Representação estrutural da cadeia de poli(óxido de etileno) (**PEO**).



Os efeitos da adição de **PEO** em blendas poliméricas para eletrofiação incluem a formação de fibras contínuas e homogêneas, a redução de imperfeições estruturais e o aumento da taxa de liberação de drogas pouco hidrossolúveis.⁷

Kaassis e colaboradores utilizaram **PEO** como polímero carreador para a obtenção de fibras de **PEO** e alginato de sódio (**SA**) para a encapsulação de ibuprofeno sódico (SI). A partir dos testes realizados, os autores identificaram na matriz de fibras um comportamento responsivo para a variação de pH e enaltecem o potencial uso do sistema para a liberação de drogas no estômago. O mecanismo de transporte proposto baseia-se na dissolução parcial de suas componentes principais, **PEO** e **SA**, em pH 3,0, resultando em uma liberação pulsada do fármaco em duas etapas: a primeira, a partir da dissolução de **PEO**, e a segunda, através do desenlace das cadeias de **SA** (**Figura 3**).⁶

Figura 3. Adaptação do esquema elaborado por Kaassis e colaboradores para ilustrar o mecanismo de liberação de ibuprofeno sódico (SI) a partir de fibras de **PEO-SA** em pH 3,0.⁶



1.2.2 Hidrogéis convencionais e *Double Networks* (DN)

Além das nanofibras, hidrogéis poliméricos têm ganhado notoriedade no setor biomédico pelo importante papel desempenhado na evolução de tratamentos voltados para a cicatrização de feridas cutâneas, dentre outras aplicações.⁹

A principal característica dessas matrizes é a sua elevada capacidade de absorção de água. Sua estrutura básica compreende um emaranhado de redes tridimensionais, trançadas pelo estabelecimento de ligações cruzadas entre unidades de monômeros, grupos iônicos ou cadeias poliméricas.⁹

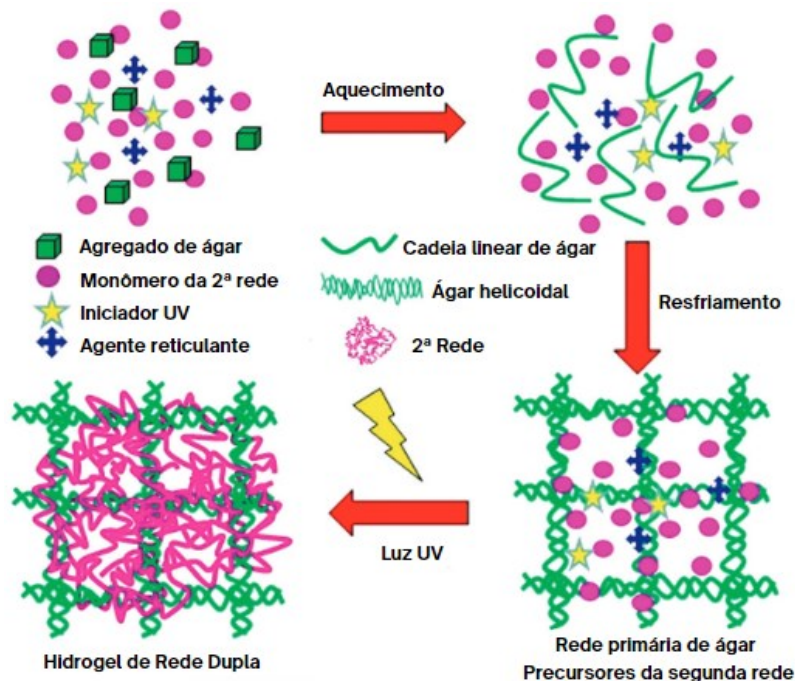
O tipo de ligação responsável pela formação do retículo reflete diretamente nas propriedades mecânicas dos géis. Retículos formados por ligações covalentes são, em sua grande maioria, estruturas que apresentam uma maior rigidez devido à natureza da ligação química que dá origem ao emaranhamento das cadeias. Nessas amostras observa-se uma maior resistência à solubilidade e à expansão da matriz, enquanto que a capacidade de absorção de água é administrada em função da presença de grupos hidrofílicos ao longo da cadeia polimérica.¹⁰

Interações intermoleculares como van der Waals, ligações de hidrogênio e interações iônicas, embora mais fracas do que as ligações covalentes, também possibilitam a formação de retículos. Normalmente, compõem estruturas mais frágeis, maleáveis, susceptíveis à dissolução e à interferência de estímulos externos como variação de pH e temperatura.^{9,10}

Nesse âmbito, a elaboração de dispositivos inteligentes contendo ambos os tipos de reticulação, iônica e covalente, emerge como uma estratégia alternativa para uma melhoria nas propriedades mecânicas e para a implementação de novas funcionalidades que permitam uma alteração no comportamento da matriz quando submetida à diferentes condições experimentais.⁹

Double-networks ou hidrogéis de rede dupla comumente levam em sua composição uma rede constituída por polieletrólitos (e.g. alginato) ou polissacarídeos (e.g. ágar e quitosana), para garantir a capacidade de intumescimento do gel, e uma segunda rede, covalentemente ligada e neutra (e.g. poli(acrilamida) - **PAm**), para atribuir resistência mecânica ao sistema (**Figura 4**).¹¹

Figura 4. Representação esquemática do método *one-pot* aplicado para a obtenção de um hidrogel de rede híbrida composto por uma rede primária fisicamente ligada e uma rede secundária covalentemente ligada.



Adaptado de Chen e colaboradores (2015).¹¹

Um dos primeiros métodos explorados na fabricação de hidrogéis de rede dupla foi o método sequencial. Proposto em duas etapas, a primeira envolvia a formação de uma matriz primária, e a segunda, consistia na absorção de precursores para a posterior formação de uma segunda rede. Com a dependência do processo migratório desses precursores para o interior do gel primário, o desempenho ficava comprometido à capacidade de intumescimento do retículo e à necessidade de um excesso de reagentes a fim de promover a difusão efetiva. Aliados ao custo e ao risco de toxicidade, esses fatores impulsionaram o desenvolvimento de novas estratégias de produção.^{11,12}

Adaptações para metodologias do tipo *one-pot* permitiram um grande avanço no estudo e na aplicabilidade de hidrogéis de rede dupla. Zhang e colaboradores, por exemplo, desenvolveram uma matriz para o acompanhamento de atividades enzimáticas a partir da incorporação de enzimas em hidrogéis de **PAm-SA**.¹³ Para a confecção de suas amostras, os autores fizeram uso da técnica *one-pot*, com a formação de uma rede primária covalente (**PAm**) seguida pela reticulação iônica do alginato. Devido ao caráter híbrido da estrutura tridimensional, suas amostras exibiram uma capacidade de extensão sob estiramento mecânico de aproximadamente dez vezes o valor de sua área inicial.^{11,13}

A utilização da técnica de eletrofiação para a fabricação de hidrogéis é uma proposta ainda mais recente que tem se desenvolvido e apresentado resultados promissores. Além da versatilidade do método quanto à escolha dos reagentes de partida, a eletrofiação permite a obtenção de estruturas interpenetradas dada a possibilidade de adaptação do mecanismo de coleta do material eletrofiado.¹⁴

Song e colaboradores, por exemplo, apresentaram um método de fiação úmida (*wet-spinning*) para a obtenção de organohidrogéis (**Figura 5**).¹⁵ A metodologia proposta consiste na fiação de uma solução contendo poli(etileno glicol)diacrilato e alginato de sódio sobre uma solução de gelificação contendo íons Ca^{2+} . Após a reticulação iônica, a formação de ligações covalentes cruzadas era induzida a partir da incidência de luz ultravioleta. Com base nos testes realizados, os autores enfatizaram que a reticulação híbrida foi determinante para o melhoramento das propriedades mecânicas das fibras.^{14,15}

Apesar dos resultados reportados incluírem uma melhora significativa no grau de intumescimento, na durabilidade e na capacidade de encapsulação para as amostras eletrofiadas em relação às amostras obtidas por métodos convencionais, foi observada uma ação de liberação mais rápida para os hidrogéis eletrofiados, visto que apresentam uma maior área superficial.¹⁸

A fim de proporcionar o aumento da capacidade de carreamento e uma maior retenção da classe de compostos hidrofóbicos, algumas pesquisas têm avaliado os efeitos da incorporação de montmorilonita em hidrogéis poliméricos. Os resultados reportados por Sharifzadeh (2019) e Kouser e colaboradores (2018) demonstram que com o aditivo é possível alcançar um maior controle sobre a taxa de liberação de diferentes fármacos, bem como, a extensão do período de atividade terapêutica, resultando em perfis de liberação sustentada.^{19,20}

Além de aditivos, a introdução de mecanismos de resposta a estímulos externos, como pH e temperatura, por exemplo, também pode ser uma estratégia conveniente para suprimir a rápida liberação e os efeitos da superdosagem.

No caso de sistemas poliméricos, a liberação de um composto encapsulado pode ser provocada pela degradação ou pelo intumescimento da matriz. Hidrogéis que apresentam grupos ácido carboxílicos em sua rede ($pK_a \sim 5,0$) demonstram uma sensibilidade à variação de pH que se reflete na sua capacidade de intumescimento. Em pH inferior ao valor de pK_a , esses grupos se mantêm em sua forma neutra/protonada e impedem a expansão do retículo devido ao estabelecimento de ligações de hidrogênio entre as cadeias. Esse comportamento implica no encolhimento da matriz e na proteção de compostos que estejam encapsulados no seu interior. Por outro lado, em pH acima do valor de pK_a , a repulsão eletrostática ocasionada entre os grupos carboxilatos favorece o intumescimento da matriz e, por consequência, permite que a liberação seja efetuada. Esse artifício tem sido aplicado em diversos estudos que envolvem a passagem de suplementos nutricionais e fármacos através do estômago visando sua absorção na região intestinal.²¹⁻²³

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAIS E REAGENTES

O polímero *poli(óxido de etileno)* (**PEO**) M_w 900 kDa (Sigma-Aldrich), os corantes *rodamina B* (**RhB**) (Sigma) e *azul de metileno* (**MB**) (Vetec) e o aditivo montmorilonita (**Mt**) (Aldrich) encontravam-se disponíveis para uso no estoque de reagentes do laboratório do grupo de pesquisa Polissol (Laboratório de Polímeros e Surfactantes). As componentes da rede iônica, *alginato de sódio* (**SA**) e *lactato de cálcio* (**CL**), foram adquiridas da Sigma-Aldrich. Os reagentes necessários para a síntese da rede covalente: *acrilamida* (Sigma-Aldrich), *N,N-metilenobisacrilamida* (**MBAm**) (Sigma-Aldrich) e *persulfato de amônio* (**APS**) (Acros Organics), foram gentilmente cedidos pelos grupos de pesquisa: LACFI (Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais), LaCBio (Laboratório de Catálise Biomimética) e LABINC (Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia). Para induzir a reação de polimerização do monômero *acrilamida* foi utilizada uma lâmpada de luz ultravioleta-visível (UV-Vis) com comprimento de onda de máxima emissão em 406 nm totalizando 60 W de irradiância.

Todos os experimentos foram conduzidos em meio aquoso, utilizando para a sua execução água destilada.

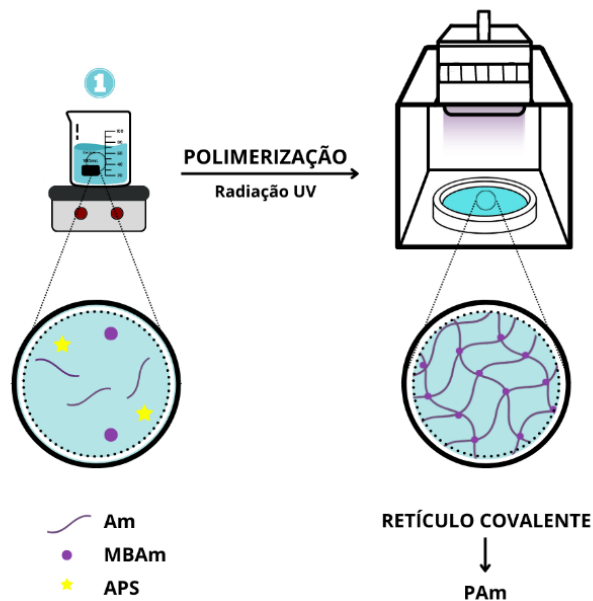
Seringas descartáveis de plástico da marca BD Plastipak, com capacidade volumétrica de 5,00 e 10,00 mL, foram utilizadas para a inserção das soluções poliméricas no sistema de injeção do equipamento de eletrofiliação. Para o revestimento das superfícies de coleta foram empregadas folhas de papel alumínio.

2.2 METODOLOGIA

2.2.1 Elaboração dos sistemas de rede covalente (CN)

A metodologia desenvolvida para a síntese do hidrogel de rede covalente de poli(acrilamida) emprega as proporções indicadas no estudo publicado por Bahrami e colaboradores.²⁴ Inicialmente, o monômero acrilamida (12% m/v) foi dissolvido em 15,00 mL de água destilada. Na sequência, foram adicionados 0,03% (m/v) de *N,N*-metilenobisacrilamida como agente reticulante e 0,06% (m/v) de persulfato de amônio como agente fotoiniciador. A solução final foi vedada com plástico filme e mantida sob agitação magnética constante por aproximadamente trinta minutos (**Figura 6**).

Figura 6. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de PAm.

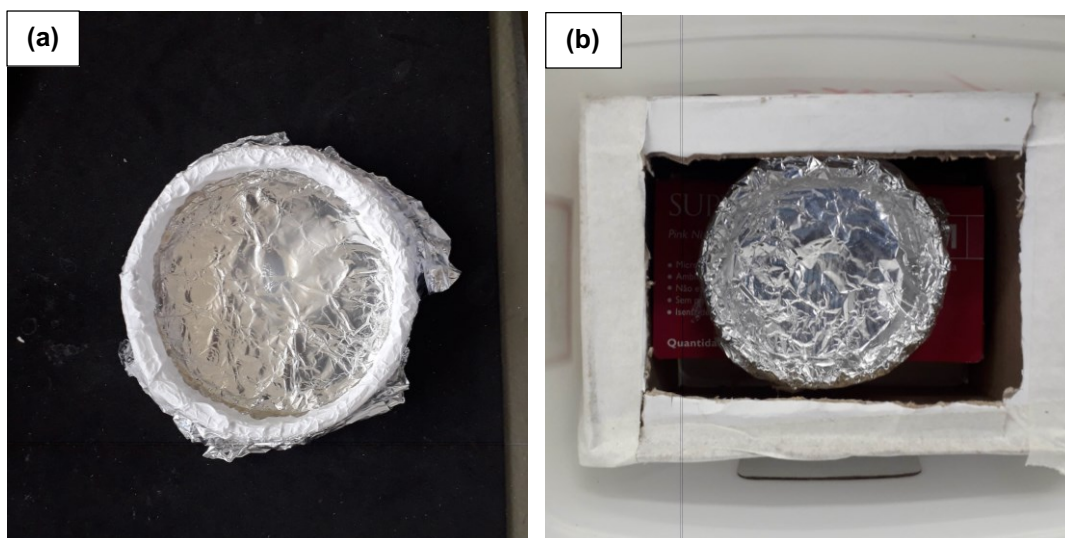


Esquema elaborado pela autora (2021).

Após a completa homogeneização, a solução foi vertida em uma placa de Petri (diâmetro interno de 6,5 cm) revestida com papel alumínio (**Figura 7a**). A placa foi inserida no interior de um compartimento cúbico, isolado contra interferências externas como luz e calor, com abertura no topo para a acomodação

de uma lâmpada de luz ultravioleta, posicionada a uma distância vertical de 4,5 cm do sistema reacional (**Figura 7b**).

Figura 7. Imagens da placa de Petri contendo os reagentes precursores da rede de PAm (**a**) e da placa inserida no porta-amostra do sistema de polimerização (**b**).



Imagens capturadas pela autora (2021).

A fim de otimizar o tempo destinado ao preparo da rede covalente, alíquotas do hidrogel formado a partir da polimerização da acrilamida foram coletadas em intervalos de uma (**CN01**), três (**CN03**) e doze (**CN12**) horas de exposição à radiação ultravioleta-visível (UV-Vis). Essas amostras foram lavadas e intumescidas em água destilada para favorecer a lixiviação de resíduos reacionais.

Após a lavagem, uma parte dos hidrogéis foi submetida à secagem em estufa a 70°C para a obtenção dos índices de espessura e posterior encaminhamento à análise por DSC. O restante foi submetido a um processo de liofilização por seis horas consecutivas a fim de que toda a umidade presente no retículo fosse removida, possibilitando a verificação de poros sob análise de SEM e a realização dos ensaios de PZC, intumescimento e encapsulação. Esse procedimento foi conduzido em um liofilizador de bancada (marca: *Enterprise*) situado no laboratório do grupo de pesquisa LACFI (Departamento de Química – UFSC). Finalizado este processo, as amostras foram acondicionadas em dessecadores a vácuo onde permaneceram até a realização das análises.

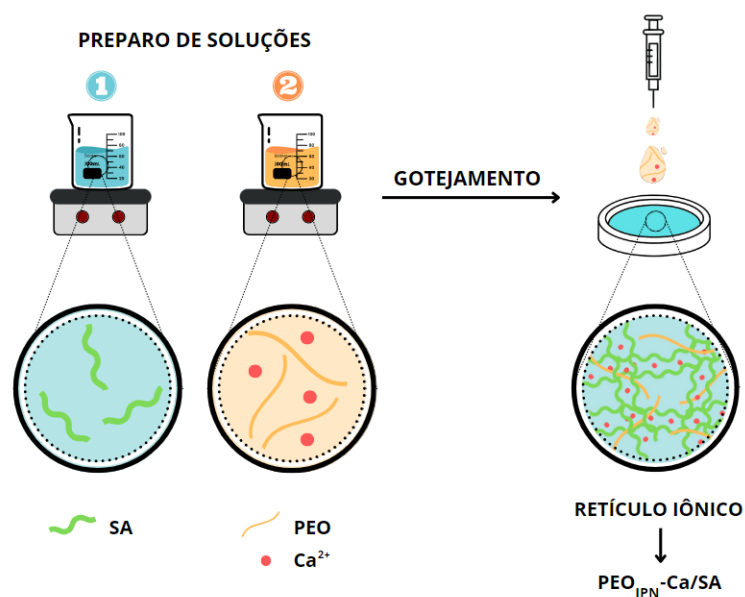
2.2.2 Elaboração dos sistemas de rede iônica (INc, s-IPINc e INe)

2.2.2.1 Método de reticulação inversa por gotejamento (INc e s-IPINc)

Para a composição do hidrogel de rede iônica pura à base de **Ca/SA (INc)** foram preparadas uma solução aquosa de lactato de cálcio (**CL**) 3% (m/v) e uma solução aquosa de alginato de sódio (**SA**) 3% (m/v). Essas soluções permaneceram sob agitação magnética em temperatura ambiente por aproximadamente vinte e quatro horas até que a completa homogeneização fosse atingida.

Partindo do princípio da gelificação inversa, no qual uma solução contendo íons Ca^{2+} é gotejada sobre uma solução de alginato denominada banho de coagulação, fez-se o preenchimento de uma placa de Petri (diâmetro interno de 6,5 cm, revestida com papel alumínio) com 15,00 mL da solução de **SA** 3% (m/v). Sobre o banho de coagulação foram gotejados manualmente ao longo de toda a superfície 3,00 mL da solução de **CL** 3% (m/v) (**Figura 8**). O gel obtido (**INc**) foi destacado da placa, lavado e intumescido em água destilada para a remoção de excedentes que não estivessem atuando na composição do retículo.

Figura 8. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de **Ca/SA (INc)** e **PEO_{IPN}-Ca/SA (s-IPINc)** envolvendo o uso da técnica de gotejamento.



Esquema elaborado pela autora (2021).

Após a lavagem e subdivisão da amostra principal em porções de 1,0 cm², parte das amostras foi seca em estufa e parte foi liofilizada por um período de seis horas consecutivas. Por fim, todas as amostras foram armazenadas em dessecador a vácuo.

Com o intuito de avaliar a influência que cadeias poliméricas interpenetradas no retículo exercem sobre as propriedades físicas finais do hidrogel **Ca/SA**, uma nova amostra foi produzida, tal como no procedimento anteriormente descrito, acrescentando-se uma quantidade de 5% (m/v) de **PEO** (M_w 900 kDa) à solução de **CL** 3% (m/v). Após o gotejamento de 3,00 mL dessa solução sobre 15,00 mL do banho de coagulação de **SA** 3% (m/v), o gel (**s-IPINc**) composto por **PEO_{IPN}-Ca/SA** foi retirado do molde, lavado, intumescido, seco e armazenado em dessecador a vácuo.

As proporções mássicas e volumétricas de cada componente da rede iônica foram definidas com base em um estudo prévio desenvolvido pela autora durante seu trabalho de conclusão de curso.²⁵ A proporção polimérica foi definida com base nas demandas de viscosidade, tensão superficial e condutividade, necessárias para a ocorrência do processo de eletrofiação que, conforme será descrito no tópico a seguir, foi a estratégia alternativa à convencional utilizada para a obtenção do gel à base de **Ca/SA (INe)**.

2.2.2.2 *Método de reticulação inversa por eletrofiação (INe)*

Soluções aquosas de **PEO** (M_w 900kDa) foram preparadas através da dispersão de diferentes proporções do polímero em água, em temperatura ambiente, sob agitação constante por um período mínimo de vinte e quatro horas até a completa homogeneização.

A proporção em massa de polímero foi avaliada entre 3 e 5% (m/v) e, por fim, definida a partir de testes envolvendo a eletrofiação desses sistemas e a verificação óptica do padrão de interferência formado pela deposição das fibras em lamínulas de vidro (**Figura 9**). A partir desse processo, amostras foram coletadas sobre folhas de alumínio para posterior submissão à análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM).

Figura 9. Lamínula de vidro utilizada durante coleta prévia para a verificação da formação de fibras a partir do sistema **PEO 5%** (m/v).

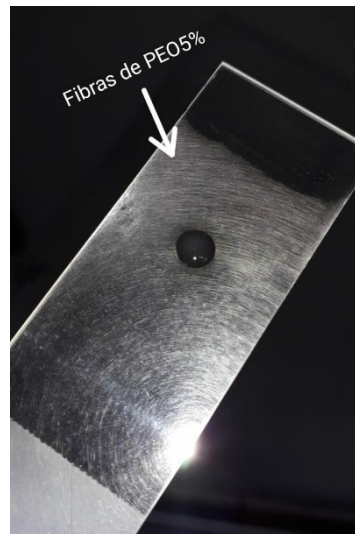


Imagem capturada pela autora (2021).

Os procedimentos de eletrofiação foram conduzidos no equipamento *Professional Electrospinner* (modelo: 2.0S-500, marca: *Yflow*) (**Figura 10**), situado no laboratório do grupo de pesquisa Polissol (Departamento de Química – UFSC). Este modelo, além de apresentar uma câmara de proteção contra fatores externos, possui: sistema eletrônico de injeção com seringa; controle automatizado da vazão volumétrica e da tensão elétrica aplicada no injetor e na placa coletora metálica; ajuste manual vertical e horizontal da haste de sustentação do injetor e, uma câmera CCD que permite a visualização da ponta da agulha e o acompanhamento da projeção da solução ao longo do procedimento por intermédio do visor acoplado localizado no topo do painel de controle.

Figura 10. Professional Electrospinner (modelo: 2.0S-500, marca: Yflow), situado no laboratório Polissol, utilizado para a confecção das amostras de fibras e hidrogéis deste trabalho.

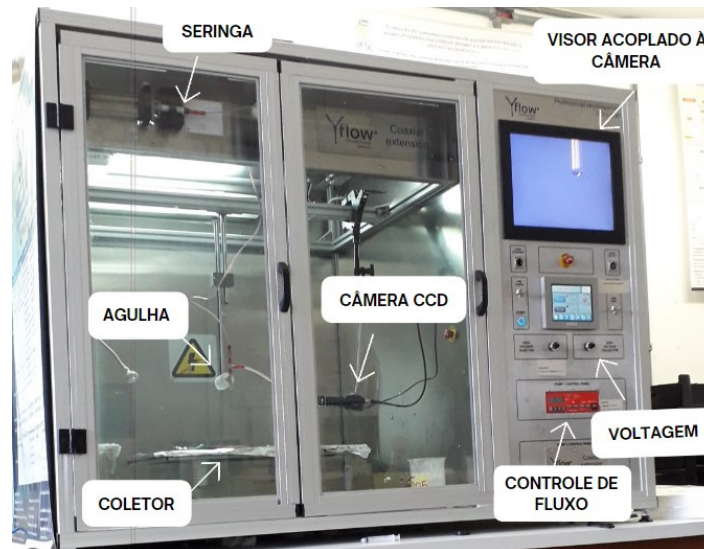


Imagem capturada pela autora (2021).

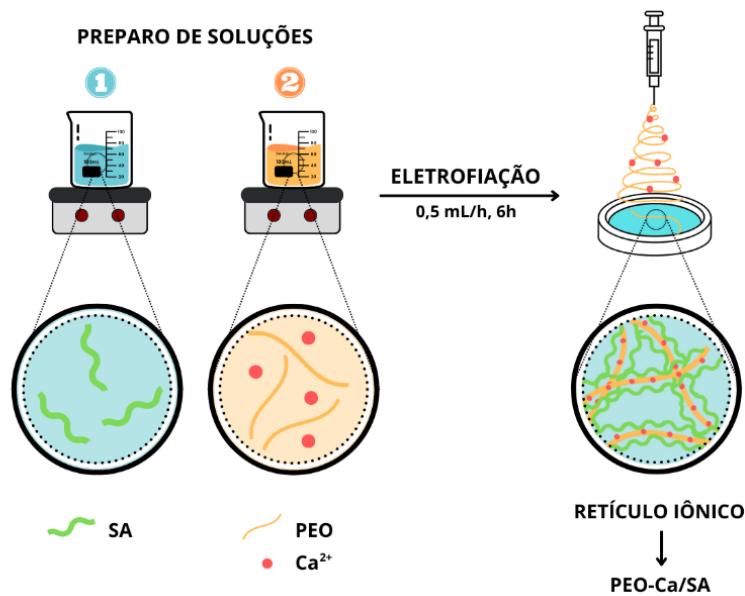
A escolha dos parâmetros operacionais de eletrospiação foi baseada na manipulação da vazão volumétrica e da tensão elétrica aplicada com o intuito de manter-se constante a formação do cone de Taylor, bem como o alongamento e a projeção do jato de solução em direção ao coletor, objetivando-se a formação de fibras contínuas de aspecto homogêneo. Testes preliminares foram conduzidos considerando-se a variação da vazão volumétrica (entre 0,25 e 0,75 mL/h) e da diferença de potencial aplicada (entre 8,0 e 16,0 kV) sob um índice de umidade relativa situado entre 47 e 50% no interior da câmara. Quanto à distância entre a agulha e o coletor, optou-se pela fixação da haste a uma altura de 15,0 cm, sendo este um intervalo suficiente para proporcionar a evaporação do solvente.

A definição da concentração polimérica mínima para compor todos os sistemas eletrofiados decorreu da observação de que uma proporção de 5% (m/v) de **PEO** (M_w 900 kDa) em água destilada é suficiente para desempenhar o processo de eletrospiação de forma fluída e assim, dar seguimento a fibras contínuas e homogêneas.

Após a escolha do polímero, determinação da concentração ideal e otimização dos parâmetros operacionais associados à eletrospiação, fez-se a adição de **CL** 3% (m/v) à composição a fim de obter-se, posteriormente, um sistema de fibras poliméricas reticuladas em alginato.

Para isso, o novo sistema composto por **PEO 5% (m/v)** e **CL 3% (m/v)** em meio aquoso foi transferido para uma seringa de plástico com capacidade volumétrica de 5,00 mL e diâmetro interno de 11,99 mm, conectada ao sistema de injeção do equipamento. Na superfície de coleta foi posicionada uma placa de Petri de 6,5 cm de diâmetro interno, revestida com papel alumínio e preenchida por 15,00 mL de uma solução de **SA 3% (m/v)**, requerendo para a formação da amostra **INe (PEO-Ca/SA)** a eletrofiação de 3,00 mL da solução aquosa de **PEO5% - CL3%** (Figura 11).

Figura 11. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de **PEO-Ca/SA (INe)** envolvendo o uso da técnica de eletrofiação.



Esquema elaborado pela autora (2021).

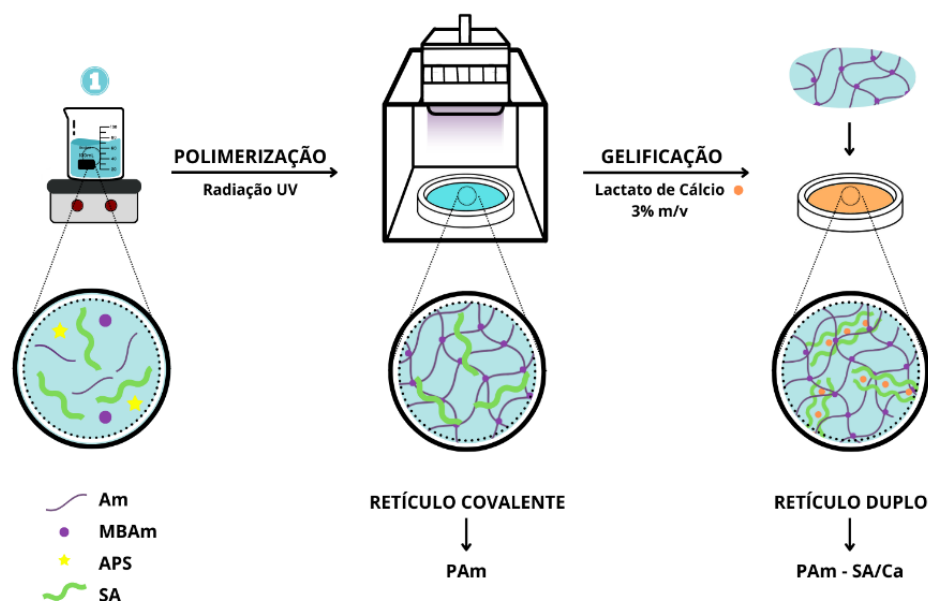
Ao término do processo, recortes das fibras de **PEO5%** e **PEO5% - CL3%** coletadas sobre papel alumínio foram encaminhadas para análise por SEM. O gel obtido a partir das fibras reticuladas em alginato (**INe**) foi removido do molde de alumínio, lavado, intumescido em água destilada para a remoção de excedentes não reticulados, seco e armazenado em dessecador a vácuo para posterior caracterização.

2.2.3 Elaboração dos sistemas de rede híbrida (DNe e DNc)

2.2.3.1 Método de reticulação iônica direta (DNc)

A fim de preparar um hidrogel de rede híbrida composto por um retículo covalente interpenetrado por uma rede iônica, reproduziu-se a síntese dos hidrogéis de poliacrilamida (**CN01**, **CN03** e **CN12**) conforme as condições descritas no tópico 2.1, adicionando-se ao sistema reacional alginato de sódio (**SA**) 3% (m/v). Em paralelo, foi preparada uma solução aquosa de lactato de cálcio (**CL**) 3% (m/v). Alíquotas do gel de poliacrilamida formado a partir de uma (**DNc01**), três (**DNc03**) e doze horas (**DNc12**) de exposição à radiação ultravioleta foram coletadas e imersas na solução aquosa de **CL** 3% (m/v) (**Figura 12**). Após cerca de trinta minutos de imersão, as amostras foram removidas do banho de gelificação, lavadas, intumescidas em água destilada, secas e, por fim, armazenadas em dessecador a vácuo. Ao final do procedimento, obteve-se uma matriz híbrida com a seguinte composição: **PAm-SA/Ca**.

Figura 12. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de **PAm-SA/Ca** (DNc).



Esquema elaborado pela autora (2021).

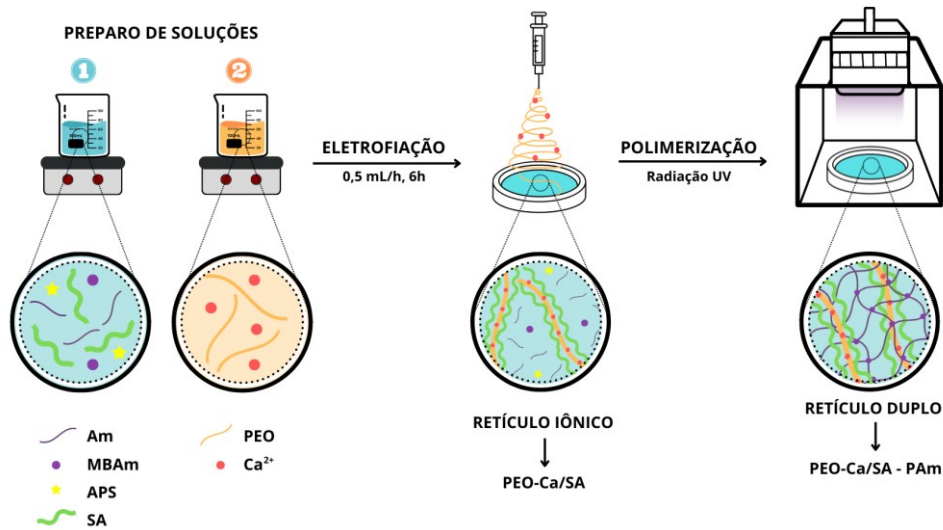
2.2.3.2 *Método de reticulação iônica inversa com eletrofiação (DNe)*

Com o intuito de produzir hidrogéis de rede híbrida compostos por fibras de **PEO-Ca** reticuladas em **SA** e interpenetradas pela rede covalente de **PAm**, foram preparadas duas soluções: a primeira, a ser empregada como banho de coagulação, constituída por: 12% (m/v) de acrilamida, 3% (m/v) de **SA**, 0,03% (m/v) de **MBAm** e 0,06% (m/v) de **APS** em água destilada. A segunda solução, a ser eletrofiada, foi elaborada sob uma proporção de 5% (m/v) de **PEO** (M_w 900 kDa) e 3% (m/v) de **CL** em água destilada. Ambas as soluções foram preparadas em temperatura ambiente e permaneceram sob agitação por um período mínimo de vinte e quatro horas.

Após a homogeneização, a solução a ser eletrofiada foi transferida para uma seringa de plástico com capacidade volumétrica de 5,00 mL e diâmetro interno de 11,99 mm, conectada ao sistema de injeção do equipamento eletrofiador. A solução elaborada para atuar como banho de coleta e coagulação das fibras foi vertida em uma placa de Petri de 6,5 cm de diâmetro interno, forrada com papel alumínio. A eletrofiação foi conduzida até a obtenção de um volume de fibras equivalente a 3,00 mL para um volume total de 15,00 mL de banho de coagulação.

Findada a etapa de eletrofiação, a placa de Petri contendo as fibras reticuladas de **PEO-Ca/SA** e os precursores para a polimerização da acrilamida foi posicionada no interior do compartimento isolado, próprio para a exposição à radiação ultravioleta, conforme a metodologia descrita no tópico 2.1 para a obtenção de géis de rede covalente à base de **PAm (CN)** (**Figura 13**). Alíquotas do gel foram coletadas após um período de uma (**DNe01**) e três horas (**DNe03**) de exposição à radiação UV. Posteriormente à remoção do molde de alumínio, fez-se a lavagem, o intumescimento, a secagem e o armazenamento dos hidrogéis de composição **PEO-Ca/SA-PAm** em dessecador a vácuo.

Figura 13. Representação esquemática da metodologia de preparo dos hidrogéis à base de **PEO-Ca/SA-PAm (DNe)**.



Esquema elaborado pela autora (2021).

2.2.4 Elaboração do sistema de rede híbrida incorporado com montmorilonita (DNeMt)

A fim de incorporar um agente nas fibras, resistente à radiação ultravioleta, que pudesse contribuir para a encapsulação de ativos e auxiliar na aquisição de um perfil de liberação controlada, fez-se a adição de montmorilonita à solução a ser eletrofiada. A partir dessa inserção, foi desenvolvido um novo sistema de eletrofiação composto por: 5% (m/v) de **PEO** (M_w 900 kDa), 3% (m/v) de **CL** e 2% (m/v) de **Mt** em água destilada. Para a coleta e reticulação da amostra, preparou-se uma solução constituída por: 12% (m/v) de acrilamida, 3% (m/v) de **SA**, 0,03% (m/v) de **MBAm** e 0,06% (m/v) de **APS** em água destilada. Ambas permaneceram sob agitação magnética por um período mínimo de doze horas.

A injeção da solução a ser eletrofiada no equipamento e o preparo do banho de coagulação, tal como o processo de formação do retículo covalente, foram conduzidos conforme os procedimentos estabelecidos para a amostra **DNe**, descritos no tópico 2.2.3.2. Alíquotas do hidrogel produzido foram coletadas após uma (**DNeMt01**) e três horas (**DNeMt03**) de exposição à radiação ultravioleta. Por fim, as amostras foram lavadas, intumescidas, secas e armazenadas em dessecador a vácuo.

A **Tabela 1** foi elaborada com o intuito de auxiliar na rápida identificação das amostras, atuando como um recurso a ser consultado no decorrer da interpretação dos resultados descritos na próxima seção. Nela estão compiladas a nomenclatura atribuída, o método de confecção e o tipo de rede predominante em cada sistema produzido.

Tabela 1. Sumário das amostras desenvolvidas.

ID DA AMOSTRA	TIPO DE REDE COMPOSIÇÃO	MÉTODO DE OBTENÇÃO
CN01	Covalente PAm	Exposição UV por 1h
CN03	Covalente PAm	Exposição UV por 3h
CN12	Covalente PAm	Exposição UV por 12h
INe	Iônica PEO-Ca/SA	Eletrofiação
s-IPINc	Cadeias de PEO semi-interpenetradas na rede iônica PEO_{IPN}-Ca/SA	Convencional / Gotejamento
INc	Iônica Ca/SA	Convencional / Gotejamento
DNc01	Dupla PAm-SA/Ca	Exposição UV por 1h Imersão em CL (Convencional)
DNc03	Dupla PAm-SA/Ca	Exposição UV por 3h Imersão em CL (Convencional)
DNc12	Dupla PAm-SA/Ca	Exposição UV por 12h Imersão em CL (Convencional)
DNe01	Dupla PEO-Ca/SA-PAm	Eletrofiação Exposição UV por 1h
DNe03	Dupla PEO-Ca/SA-PAm	Eletrofiação Exposição UV por 3h
DNe_{Mt}01	Dupla PEO-Mt-Ca/SA-PAm	Eletrofiação Exposição UV por 1h
DNe_{Mt}03	Dupla PEO-Mt-Ca/SA-PAm	Eletrofiação Exposição UV por 3h

2.3 CARACTERIZAÇÕES

2.3.1 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Propriedades térmicas como as temperaturas de fusão, de transição vítrea e de degradação foram determinadas a partir da submissão dos hidrogéis confeccionados à análise por Calorimetria Diferencial de Varredura. Esses procedimentos foram realizados em célula de alumínio, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) e taxa de aquecimento de 10°C/min para um intervalo de temperatura de 25 a 230°C. As análises foram conduzidas pela técnica de laboratório Natália B. Caon em um calorímetro diferencial de varredura (modelo: Q20, marca: *TA Instruments*) situado nas instalações da Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

2.3.2 Espessura

Para a obtenção das medidas de espessura foi utilizado um micrômetro analógico externo (modelo: *ZAAS-MICRO-0A25*, marca: *ZAAS precision*) com escala de medição de 0 a 25 mm e resolução de 0,01 mm. Foram realizadas em média seis medidas de espessura para cada amostra em pontos escolhidos aleatoriamente ao longo da película previamente seca em estufa a 70°C até a obtenção de massa constante.

2.3.3 Grau de intumescimento

A identificação da capacidade máxima de expansão de cada retículo foi realizada através da análise do perfil de intumescimento dos hidrogéis a 25°C. Amostras liofilizadas de massa e espessura conhecidas foram imersas em 10,00 mL de solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2. Ao longo de setenta e duas horas foram realizados múltiplos ciclos de recolhimento, pesagem e recondução das amostras à solução de imersão até o alcance do equilíbrio de intumescimento.

O grau de intumescimento foi calculado com base na **Equação 1**, onde m_1 representa a massa da amostra úmida e m_0 a massa da amostra seca.

$$\text{Grau de Intumescimento (\%)} = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

De forma análoga, a capacidade máxima de absorção de água foi calculada a partir da razão entre a massa da amostra em seu estágio de máximo intumescimento (m_t) e a massa inicial que representa o hidrogel desidratado (m_0), conforme indicado na **Equação 2**.

$$\text{Capacidade Máxima (} Q_{\text{máx,água}} \text{)} = \frac{m_t}{m_0} \quad \text{Equação 2}$$

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada um dos retículos iônicos, covalentes e híbridos produzidos.

2.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

As amostras submetidas à caracterização morfológica por SEM foram previamente liofilizadas, recortadas, fixadas em *stubs* com fita de carbono dupla face, recobertas com ouro e acondicionadas em dessecador até o momento de realização das análises.

O procedimento analítico foi conduzido pela usuária habilitada Juliana P. Dreyer em um microscópio eletrônico de varredura (modelo: *JSM-6390LV*, marca: *Jeol*), situado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC, durante o qual as amostras foram submetidas a uma tensão de aceleração média de 10 kV, possibilitando a obtenção de imagens com magnificação de 500 a 7000x. A determinação do raio médio de poros e fibras foi realizada por intermédio do *software ImageJ*.

2.3.5 Ponto de Carga Zero (PZC)

Para os ensaios de ponto de carga zero foi preparada uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de *nitrato de sódio* (Neon), posteriormente distribuída em 10 frascos, cada qual com uma capacidade volumétrica para 10,00 mL.

O pH em cada um dos frascos foi ajustado com soluções diluídas de ácido nítrico ou hidróxido de sódio, a fim de obter-se uma escala variável de pH entre 3,0 e 12,0. As leituras de pH foram realizadas em um pHmetro de bancada (modelo: *K39-2014*, marca: *Kasvi*).

Individualmente, as amostras foram inseridas nas respectivas soluções, agitadas e, por fim, mantidas em repouso por um período suficiente para promover o alcance da capacidade máxima de intumescimento. Nessa condição, as amostras foram removidas do meio e o pH do sobrenadante foi novamente registrado. Após a eliminação do excesso de água com papel toalha, as amostras foram lavadas em água destilada e encaminhadas para a estufa a 50°C , onde permaneceram armazenadas para secagem até a obtenção de massa constante. A partir desse experimento também foi determinada a capacidade máxima de intumescimento de cada amostra sob condições distintas de pH.

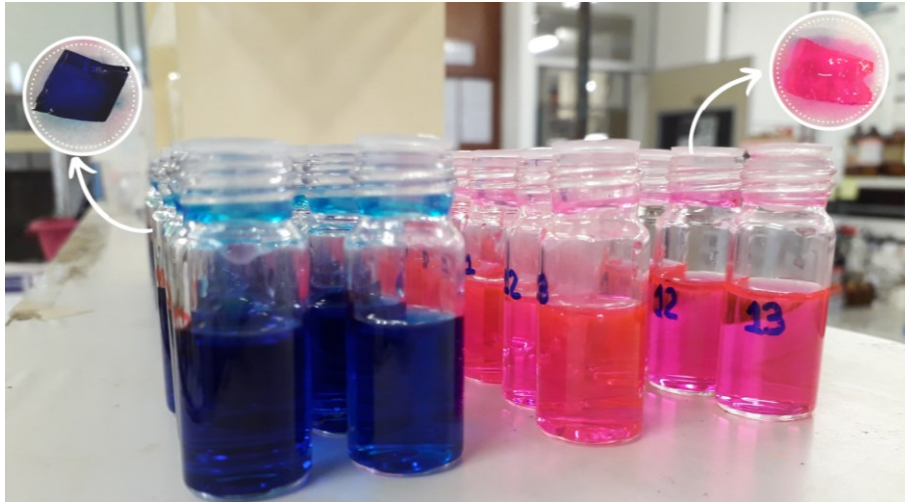
2.3.6 Ensaio de encapsulação e liberação de corantes

Ensaios de encapsulação e liberação de azul de metileno (**MB**) e rodamina B (**RhB**) foram realizados com a infraestrutura disponível no laboratório Polissol (Departamento de Química - UFSC), utilizando-se banho termostático com circulação externa (modelo: *MQBTC 99-20*, marca: *Microquímica*) para o controle de temperatura e um espectrofotômetro UV-Vis (modelo: *Cary 60*, marca: *Agilent Technologies*) para a detecção do composto ativo liberado.

Inicialmente, foram preparadas soluções aquosas concentradas de **RhB** ($24,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e **MB** ($44,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$). Essas soluções foram distribuídas em frascos com capacidade volumétrica para 3,00 mL nos quais amostras de peso e dimensões conhecidas de todos os hidrogéis confeccionados foram imersas por um intervalo de tempo pré-determinado a fim de que o grau máximo de intumescimento de cada retículo fosse atingido.

Os géis contendo o corante absorvido (**Figura 14**) foram encaminhados para secagem em estufa a 50°C até o alcance de massa constante, aferida periodicamente em balança analítica. Atingida essa condição, as amostras foram armazenadas em dessecador a vácuo.

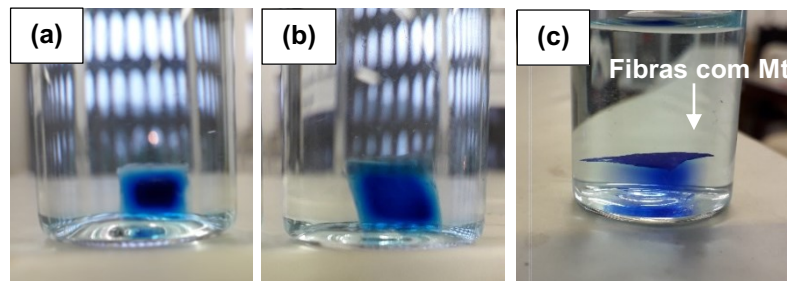
Figura 14. Amostras de hidrogéis intumescidos após a absorção de **MB** e **RhB**.



Imagens capturadas pela autora (2021).

A liberação do corante encapsulado em cada amostra foi realizada em frascos individuais contendo 10,00 mL de solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, com renovação parcial do meio de liberação em intervalos periódicos (**Figura 15**).

Figura 15. Imagens capturadas durante a realização dos testes de liberação de **MB** encapsulado nas amostras **DNc01 (a)**, **DNc03 (b)** e **DNem03 (c)**.

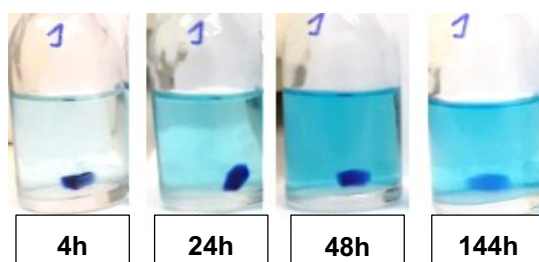


Imagens capturadas pela autora (2021).

O pH e a temperatura de cada compartimento foram aferidos ao longo de todo o processo para garantir da melhor forma possível a condução de todos os experimentos sob condições constantes. Ao todo foram realizados três conjuntos de experimentos: os dois primeiros envolvendo a liberação dos corantes **MB** e **RhB** em temperatura ambiente (25°C), e o terceiro, à caráter de simulação das condições de liberação de um sistema de *drug-release* sublingual, realizado a 37°C somente para o corante **MB**.

Para a construção das curvas de cinética de liberação cumulativa, alíquotas de 3,00 mL do sobrenadante, coletadas em intervalos de tempo pré-definidos, foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis (**Figura 16**).

Figura 16. Imagens capturadas após 4, 24, 48 e 144h de liberação de **MB** encapsulado na amostra **DNe01**.



Condições experimentais: tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, 25°C.

Imagens capturadas pela autora (2021).

O teor liberado foi quantificado a partir de curvas de calibração construídas para cada corante (**APÊNDICE A**). Em uma cubeta de quartzo contendo 2,50 mL de solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, foram realizadas sucessivas adições de 0,20 mL da solução estoque do corante acompanhadas pela leitura dos valores de absorvância correspondentes ao comprimento de onda de absorção máxima. Os espectros de UV-Vis obtidos para os corantes **MB** e **RhB** encontram-se anexos aos **APÊNDICE B-C**).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SISTEMAS DE REDE COVALENTE

Os hidrogéis de **PAm** sintetizados a partir da metodologia proposta (**Figura 17**) são produtos de uma reação de polimerização por adição, induzida por radicais livres.

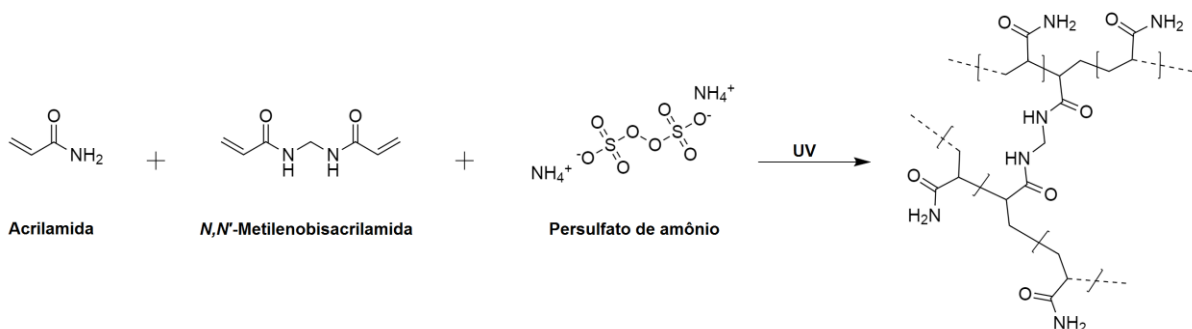
Figura 17. Fotografia de um recorte da amostra **CN01**.



Imagem obtida pela autora (2021).

O desenvolvimento da estrutura reticulada ocorre conforme o agente reticulante (**MBAm**) é incorporado à cadeia polimérica. Devido à presença de ligações duplas em ambas as extremidades, essa componente é o fator que determina o estabelecimento de ligações cruzadas entre as cadeias (**Figura 18**).²⁶

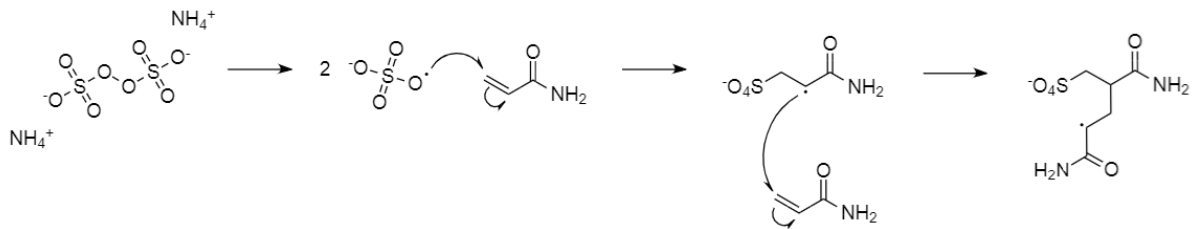
Figura 18. Estruturas dos reagentes e representação estrutural do produto obtido a partir da reação de polimerização da acrilamida.



Íons persulfato ($S_2O_8^{2-}$), oriundos da dissolução de persulfato de amônio na solução aquosa contendo os agentes precursores para a polimerização, sob exposição à radiação ultravioleta ocasionam a formação de dois equivalentes de radicais sulfato ($SO_4^{\cdot-}$).²⁷

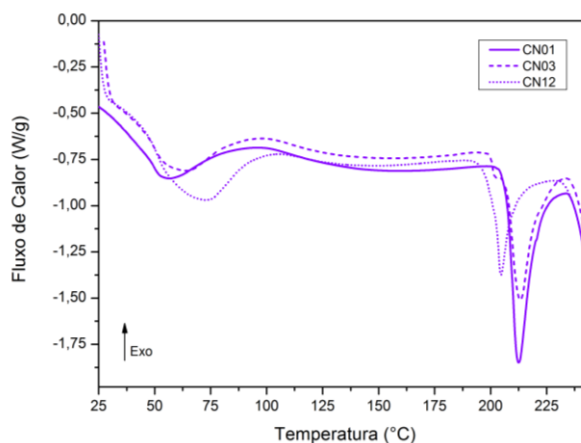
A etapa de iniciação é marcada pelo ataque desses radicais à dupla ligação de monômeros de acrilamida. Tão logo são originados, os radicais de acrilamida livres em solução atacam a dupla ligação de outros monômeros principiando a formação de cadeias e a sua propagação (**Figura 19**).

Figura 19. Representação esquemática do mecanismo de polimerização radicalar que conduz à formação da poliacrilamida.



Após a realização dos procedimentos de lavagem e secagem em estufa até a obtenção de massa constante, foram aferidas as seguintes medidas de espessura: $1,91 \pm 0,27$ mm para a **CN01**, $2,33 \pm 0,37$ mm para a **CN03** e $1,63 \pm 0,31$ mm para a **CN12**. Recortes dessas amostras foram submetidos à análise por DSC a fim de que suas características térmicas pudessem ser identificadas. Os resultados, expressos em fluxo de calor (W/g) por temperatura ($^{\circ}C$), foram reproduzidos na figura a seguir.

Figura 20. Termogramas dos hidrogéis de rede covalente à base de **PAm** polimerizada *in situ* (**CN**) após uma, três e doze horas de exposição à radiação ultravioleta, obtidos via análise por DSC.



Para cada um dos termogramas obtidos foi possível verificar a existência de duas transições de primeira ordem de caráter endotérmico e uma transição de segunda ordem, representada pela temperatura de transição vítrea (T_g). Todas as amostras demonstraram a ocorrência de um evento endotérmico no intervalo de 50 a 100°C atribuído à evaporação de água.

O hidrogel produzido a partir de uma hora de exposição à radiação (**CN01**) apresentou uma T_g em 121°C seguida por um segundo evento endotérmico, caracterizado por um pico estreito em 212°C, relativo à temperatura de fusão do produto da reação de polimerização.

Na literatura, as temperaturas de transição vítrea e de fusão associadas à poli(acrilamida) pura equivalem, respectivamente, a 97 e 237°C, ao passo que hidrogéis derivados de acrilamida apresentam valores de T_g que oscilam entre 90 e 117°C.²⁸⁻³⁰ Esse acréscimo no valor da T_g do hidrogel **CN01** em relação ao polímero puro é um reflexo da existência de ligações cruzadas entre as cadeias que impactam na formação de uma estrutura mais rígida.³¹ Por outro lado, a redução do valor da temperatura de fusão pode ser um indício da existência de impurezas ou resquícios de reagentes excedentes.

Estudos indicam que a exposição contínua de hidrogéis à base de acrilamida e **MBA**m à radiação UV pode provocar a clivagem das ligações cruzadas que mantêm sua estrutura, ampliando o volume livre entre as cadeias.³²⁻³⁴ Com isso, a redução da eficácia de empacotamento da rede se projeta sobre a queda no valor de

$\Delta_{fus}H$, conforme pode ser observado para as amostras **CN03** e **CN12** na **Tabela 2**. O processo de degradação se inicia, para todas as amostras, a partir de 230°C.

Tabela 2. Parâmetros térmicos resultantes da análise dos hidrogéis de rede covalente à base de poli(acrilamida) por DSC.

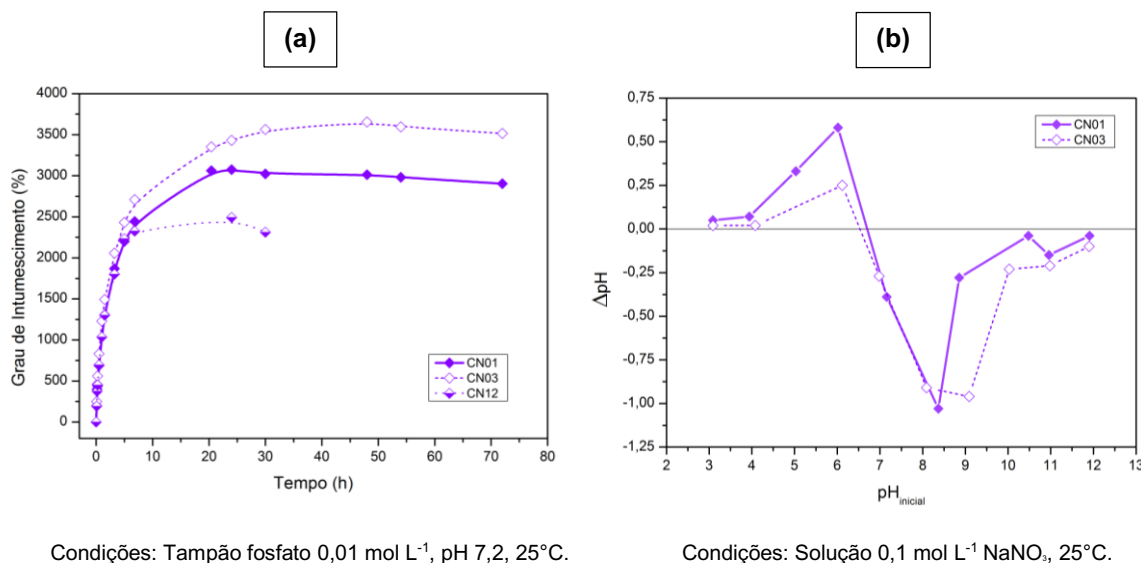
Amostra	T_g (°C)	$T_{inicial}$ (°C)	T_{fus} (°C)	T_{final} (°C)	$\Delta_{fus}H$ (J/g)	T_{deg} (°C)
CN01	121,1	205,0	212,4	226,9	57,1	234,9
CN03	121,8	199,9	213,1	233,3	51,4	234,9
CN12	125,6	193,1	204,6	221,7	28,8	230,6

Inicialmente, a cisão de unidades de **MBAm** libera para o meio reacional unidades de acrilamida que eventualmente podem ser reincorporadas à cadeia principal durante a etapa de polimerização, o que justificaria a proximidade entre os valores de T_g , T_{fus} e $\Delta_{fus}H$ das amostras **CN01** e **CN03**.

Após uma exposição prolongada por doze horas (**CN12**), os hidrogéis de poli(acrilamida) apresentaram uma queda pronunciada do valor de $\Delta_{fus}H$ associada a uma redução da T_{fus} (205°C) quando comparados aos índices observados para a amostra que possui um maior grau de reticulação, **CN01**. Esse comportamento sugere o aumento do volume livre entre as cadeias poliméricas em função das cisões provocadas pela exposição excessiva à radiação ultravioleta.³⁵⁻³⁷

A fim de complementar a discussão em torno da influência do tempo de exposição à radiação nas características dos hidrogéis à base de **PAm**, foram realizados dois tipos de ensaios de intumescimento cujos resultados foram detalhados na **Figura 21** e na **Tabela 3**. O primeiro ensaio (**Figura 21a**), consiste na avaliação da taxa de intumescimento em função do tempo de imersão das amostras em solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2. O segundo ensaio (**Figura 21b**), denominado Ponto de Carga Zero (PZC), baseia-se na imersão dos géis em diferentes índices de pH e na avaliação do comportamento dos retículos em função do desenvolvimento de cargas superficiais residuais.

Figura 21. Cinéticas de intumescimento desempenhadas em pH 7,2 (a) e resultados dos ensaios de PZC (b) para as amostras **CN01**, **CN03** e **CN12**.



A capacidade de absorção de água das redes de poliácridamida está associada à presença de grupos funcionais hidrofílicos (*amida*) distribuídos ao longo da matriz. Esses grupos são capazes de estabelecer ligações de hidrogênio com moléculas de água, confinando-as no espaço disponível entre as cadeias poliméricas do hidrogel.

Identifica-se através das cinéticas de intumescimento em pH 7,2 que a amostra **CN03** apresentou uma capacidade máxima de intumescimento que corresponde a 38 vezes o peso da amostra desidratada, 19% superior ao fator de intumescimento máximo atingido pela amostra **CN01**, de 32 vezes seu peso inicial.

Esses índices corroboram com as hipóteses traçadas através dos resultados das análises de DSC. A partir de uma hora de incidência de radiação UV no sistema iniciam-se processos de clivagem das ligações cruzadas anteriormente estabelecidas entre as cadeias poliméricas por ação do agente reticulante. A queda na densidade de reticulações além de aumentar o volume médio entre as cadeias, confere à estrutura uma maior flexibilidade, facilitando o processo de expansão do retículo e a acomodação de uma maior quantidade de moléculas de água em seu interior.^{32,34,38,39}

Por sua vez, a incidência contínua de radiação UV por um período de doze horas resultou em um hidrogel com uma capacidade máxima de absorção de água inferior à das amostras **CN01** e **CN03**. Atenta-se para o fato de que, após oito horas de intumescimento, a amostra começou a demonstrar sinais de desintegração e

dissolução no sobrenadante. Esse comportamento, associado aos resultados da análise de DSC, demonstra o enfraquecimento do retículo ocasionado pela exposição prolongada à radiação e pelas consecutivas clivagens ao longo da cadeia polimérica inicialmente formada.³²⁻³⁴

A capacidade máxima de absorção de água das amostras **CN01** e **CN03** também foi avaliada em função da variação de pH do meio de imersão. Esses dados foram coletados durante os ensaios de PZC, em meio não-tamponado, contendo 0,1 mol L⁻¹ de NaNO₃ (*força iônica I = 1,9*).

A análise do PZC retorna o valor de pH para o qual a densidade de carga líquida superficial de um material se aproxima de zero, indicando que há um equilíbrio entre suas cargas residuais positivas e negativas.⁴⁰

Nota-se que as amostras analisadas a partir do intumescimento em solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, *I = 0,22*) (**Figura 21a**) apresentaram uma maior capacidade de expansão do que os hidrogéis submetidos aos ensaios de PZC por um intervalo de tempo idêntico (**Tabela 3**).

Tabela 3. Capacidade máxima de intumescimento ($Q_{\text{máx,água}}$) das amostras **CN01** e **CN03** determinada a partir do ensaio de PZC sob diferentes valores de pH.

		$\text{pH}_{\text{inicial}}$									
		3,1	4,1	5,1	6,1	7,2	8,1	9,4	10,2	11,3	11,9
$Q_{\text{máx}}$ (g/g)	CN01	7,3	7,7	8,2	5,5	9,3	11,2	7,7	9,4	11,1	14,8
	CN03	12,8	14,4	13,7	14,1	14,1	13,9	12,5	16,3	15,4	20,3

Nesse caso, a diferença de pressão osmótica entre a solução de imersão e o interior do hidrogel pode estar atuando como força motriz para a expansão do retículo. Essa diferença é pronunciada em sistemas de imersão com pouca força iônica, de modo que há uma canalização de moléculas de água para o interior do hidrogel.

Por outro lado, o aumento da concentração de íons em solução provoca uma redução na diferença de pressão osmótica entre essas regiões, de forma que parte do fluxo de moléculas de água que adentra o hidrogel tende a retornar para a solução salina. Desse modo justificam-se os baixos índices de intumescimento observados nos ensaios de PZC, cuja força iônica do meio é aproximadamente

8,6 vezes maior do que o sistema tamponado utilizado para a construção da cinética de intumescimento.^{38,41}

Verifica-se, em ambos os casos, que a imersão das amostras em uma solução ácida, contendo um valor de pH próximo a 3,0, resulta no desenvolvimento de uma carga residual positiva (**Figura 21b**). Esse comportamento indica o consumo de prótons livres em solução para o estabelecimento de ligações de hidrogênio entre grupos amida, fato que condiz com o perceptível encolhimento da estrutura. Com a redução do volume livre entre as cadeias, há uma redução na capacidade de absorção de água, conforme pode ser verificado na **Tabela 3**.^{42,43}

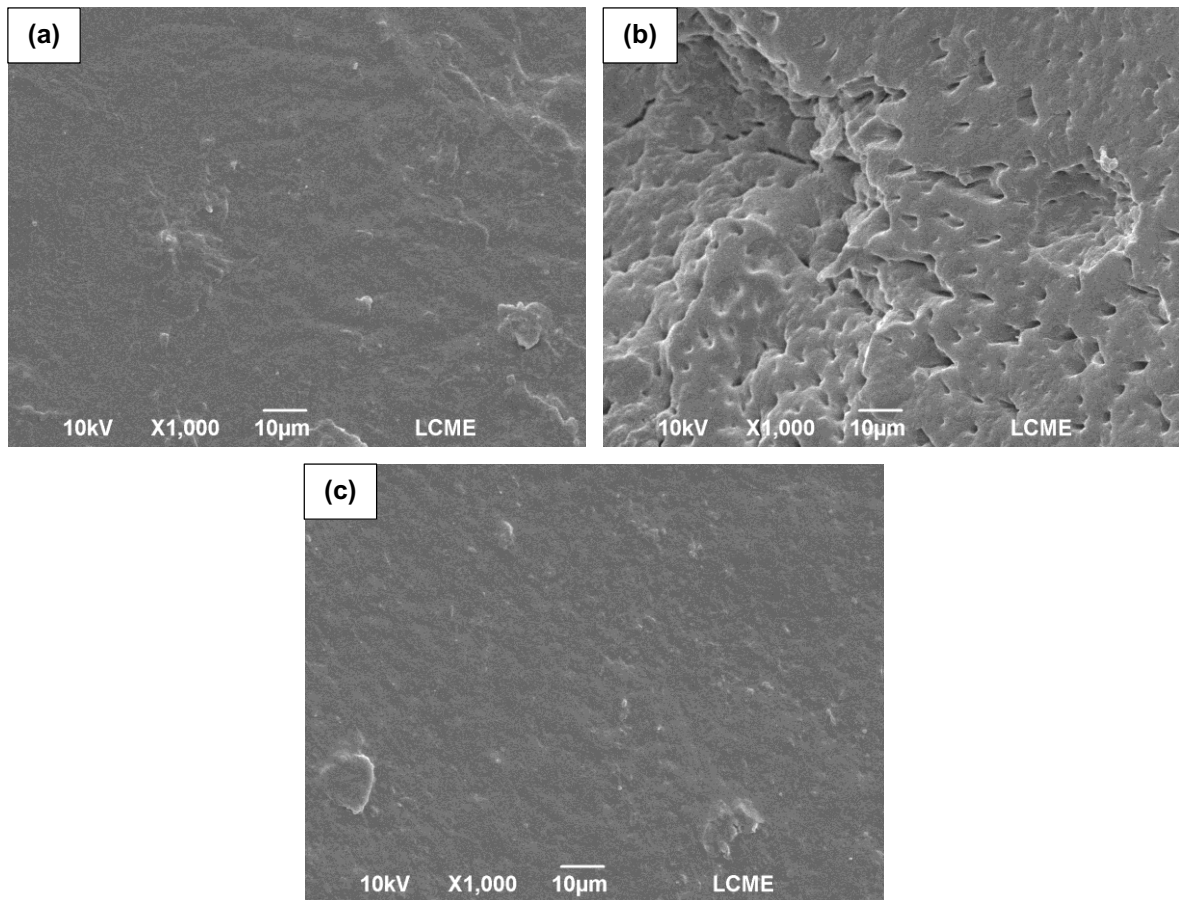
A medida que o pH aumenta, as ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais tornam-se menos frequentes e a estrutura adquire uma maior flexibilidade, acompanhada por uma maior capacidade de expansão.⁴³

Em pH em torno de 6,7, para a **CN01**, e 6,5, para a **CN03**, ambas as superfícies se encontram em uma condição de neutralidade de cargas.

No intervalo de pH entre 5,0 e 9,0 as amostras mantêm uma capacidade de intumescimento relativamente constante. Porém, a capacidade de expansão do retículo segue uma tendência crescente para valores de pH acima de 10,0. Alguns autores afirmam que esse comportamento é um reflexo da hidrólise parcial de grupos *amida* a *ácido carboxílico*.^{38,44,45} Nessa condição, a formação de grupos carboxilatos conduz ao afastamento máximo entre as cadeias poliméricas, permitindo que um maior número de moléculas de água seja acomodado em seu interior a fim de que os efeitos da repulsão eletrostática sejam minimizados.⁴³⁻⁴⁵

Por fim, realizou-se o estudo morfológico das amostras a partir de imagens obtidas por SEM (**Figura 22**). As micrografias dos hidrogéis obtidos após uma (**Figura 22a**) e doze horas (**Figura 22c**) de exposição à radiação UV expõem superfícies de aspecto homogêneo e sólido, similares à aparência de filmes poliméricos quando observados pela mesma técnica.⁴⁶

Figura 22. Micrografias das amostras: **CN01 (a)**, **CN03 (b)** e **CN12 (c)**.



A rugosidade marcada por declives circulares na superfície da amostra **CN12 (Figura 22c)** sugere a pré-existência de poros que eventualmente coalesceram devido à reabsorção de água no intervalo de tempo entre o preparo e a análise das amostras. A micrografia obtida para a amostra **CN03 (Figura 22b)** corrobora com a hipótese anterior visto que apresenta indícios de uma matriz de poros interconectados em fase de coalescência.

Conforme demonstrado pelo ensaio de intumescimento, a amostra produzida após três horas de exposição à radiação ultravioleta possui uma capacidade de expansão do retículo superior às demais (**Figura 21a**). Por conseguinte, estima-se que o tamanho médio de seus poros seja proporcionalmente elevado, razão pela qual a amostra ainda não teria coalescido completamente até o momento da análise.

3.2 SISTEMAS DE REDE IÔNICA

Antes da elaboração dos hidrogéis de rede iônica foram realizados testes de eletrofiação sobre lamínulas de vidro e folhas de papel alumínio. O primeiro teste foi realizado com soluções de diferentes concentrações de **PEO** (M_w 900 kDa) em água destilada. Nesse ensaio foram detectadas as condições mínimas para a obtenção de fibras do polímero puro que, posteriormente, seria empregado como polímero de base para a confecção de hidrogéis eletrofiados de **PEO-Ca/SA**.

A partir da observação das lamínulas contra a luz e da identificação óptica do padrão de interferência resultante da deposição das fibras, novas amostras foram coletadas em folhas de papel alumínio para posterior submissão à análise por SEM.

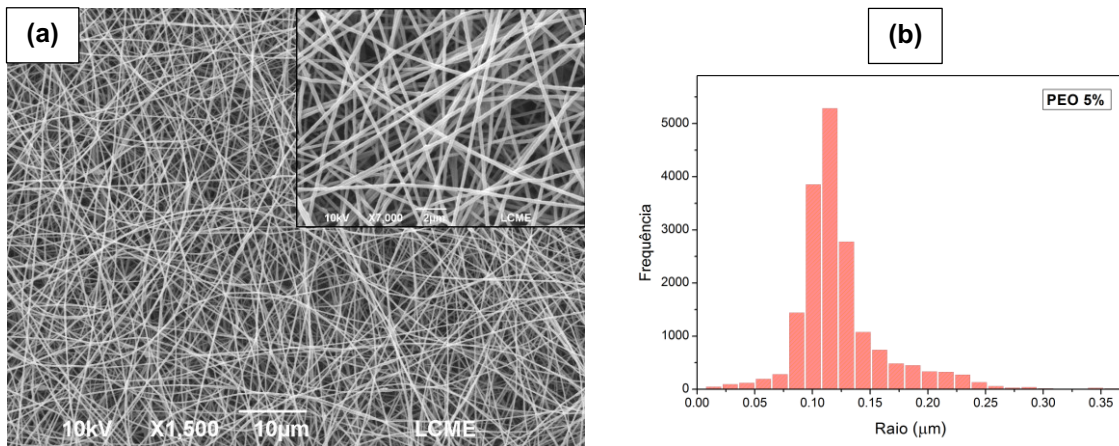
Os parâmetros operacionais que possibilitaram a eletrofiação do sistema **PEO** 5% (m/v) e as condições ambientais do momento de obtenção das amostras encontram-se descritos na **Tabela 4**.

Tabela 4. Parâmetros de eletrofiação e condições ambientais vinculadas às fibras de **PEO** 5% (m/v).

AMOSTRA	PARÂMETROS DE ELETROFIAÇÃO		CONDIÇÕES AMBIENTAIS	
	Fluxo de solução (mL/h)	Tensão elétrica (kV)	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
PEO 5% (m/v) M_w 900 kDa	0,50	15,1	21,3	50

A imagem obtida a partir da submissão de uma amostra eletrofiada à análise por microscopia eletrônica de varredura (SEM) (**Figura 23a**) demonstra a presença de fibras bem definidas e contínuas, de aspecto homogêneo e liso, ausência de gotas e raio médio de 110 nm (**Figura 23b**).

Figura 23. Micrografia das fibras de **PEO 5% (m/v)** (a) e histograma de distribuição do tamanho do raio das fibras (b).



Condições experimentais: 0,50 mL/h; 15,1 kV; 21,3°C; 50% RH.

Com a determinação das condições fundamentais, os próximos experimentos transcorreram a partir da fixação de uma proporção mínima de 5% (m/v) de **PEO** (M_w 900 kDa) em água destilada, quantidade suficiente para desempenhar o processo de eletrofiação de forma fluida.

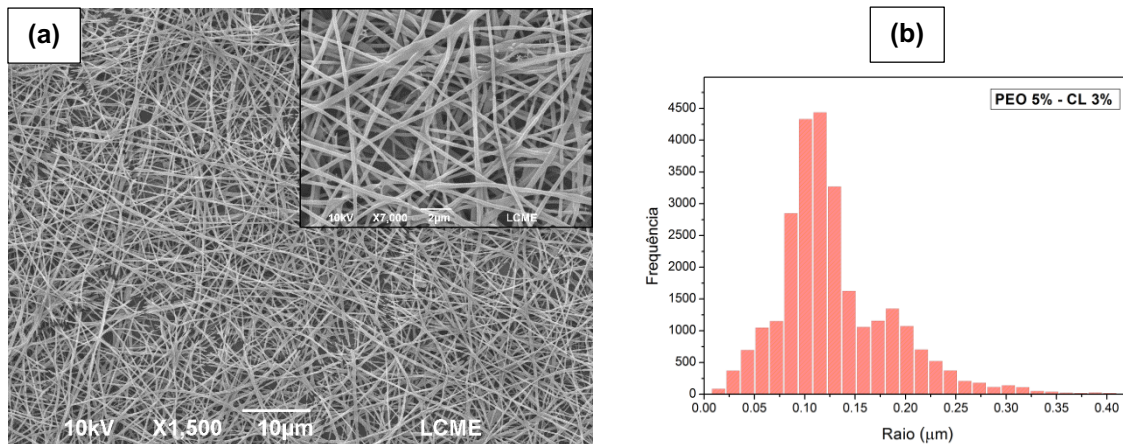
Para a elaboração de sistemas **Ca/SA** optou-se pela utilização de lactato de cálcio (**CL**) 3% (m/v), com base em um estudo prévio desenvolvido pela autora durante seu trabalho de conclusão de curso.²⁵ Os parâmetros operacionais e ambientais relacionados à eletrofiação desse sistema foram registrados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Parâmetros de eletrofiação e condições ambientais vinculadas às fibras de **PEO5% - CL3%** (m/v).

AMOSTRA	PARÂMETROS DE ELETROFIAÇÃO		CONDIÇÕES AMBIENTAIS	
	Fluxo de solução (mL/h)	Tensão elétrica (kV)	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
PEO5% - CL3%	0,50	15,7	21,5	49

A **Figura 24a** apresenta uma micrografia resultante da análise de uma amostra de fibras de **PEO5% - CL3%** (m/v) por SEM. Nessa imagem podem ser observadas fibras com superfície de aspecto homogêneo, com poucas regiões de descontinuidade, algumas regiões de afinilamento e ausência de gotas.

Figura 24. Micrografia das fibras de **PEO5% - CL3%** (m/v) **(a)** e histograma de distribuição do tamanho do raio das fibras **(b)**.



Condições experimentais: 0,50 mL/h; 15,7 kV; 21,5°C; 49% RH.

O histograma referente à distribuição do tamanho do raio das fibras (**Figura 24b**) indica uma maior dispersão de valores para o sistema **PEO5% - CL3%** (m/v) em relação ao sistema **PEO5%** (m/v), apresentando um raio médio de 110 nm. Apesar de promover um efeito plastificante, auxiliando no alinhamento das cadeias de **PEO**, a presença do sal é também responsável pelo aumento da condutividade da solução. Embora contribua para a primordial etapa de formação do cone de Taylor, o acúmulo de cargas em algumas regiões provoca oscilações no jato durante o processo de afinamento, demandando a aplicação de uma tensão elétrica ligeiramente superior à utilizada para o sistema **PEO5%** (m/v) para o controle do fluxo. Como reflexo dessa instabilidade, o jato pode romper-se durante a projeção resultando na perda da continuidade das fibras, propiciando assim, uma maior variedade de tamanhos de raio, conforme ilustra o histograma da **Figura 24b**.

Após a definição das condições elementares de eletrofiação deu-se prosseguimento à elaboração de hidrogéis à base de **Ca/SA**.

Neste trabalho foram exploradas duas estratégias de confecção de rede iônica. A primeira delas, consistiu na coleta instantânea de fibras poliméricas de **PEO5% - CL3%** (m/v) sobre uma solução de **SA 3%** (m/v) (**Figura 25**).

Figura 25. Fotografia da amostra **INe**.

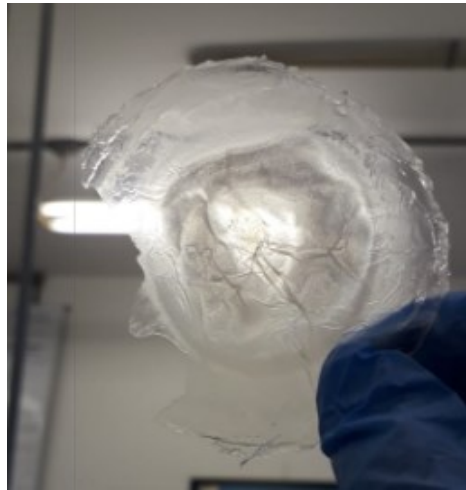


Imagem obtida pela autora (2021).

A segunda técnica utilizada foi o gotejamento, a partir do qual foram confeccionadas duas amostras: a **INc**, baseada no gotejamento de uma solução de **CL** 3% (m/v) sobre uma solução de **SA** 3% (m/v); e a **s-IPINc**, cuja composição das soluções de partida é igual à **INe**, porém, resulta em uma matriz de estrutura diferenciada em função da variação do método empregado, contendo cadeias de **PEO** semi-interpenetradas na rede de **Ca/SA** (**Figura 11**).

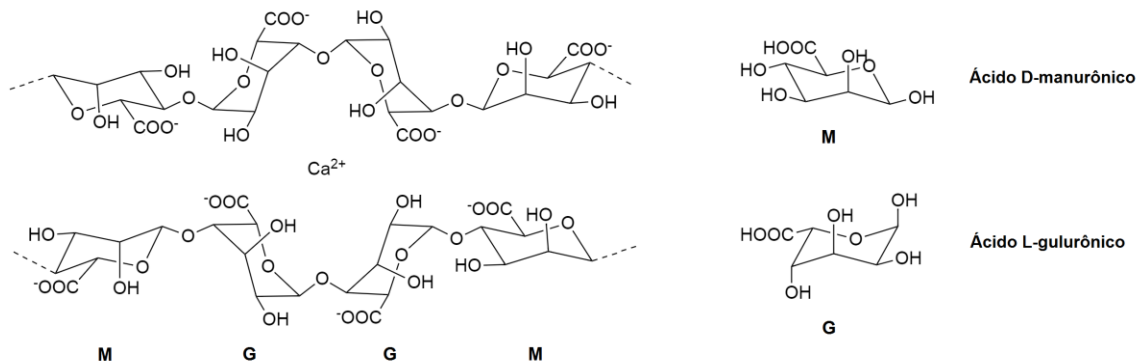
O retículo iônico formado a partir das metodologias propostas se baseia no estabelecimento de interações eletrostáticas entre um polieletrólito aniônico, *alginate*, e um cátion bivalente, *cálcio*.

A componente alginate de sódio é um polissacarídeo derivado do ácido algínico, cuja cadeia principal é constituída por unidades de ácido D-manurônico (pK_a 3,38) e L-gulurônico (pK_a 3,65) unidas através de ligações β -1,4 glicosídicas. A estrutura adquire caráter de polieletrólito em pH acima de 3,65, condição sob a qual ambos os grupos *ácido carboxílico* se apresentam na forma de carboxilatos.^{47,48}

Na presença de cátions multivalentes, esses grupos estabelecem interações eletrostáticas que têm como efeito a aproximação entre as cadeias de alginate, causando o aprisionamento do íon em seu interior.

No caso do íon cálcio, a reticulação efetiva provém da interação entre o cátion e dois grupos *carboxilato* oriundos de dímeros compostos por unidades residuais de ácido L-gulurônico (G), resultando em uma estrutura caracterizada como *egg-box* (**Figura 26**).^{48,49}

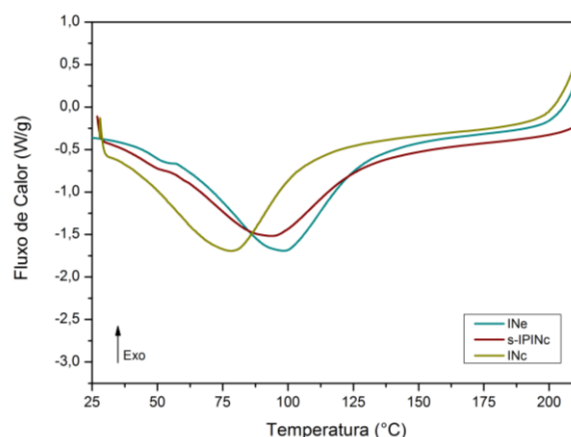
Figura 26. Representação estrutural do retículo iônico formado por **Ca/SA** e das unidades monoméricas que compõem o polissacarídeo.



Realizadas as etapas de lavagem e secagem das amostras em estufa até a obtenção de massa constante, foram registradas as seguintes medidas de espessura: $0,72 \pm 0,17$ mm para a **INe**, $0,81 \pm 0,39$ mm para a **s-IPINc** e $0,32 \pm 0,13$ mm para a **INc**.

Alíquotas dessas amostras foram submetidas à análise por DSC a fim de que suas características térmicas pudessem ser determinadas. Os resultados, expressos em fluxo de calor (W/g) por temperatura (°C) encontram-se representados na **Figura 27**.

Figura 27. Termogramas dos hidrogéis de rede iônica à base de **Ca/SA** (**INe**, **s-IPINc** e **INc**), obtidos via análise por DSC.



Verifica-se nos termogramas expostos na **Figura 27** a existência de apenas uma transição de primeira ordem de caráter endotérmico, que corresponde à evaporação de água.

Na curva associada à amostra **INc** essa transição é predominante no intervalo de 32 a 120°C. Nas curvas coincidentes, relacionadas às amostras **INe** e **s-IPINc**, esse evento é observado em uma faixa ligeiramente mais ampla, entre 55 e 156°C. Nesses hidrogéis há uma concentração de 5% (m/v) de **PEO**, um polímero altamente higroscópico. O aprisionamento de moléculas de água na região delimitada pelo volume livre entre as cadeias poliméricas pode ser a razão pela qual o processo de evaporação esteja sendo dificultado, requerendo o fornecimento de uma maior quantidade de energia para que seja efetuado.⁵⁰

Estudos publicados envolvendo a análise térmica de hidrogéis à base de **Ca/SA** demonstram que a temperatura de transição vítrea do retículo formado pode ser observada entre 115 e 131°C, a depender da concentração de íons cálcio e da quantidade de unidades de ácido L-gulurônico presentes na cadeia.^{51,52}

Conforme os experimentos de Russo e colaboradores (2007), para a concentração de cálcio utilizada no preparo desses sistemas previa-se a ocorrência de uma T_g entre 119 e 131°C. Porém, devido ao elevado índice de hidratação das amostras, essa região encontra-se oculta pelo evento supracitado e, portanto, não permite o levantamento da temperatura de transição vítrea do retículo formado por **Ca/SA**.⁵¹

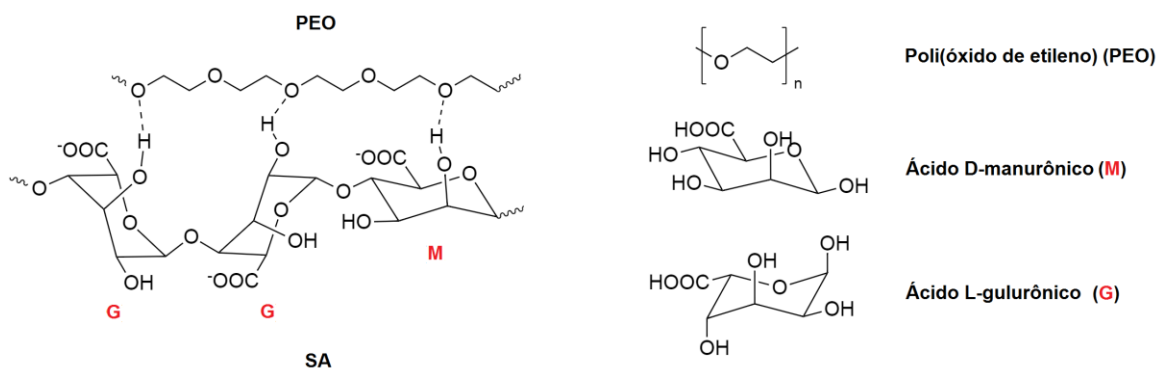
Apenas nas amostras **INe** e **s-IPINc** é possível perceber a ocorrência de uma transição de segunda ordem na região próxima a 50°C. Esses hidrogéis se distinguem da amostra **INc** por apresentarem em sua composição **PEO**. Além disso, estima-se que a eletrofiliação exerça um efeito de orientação sobre as cadeias poliméricas, cujo alinhamento, supostamente, deverá estabelecer uma rigidez superior à apresentada pelo polímero puro, cuja T_g se situa em torno de -50°C.^{53,54}

De fato, os estudos de Hu e colaboradores identificaram uma T_g de 76°C para fibras de **PEO** (M_w 900 kDa) puro. Os autores verificaram ainda, que a adição de uma quantidade equivalente de **SA** é capaz de provocar uma redução da T_g para aproximadamente 65°C.⁵⁵ Nesse cenário, a acomodação das cadeias de um polieletrólito amorfo no entorno da estrutura do **PEO** contribuiria para a redução do valor da T_g .

Ainda assim, o valor observado representaria uma estrutura consideravelmente ordenada, levando-se em conta a proporção equivalente das componentes **SA** e **PEO**.⁵⁶

Com base em resultados de DSC e análises complementares, Hu e colaboradores, dentre outros pesquisadores, defendem a existência de interações intermoleculares entre as cadeias de **PEO** e **SA**, estabelecidas por meio de ligações de hidrogênio entre átomos de oxigênio do **PEO** e grupos *hidroxila* do polieletrólito, compondo uma espécie de estrutura fisicamente reticulada (**Figura 28**).^{55,57}

Figura 28. Representação da estrutura interconectada formada por **PEO/SA** e das unidades monoméricas que compõem suas cadeias poliméricas.

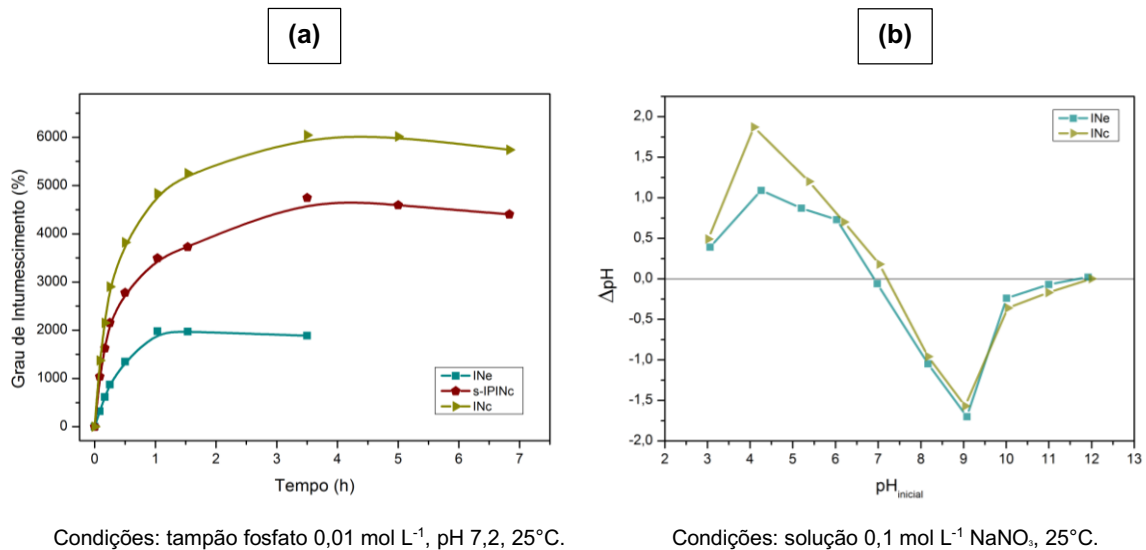


Essas interações seriam capazes de formar uma estrutura interconectada similar, embora mais frágil, à de retículos iônicos, de modo que os eventos detectados em 49°C e 45°C, para as amostras **INe** e **s-IPINc**, corresponderiam à temperatura de transição vítrea da matriz composta por **PEO/SA**. O fato de que a amostra **INe** apresenta um maior valor de T_g pode ser um reflexo do alinhamento das cadeias de **PEO** em função do processo de eletrofiliação, que por consequência, induzem a organização de cadeias de **SA** no seu entorno, favorecendo um aumento na densidade de reticulações. O acréscimo na T_{fus} das amostras **INe** e **s-IPINc** em relação à **INc** também é um indicativo do estabelecimento de ligações de hidrogênio entre **PEO/SA** visto que a partir delas se obtém uma estrutura mais compacta e rígida.

A partir de 212°C observa-se o início de processos degradativos para a **INc**. A adição de fibras e cadeias de **PEO** de forma interpenetrada e semi-interpenetrada ao sistema retarda esses processos para 213°C (**INe**) e 217°C (**s-IPINc**), respectivamente.

Ensaio de intumescimento (**Figura 29a**) e PZC (**Figura 29b**) foram realizados com o objetivo de compreender como essas matrizes se comportam sob a influência de estímulos externos como a variação do pH e da força iônica.

Figura 29. Cinéticas de intumescimento desempenhadas em pH 7,2 (a) e resultados dos ensaios de PZC (b) para as amostras **INe**, **s-IPINc** e **INc**.



A capacidade de intumescimento dos hidrogéis à base de **Ca/SA** está relacionada à existência de grupos funcionais hidrofílicos e ionizáveis (*hidroxilas* e *carboxilatos*) que potencializam a canalização de água para o seu interior através do fluxo osmótico determinado pelo movimento de contra-íons.^{41,58} Por conta disso, retículos à base de polieletrólitos apresentam uma maior capacidade de intumescimento do que hidrogéis compostos por materiais de origem não-iônica ou redes covalentes, cuja presença de ligações cruzadas entre as cadeias limita sua capacidade de expansão.⁵⁹

Verifica-se na **Figura 29a**, por exemplo, que a amostra composta apenas por **Ca/SA** (**INc**) atinge em quatro horas a região que denota o equilíbrio de intumescimento com uma capacidade máxima de absorção de água igual a 64x o seu peso inicial. Esse valor é duas vezes maior do que o apresentado pela amostra de rede covalente **CN01** (32x), que somente atinge o patamar de equilíbrio após vinte horas de imersão.

Outro parâmetro que pode influenciar na flexibilidade do retículo é a incorporação de aditivos. Apesar de se tratar de um polímero hidrofílico, a adição de **PEO** ao sistema, seja através de gotejamento (**s-IPINc**) ou de eletrofiação (**INe**), causa uma redução na capacidade máxima de absorção de água para $Q_{máx,INe} = 26x$ e $Q_{máx,s-IPINc} = 50x$. A presença de **PEO**, seja na forma de fibras ou de cadeias interpenetradas na rede de **Ca/SA**, além de reduzir o volume livre entre as macromoléculas, causa uma restrição adicional à expansão do hidrogel.

Nesse quesito, cabe ressaltar que o **PEO** é capaz de estabelecer ligações de hidrogênio com os grupos *hidroxila* do alginato, atuando como uma espécie de reforço estrutural que reduz a flexibilidade da matriz.^{55,57}

No caso do hidrogel formulado a partir da técnica de eletrofiação (**INe**) a rede se torna ainda mais complexa, visto que a formação do retículo iônico **Ca/SA** se dá no entorno da fibra de **PEO-Ca**. O envolvimento das fibras por aproximação do polieletrólito aos íons Ca^{2+} favorece também o estabelecimento de ligações de hidrogênio entre **PEO/SA**. Por esse motivo a estrutura se torna ainda mais compacta e restritiva quanto à acomodação de moléculas no seu interior.

Por intermédio dos ensaios de PZC (**Figura 29b**) foi possível determinar o pH para o qual tem-se uma distribuição equivalente de cargas negativas e positivas ao longo do retículo. Obteve-se $\text{pH}_{\text{PZC}} = 6,9$ para o hidrogel **INe** e $\text{pH}_{\text{PZC}} = 7,2$ para a amostra **INc**.

À medida que o pH inicial da solução de imersão se aproxima do PZC (pH acima de 6,0) as curvas de ambas as amostras se tornam coincidentes, demonstrando um comportamento similar frente a elevação de pH.

Quando o pH do meio se encontra acima do pK_a das unidades monoméricas do alginato: ácido D-manurônico (pK_a 3,38) e L-gulurônico (pK_a 3,65), a densidade de cargas sobre o retículo, assim como a sua capacidade de intumescimento, passa a ser governada pelo equilíbrio de ionização dos grupos *ácido carboxílico*.⁴⁰

Abaixo do pH_{PZC} , a concentração de íons H^+ mantém esses grupos na sua forma protonada (-COOH). Nessa condição, o encolhimento da estrutura é mais pronunciado na amostra **INe** onde há cadeias de **PEO** disponíveis para o estabelecimento de um maior número de ligações de hidrogênio.

Esse comportamento se reafirma na baixa capacidade de absorção de água, conforme pode ser verificado na **Tabela 6**, e de certa forma reproduz o comportamento observado para hidrogéis constituídos por polímeros não-iônicos, cuja capacidade de expansão se define pela densidade de reticulações.^{39,43,59}

Tabela 6. Capacidade máxima de intumescimento ($Q_{\text{máx,água}}$) das amostras **INe** e **INc** determinada a partir do ensaio de PZC sob diferentes valores de pH.

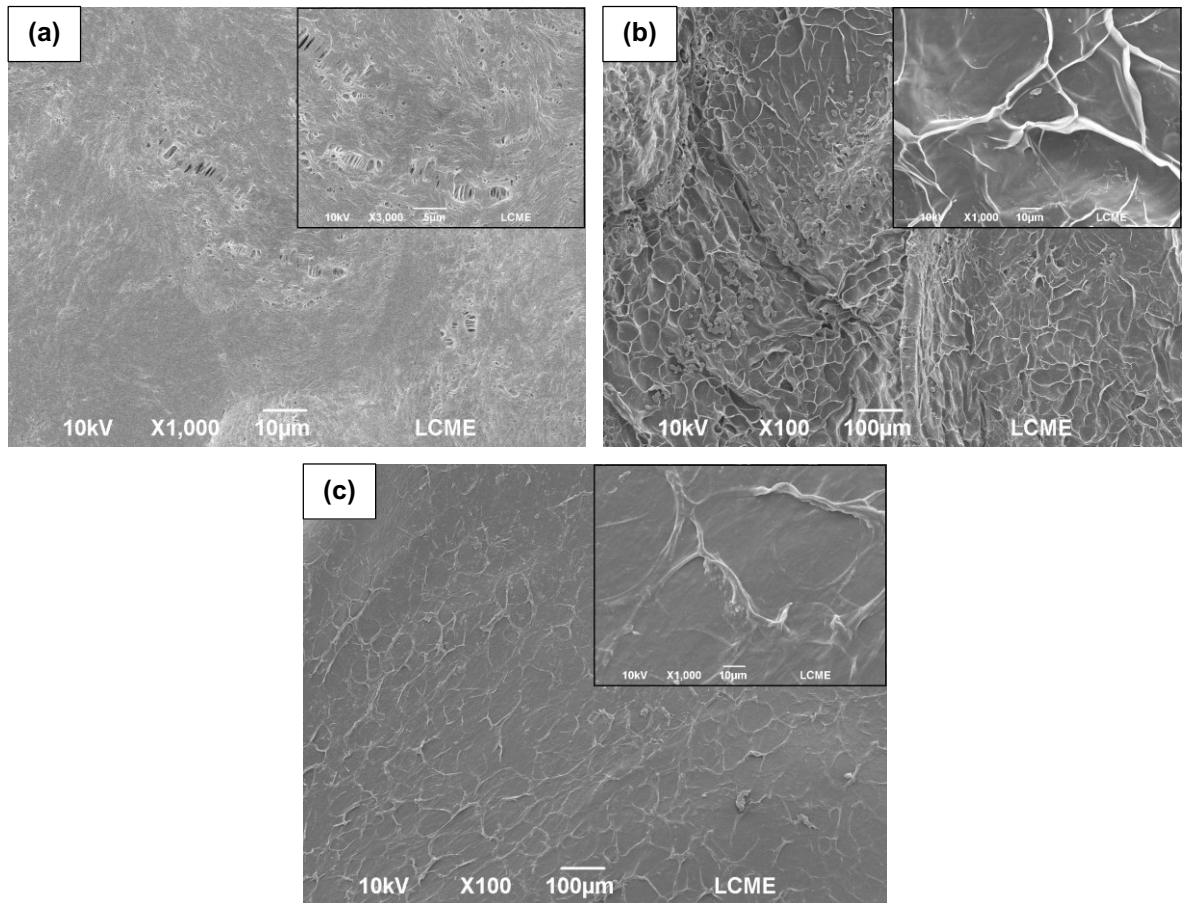
		$\text{pH}_{\text{inicial}}$									
		3,1	4,1	5,1	6,1	7,2	8,1	9,4	10,2	11,3	11,9
$Q_{\text{máx}}$ (g/g)	INe	3,6	2,4	1,6	1,4	2,4	6,5	4,0	4,3	2,3	8,3
	INc	9,1	10,9	8,7	10,1	8,6	7,7	10,6	9,6	15,5	11,5

Acima do pH_{PZC} , o equilíbrio é deslocado no sentido de desprotonação dos grupos ácidos, o que culmina com a predominância de cargas negativas residuais distribuídas sobre a superfície. O desenvolvimento de forças de repulsão eletrostática entre os grupos *carboxilato* contribui para a magnificação da capacidade de intumescimento de ambos os retículos que, em média, apresentam o maior índice de absorção de água nessa condição.^{39,43,59}

Tal como observado para os hidrogéis de poliacrilamida (**CN**), o aumento da força iônica do meio atua como uma barreira à expansão da matriz, de modo que as amostras intumescidas em solução de NaNO_3 a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ apresentam uma capacidade de absorção inferior às imersas em solução tampão fosfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Essa característica verificada em ensaios *in vitro* antecede o comportamento previsto para esses materiais quando aplicados em matrizes biológicas.^{38,41}

De forma complementar, as características morfológicas das amostras foram investigadas através de imagens obtidas por SEM (**Figura 30**).

Figura 30. Micrografias das amostras: **INe (a)**, **s-IPINc (b)** e **INc (c)**.



A micrografia do hidrogel **INe (Figura 30a)** ilustra a aparência de uma estrutura densamente reticulada com indícios de poros e fibras interconectados que remetem à metodologia de síntese empregada. Suas dimensões, entretanto, não são mensuráveis no intervalo de magnificação explorado.

A superfície do hidrogel **INc (Figura 30c)** apresenta uma morfologia relativamente similar à da amostra **s-IPINc (Figura 30b)**. O aspecto irregular, rugoso e repleto de ondulações é característico de hidrogéis fisicamente ligados, compostos majoritariamente por polieletrólitos.^{60–62}

3.3 SISTEMAS DE REDE HÍBRIDA

A partir das estratégias utilizadas para a confecção dos hidrogéis de rede iônica e covalente foram elaborados dois métodos para a obtenção de hidrogéis de rede híbrida, ambos envolvendo o desenvolvimento de um retículo iônico interpenetrado por uma rede covalente.

A principal distinção entre eles está no método de construção da rede iônica. No caso da **DNe**, a fonte de cátions provém da solução eletrofiada na qual estão dispersos **CL** 3% (m/v) e **PEO** 5% (m/v) em meio aquoso. As fibras produzidas são então coletadas por uma solução aquosa contendo **SA** 3% (m/v), além dos reagentes precursores para a fabricação da rede de **PAm** (**Figura 13**).

Figura 31. Fotografia da amostra **DNe01**.



Imagem obtida pela autora (2021).

No caso da **DNc**, o passo inicial consiste na elaboração da rede covalente, que é realizada submetendo-se a solução de reagentes precursores da **PAm** à radiação UV. Com o polieletrólito **SA** disperso no interior do retículo covalente, efetua-se a imersão da amostra em uma solução contendo **CL** (3% m/v) a fim de que o retículo iônico seja construído (**Figura 12**).

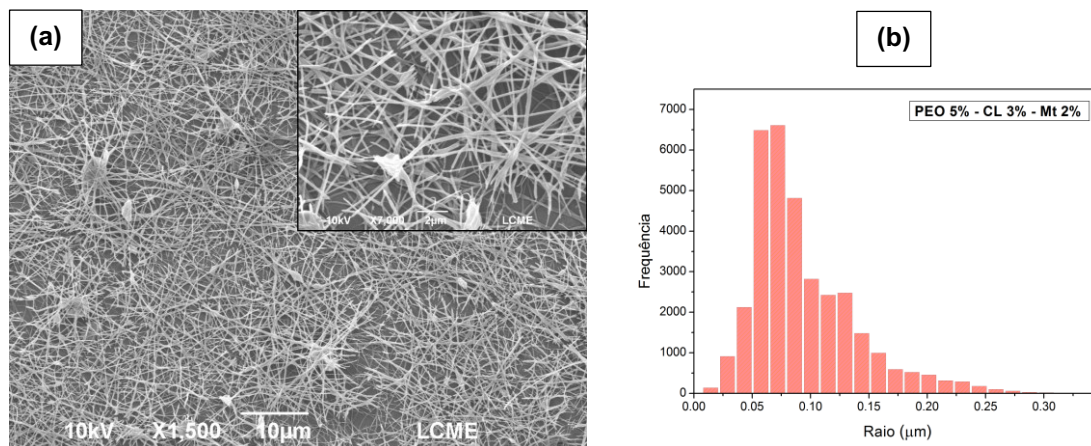
A amostra **DNe** foi elaborada com base nas condições de eletrofição pré-estabelecidas na fase de otimização da síntese do hidrogel **Ine**. Um estudo complementar foi realizado a partir da incorporação de 2% (m/v) de montmorilonita (**Mt**) à solução a ser eletrofiada, projetando-se a aplicação futura do material como sistema para a encapsulação e liberação de ativos. As características operacionais e ambientais registradas durante a otimização do processo de obtenção das fibras contendo **Mt** encontram-se descritas na **Tabela 7**.

Tabela 7. Parâmetros de eletrofição e condições ambientais vinculadas às fibras de **PEO5% - CL3% - Mt2%** (m/v).

AMOSTRA	PARÂMETROS DE ELETROFIÇÃO		CONDIÇÕES AMBIENTAIS	
	Fluxo de solução (mL/h)	Tensão elétrica (kV)	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
PEO5% - CL3% - Mt2%	0,50	15,5	20,5°C	49%

A micrografia obtida para a amostra de fibras de **PEO5% - CL3% - Mt2%** (m/v) demonstra a formação de fibras não-contínuas, ausência de rugosidade e alguns pontos de coalescência (**Figura 32a**).

Figura 32. Micrografia das fibras de **PEO5% - CL3% - Mt2%** (m/v) **(a)** e histograma de distribuição do tamanho do raio das fibras **(b)**.



Condições experimentais: 0,50 mL/h; 15,5 kV; 20,5°C; 49% RH.

É perceptível uma maior variação no diâmetro das fibras ao longo do comprimento. A partir do tratamento estatístico da distribuição de tamanhos (**Figura 32b**) determinou-se um raio médio de 73 nm, evidenciando a formação de fibras com um diâmetro menor do que as obtidas para os sistemas **PEO5%** e **PEO5% - CL3%** (m/v). Compreende-se que esse seja um efeito provocado pelo aumento da condutividade da solução após a adição de **Mt**. Cabe ressaltar que o processo foi marcado por múltiplos períodos de instabilidade, sendo necessária a realização de diversos ajustes na tensão elétrica para a manutenção do controle do jato, conforme demonstrado pela descontinuidade das fibras da **Figura 32a**.

Finalizada a etapa de otimização do processo de obtenção das fibras incorporadas com **Mt**, aplicou-se a metodologia de síntese do hidrogel **DNe** (**Figura 31b**) para a confecção dos hidrogéis **DNe_{Mt}01** e **DNe_{Mt}03** (**Figura 33**).

Figura 33. Imagem da amostra **DNe_{Mt}01** obtida após uma hora de exposição à radiação ultravioleta.

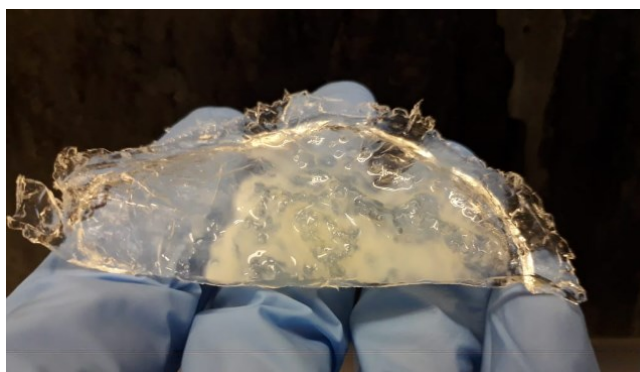


Imagem capturada pela autora (2021).

Os parâmetros operacionais de eletrofição e as condições ambientais registradas no momento de fabricação dos hidrogéis **DNe** e **DNe_{Mt}** encontram-se descritas na **Tabela 8**.

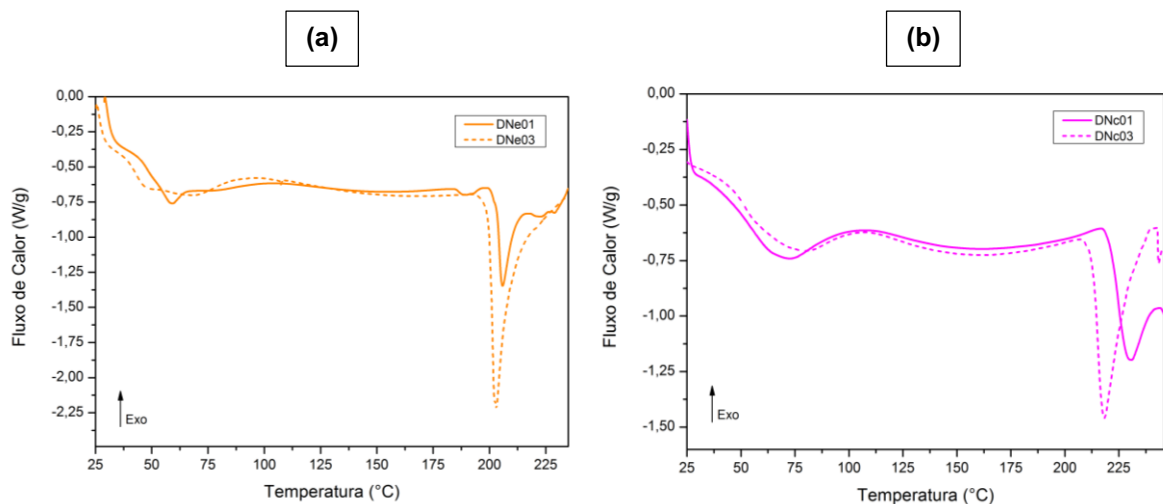
Tabela 8. Parâmetros de eletrofição e condições ambientais observadas durante a obtenção das amostras **DNe (PEO-CL/SA-PAm)** e **DNe_{Mt} (PEO-CL-Mt/SA-PAm)**.

Amostra	Parâmetros de eletrofição			
	Fluxo de solução (mL/h)	Tensão elétrica (kV)	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
DNe	0,50	13,0	21,7	50
DNe_{Mt}	0,50	14,5	21,1	48

Após a lavagem e a secagem das amostras em estufa até a obtenção de massa constante, foram obtidas as seguintes medidas de espessura: $2,17 \pm 0,39$ mm para a **DNe01**, $2,26 \pm 0,57$ mm para a **DNe03**, $2,30 \pm 0,57$ mm para a **DNeMt01** e $1,75 \pm 0,50$ mm para a **DNeMt03**.

Os resultados das análises de DSC para as amostras **DNe** e **DNe**, expressos em fluxo de calor (W/g) por temperatura ($^{\circ}\text{C}$), encontram-se reproduzidos nos termogramas anexos à **Figura 34**.

Figura 34. Termogramas dos hidrogéis de rede híbrida à base de **PEO-Ca/SA-PAm (DNe)** e **PAm-SA/Ca (DNe)**, obtidos via análise por DSC.



Nos termogramas da **Figura 34a** verifica-se a presença de dois eventos de segunda ordem: o primeiro, em torno de 50°C , representando a temperatura de transição vítrea da rede física formada por **PEO/SA**, e o segundo, em aproximadamente 125°C .

A T_g da rede física **PEO/SA** ocorre em torno de 48°C para a amostra **DNe01** e de 43°C para a amostra **DNe03**. Esses dados indicam que a incidência de radiação UV por uma hora sobre a amostra não exerce influência significativa sobre o retículo físico composto por **PEO/SA** visto que seu valor de T_g se mantém muito próximo ao valor apresentado pelo sistema **Ine** ($T_{g, \text{PEO/SA}} = 49^{\circ}\text{C}$).

Em consonância com a hipótese anterior, observa-se nos termogramas das amostras **DNe01** e **DNe03** a ocorrência de um novo evento de segunda ordem em torno de 125°C. Essas transições são atribuídas à T_g da rede de **PAm**, conforme discutido no tópico 3.1. A $T_{g,PAm}$ verificada em ambas as amostras de rede híbrida (**DNe01** e **DNe03**) situa-se aproximadamente 5°C acima da $T_{g,PAm}$ observada nas amostras de rede covalente simples (**CN01** e **CN03**). Trata-se de um comportamento esperado visto que os hidrogéis formados por redes iônicas e covalentes interpenetradas devem apresentar uma restrição adicional à mobilidade das cadeias poliméricas em virtude da redução do volume livre.

Nos termogramas da **Figura 34a** também são apontadas três transições endotérmicas de primeira ordem. A primeira delas, com ocorrência em 59°C, pode estar associada à temperatura de fusão das regiões fibrosas em que predomina a interação **PEO/SA**. O segundo pico endotérmico, presente em ambas as curvas, representa a temperatura de fusão da rede covalente e a respectiva quantidade de energia envolvida no processo. Verifica-se que a $T_{fus,PAm}$ da amostra **DNe01** é maior do que a da **DNe03** em concordância com o perfil esperado para hidrogéis que apresentam um maior grau de reticulação.^{36,37}

Entre 119 e 131°C estaria prevista a ocorrência da T_g do retículo formado por **Ca/SA**, porém, por se tratar de uma região coincidente com a $T_{g,PAm}$ essa transição acaba não sendo perceptível.⁵¹ As principais informações coletadas a partir dos termogramas da **Figura 34a** para as amostras **DNe01** e **DNe03** foram sumarizadas na **Tabela 9**.

Tabela 9. Parâmetros térmicos resultantes da análise dos hidrogéis de rede híbrida à base de **PEO-Ca/SA-PAm (DNe)** por DSC.

Amostra	$T_{g,PEO/SA}$ (°C)	$T_{g,Ca/SA}$ (°C)	$T_{g,PAm}$ (°C)	$T_{fus,PAm}$ (°C)	$\Delta_{fus}H_{PAm}$ (J/g)	T_{deg} (°C)
DNe01	48,2	-	126,0	205,8	21,8	242,9
DNe03	42,9	-	125,0	203,1	93,2	244,2

De forma análoga, nos termogramas da **Figura 34b** identificam-se, respectivamente, nas curvas **DNc01** e **DNc03**: um evento de segunda ordem vinculado à $T_{g,PAm}$ situado em torno de 130 e 126°C; um pico endotérmico na faixa de 50 a 100°C relativo à evaporação de moléculas de água aprisionadas no volume livre entre as cadeias poliméricas; e, um pico endotérmico localizado em 230 e 218°C relacionado à $T_{fus,PAm}$.

A região demarcada pela eliminação da água do retículo (50-100°C) culminou com a ocultação da faixa de temperatura de onde normalmente se obtém a $T_{g,Ca/SA}$, entre 119 e 131°C.⁵¹ Todos os dados encontram-se em consonância com os resultados observados para as amostras **CN** (**Figura 20**), **INe** (**Figura 27**) e **DNe** (**Figura 34a**). O perfil térmico da amostra exposta por três horas à radiação ultravioleta, tal como suas análogas, indica:

(a) o incremento no volume livre entre as cadeias, bem como na flexibilidade do retículo covalente, resultando na queda do valor da $T_{g,PAm}$;

(b) o crescimento de grupos terminais e/ou a formação de cadeias menores que, ao contribuírem para o aumento da flexibilidade do retículo, possibilitam que a fusão seja atingida em uma menor temperatura; e, por consequência,

(c) o aumento da densidade de empacotamento do gel haja vista a ocupação do volume livre, resultante de clivagens na rede de **PAm**, pelo retículo físico composto por **PEO-Ca/SA** à medida que a amostra intumescce durante o processo de lavagem, conforme o acréscimo no valor de $\Delta_{fus}H_{PAm}$ demonstra.

Verifica-se ainda que a incorporação de uma segunda rede de caráter iônico retarda a ocorrência de processos degradativos em ambos os casos (**Tabela 9** e **Tabela 10**). No caso da **DNe**, iniciam-se em 243°C para as amostras confeccionadas após uma hora de exposição à radiação UV e em 244°C para as redes polimerizadas após três horas de exposição. De forma análoga, na **DNc** ocorrem a partir de: 243°C (**DNc01**) e 244°C (**DNc03**).

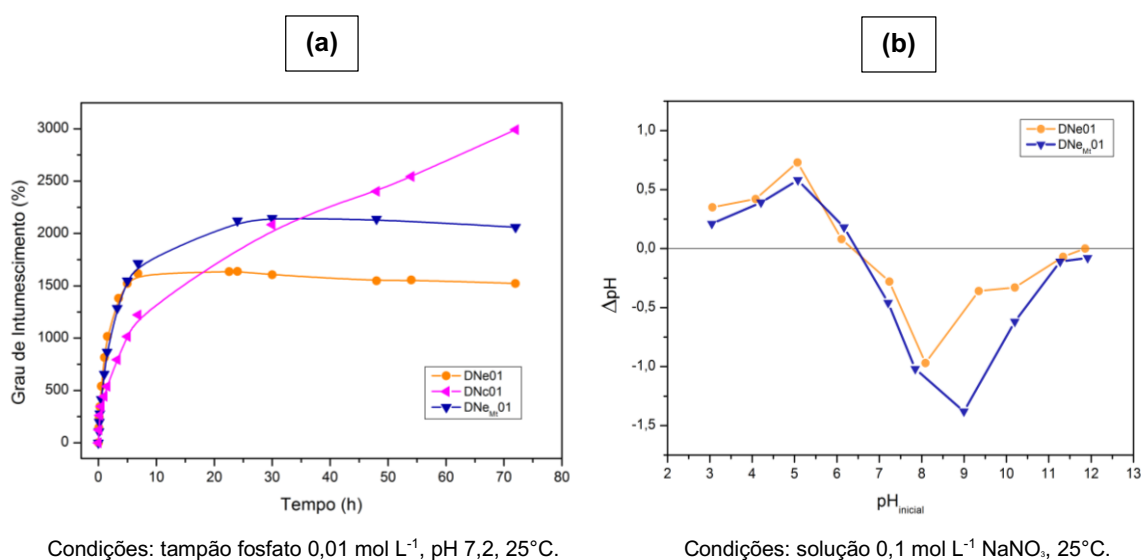
Na **Tabela 10** encontram-se sumarizadas as informações de maior relevância coletadas a partir dos termogramas da **Figura 34b**.

Tabela 10. Parâmetros térmicos resultantes da análise dos hidrogéis de rede híbrida à base de **PAm-SA/Ca (DNc)** por DSC.

Amostra	$T_{g,PEO/SA}$ (°C)	$T_{g,Ca/SA}$ (°C)	$T_{g,PAm}$ (°C)	$T_{fus,PAm}$ (°C)	$\Delta_{fus}H_{PAm}$ (J/g)	T_{deg} (°C)
DNc01	-	-	129,8	230,4	28,5	243,0
DNc03	-	-	126,5	218,2	59,3	244,3

Com o intuito de compreender como a existência das redes interpenetradas afeta o perfil de intumescimento e a resposta a estímulos externos como pH e força iônica, foram realizados ensaios de intumescimento e ponto de carga zero.

Figura 35. Cinéticas de intumescimento desempenhadas em pH 7,2 (a) e resultados dos ensaios de PZC (b) para as amostras **DNe01**, **DNc01** e **DNeMt01**.



Tal como nos sistemas de rede covalente e iônica, a capacidade de intumescimento dos hidrogéis de rede híbrida é regida pela presença de grupos hidrofílicos e pela densidade de reticulações. As três amostras analisadas na **Figura 35a**, **DNe01**, **DNc01** e **DNeMt01**, representam sistemas de reticulação híbrida, contendo uma rede covalente de **PAm** interpenetrada por um retículo iônico à base de **Ca/SA**.

A amostra **DNc01** apresenta, dentre elas, a maior capacidade de absorção de água ($Q_{máx, DNc01} = 31x$), um valor muito próximo ao determinado para a amostra de rede covalente **CN01** ($Q_{máx, CN01} = 32x$).

O retículo iônico presente na amostra **DNc01** é de densidade muito superior ao existente nas amostras **DNe01** e **DNeMt01**. No seu caso, o estabelecimento das interações iônicas se dá após a imersão do hidrogel de **PAm**, interpenetrado por cadeias de **SA**, em uma solução aquosa de íons cálcio.

A completa difusão dos cátions para o interior da rede primária resulta na formação de uma estrutura altamente intrincada. Embora a elevada densidade de grupos ionizáveis do polieletrólito seja capaz de atrair rapidamente um número muito maior de moléculas de água para o seu entorno, a estrutura interpenetrada composta por **PAm** evita que a expansão atinja proporções que levariam ao rompimento da matriz.⁵⁹ Por esse motivo, apesar da cinética de intumescimento da **DNc01** (**Figura 35a**) ser inicialmente mais lenta do que a **CN01** (**Figura 21a**), ambas atingem uma capacidade máxima de expansão equivalente após setenta e duas horas de imersão.

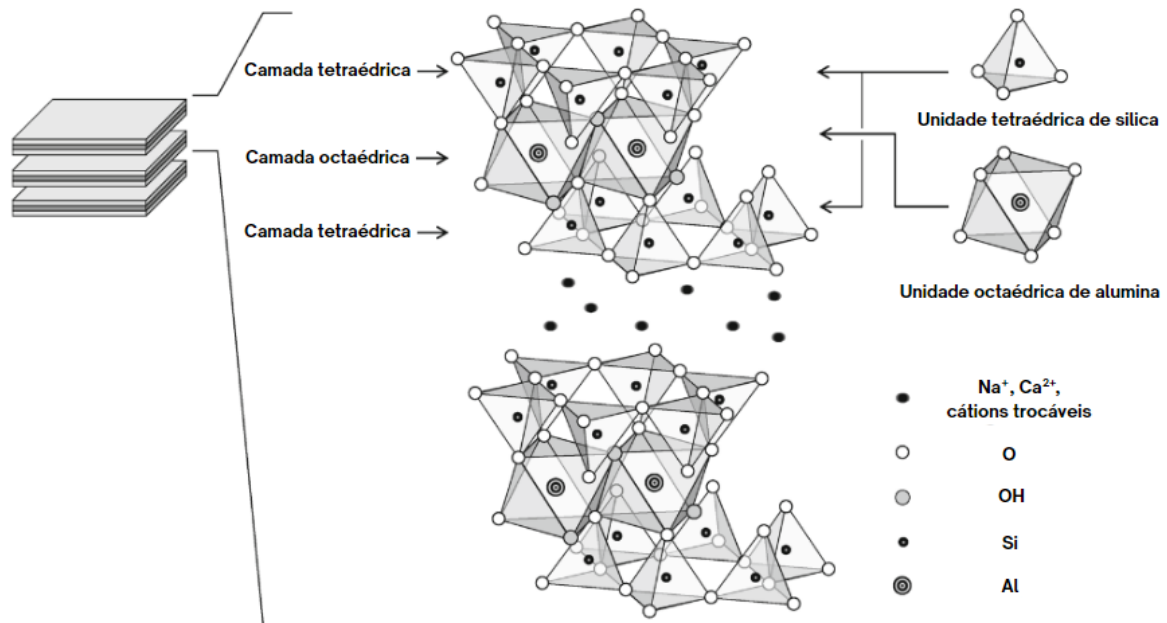
A amostra **DNe01**, cujo retículo iônico se formou no entorno das fibras de **PEO-Ca**, apresentou um valor de $Q_{\text{máx,DNe01}} = 17,5x$. Para o hidrogel confeccionado pelo mesmo método contendo montmorilonita incorporada nas fibras (**DNeMt01**) foi determinada uma $Q_{\text{máx,DNeMt01}} = 23x$. Ambas as amostras de rede híbrida apresentaram uma capacidade de absorção de água inferior à do hidrogel de rede iônica **INe** ($Q_{\text{máx,INe}} = 26x$).

Nesses sistemas híbridos, três tipos de ligações atuam na manutenção da coesão estrutural: interações iônicas entre íons cálcio e grupos *carboxilato*; ligações covalentes entre unidades de acrilamida; e, ligações de hidrogênio entre moléculas de **PEO**, alginato e **PAm**.

Esse aumento na densidade de reticulação se reflete na formação de uma estrutura ainda mais compacta e complexa, característica de redes interpenetradas, cujo impacto se dá na redução da capacidade de expansão do gel.⁶³

Em contrapartida, a incorporação de **Mt** à amostra **DNeMt** promove um incremento na concentração de grupos hidrofílicos. A estrutura básica da **Mt** é composta por duas interfaces de arranjo tetraédrico intercaladas por uma camada octaédrica, majoritariamente constituídas por óxidos de silício e alumínio, respectivamente (**Figura 36**).^{64,65}

Figura 36. Representação estrutural da montmorilonita.



Adaptado de Park e colaboradores (2016).⁶⁵

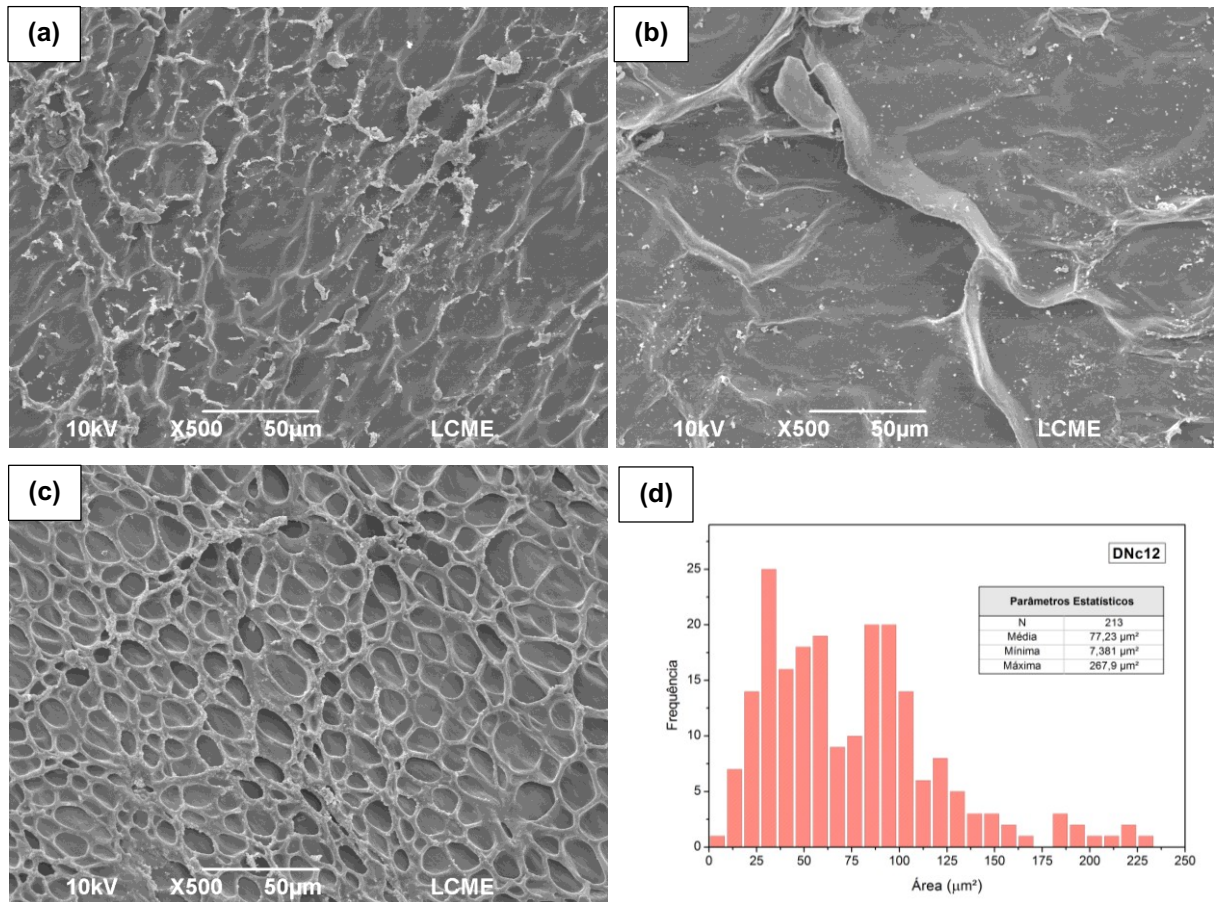
Estudos indicam que a montmorilonita é capaz de absorver água e de interagir com grupos funcionais de cadeias poliméricas através do estabelecimento de ligações de hidrogênio com seus grupos silicatos e hidroxilas.^{66,67} Dessa forma, além de contribuir para o aumento da capacidade de absorção de água, sua incorporação pode proporcionar uma melhoria nas propriedades mecânicas do hidrogel, oferecendo uma maior resistência à ruptura ao interagir com as cadeias de **PEO, SA e PAm**.

Os resultados expressos na **Figura 35b** indicam o valor de pH correspondente ao PZC dos hidrogéis **DNe01** ($pH_{PZC} = 6,4$) e **DNem01** ($pH_{PZC} = 6,5$). A redução do pH_{PZC} de ambas as amostras em relação ao gel **INe** ($pH_{PZC} = 6,9$) reproduz o comportamento observado por outros pesquisadores e é vista como um reflexo da presença da rede de **PAm**.⁵⁹

De forma análoga às amostras anteriormente analisadas, compreende-se que, para valores de pH acima do pH_{PZC} esses sistemas apresentarão uma maior densidade de cargas negativas, e poderão, portanto, atuar na encapsulação de moléculas catiônicas.⁵⁹

Por fim, as características morfológicas dos hidrogéis **DNc** (**Figura 37**), **DNe** (**Figura 38**) e **DNem_t** (**Figura 39**) foram avaliadas através de imagens obtidas por SEM.

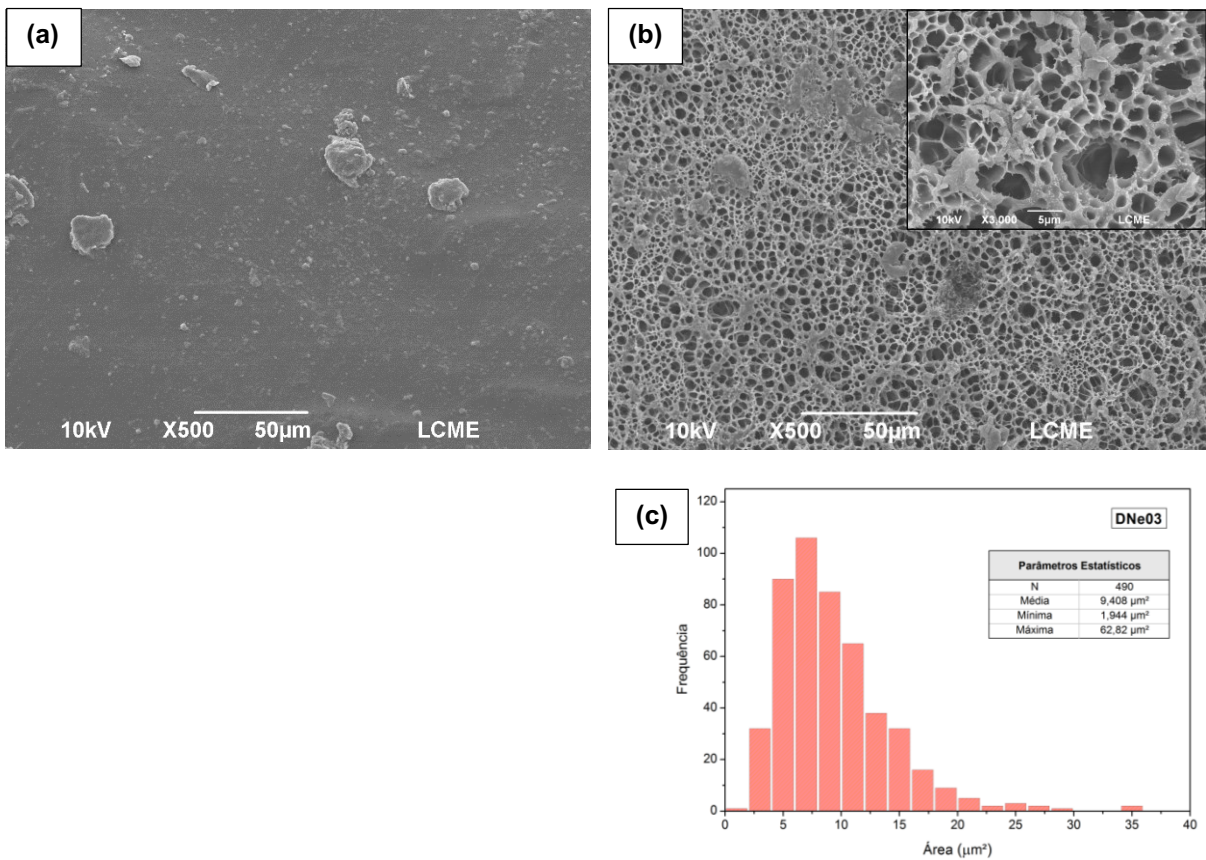
Figura 37. Micrografias das amostras: **DNc01** (a), **DNc03** (b) e **DNc12** (c) e histograma de distribuição da área da seção transversal dos poros da amostra **DNc12** (d).



As micrografias das amostras confeccionadas a partir de uma (**Figura 37a**) e três horas (**Figura 37b**) de exposição à radiação refletem superfícies heterogêneas, irregulares e com ondulações, similares à de hidrogéis fisicamente ligados. Todavia, na imagem que representa a superfície da amostra **DNc12** (**Figura 37c**) é possível identificar a existência de uma estrutura altamente porosa do tipo *honeycomb* em fase de coalescência. A distribuição irregular da área transversal média se reflete na detecção de duas populações de tamanho médio, a primeira entre 13 e 63 µm², e a segunda entre 75 e 113 µm² (**Figura 37d**).

Estima-se que não tenha sido possível identificar a presença de poros nas amostras **DNc01** e **DNc03** devido a reidratação aparente. Como essas matrizes apresentaram uma maior densidade de reticulação seus poros seriam menores. Por conseguinte, a conclusão da fase de coalescência se sucederia de forma mais rápida do que no hidrogel **DNc12**, cujos poros são maiores.

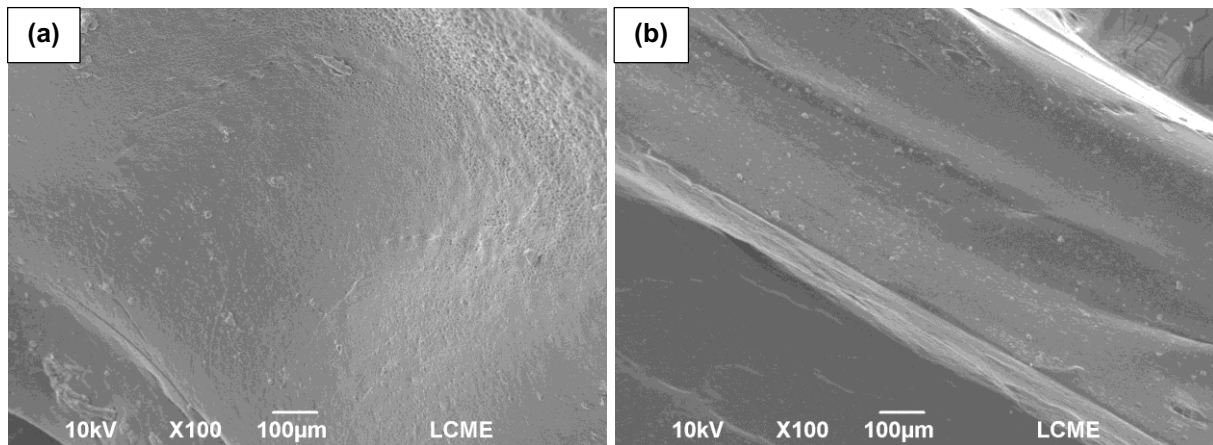
Figura 38. Micrografias das amostras: **DNe01 (a)** e **DNe03 (b)** e histograma de distribuição da área da seção transversal dos poros da amostra **DNe03 (c)**.



Na imagem que representa a amostra **DNe01 (Figura 38a)** identifica-se uma superfície de aspecto ligeiramente irregular, com a formação de aglomerados de ordem micrométrica. Apesar de ter sido confeccionada a partir da técnica de eletrofiação, não é possível constatar a presença de fibras visto que a amostra apresenta um elevado teor de umidade.

Em contrapartida, a micrografia do hidrogel **DNe03 (Figura 38b)** revela uma matriz do tipo *honeycomb* com elevada densidade de poros, bem definidos e interconectados, com área transversal média equivalente a $9,4 \mu\text{m}^2$. A imagem demonstra consonância com a aparência de hidrogéis covalentemente ligados, cuja superfície é normalmente marcada pela distribuição de poros regulares. Além disso, seus poros apresentam um tamanho médio inferior ao observado para a amostra **DNc12 (Figura 37c e Figura 37d)**, sendo esta uma das razões pela qual a capacidade máxima de intumescimento do hidrogel **DNe03** é menor do que a do gel **DNc12**.

Figura 39. Micrografias das amostras: **DNe_{MT}01 (a)** e **DNe_{MT}03 (b)**.



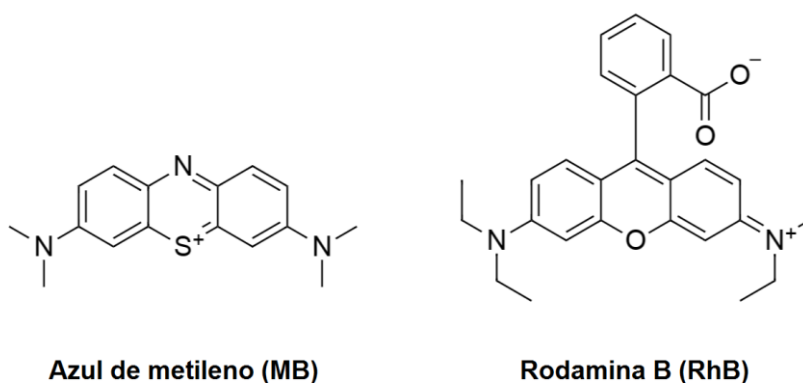
Na micrografia da **Figura 39a**, referente à amostra **DNe_{MT}01**, destaca-se uma superfície de aspecto ligeiramente irregular e rugoso. Na lateral superior direita da imagem é possível identificar a existência de poros. Todavia, a magnificação utilizada não permite a realização de uma estimativa coerente a respeito das suas dimensões.

A **Figura 39b**, correspondente à **DNe_{MT}03**, ilustra uma superfície de aspecto homogêneo e sólido, provavelmente devido à reidratação das amostras no intervalo de tempo que antecedeu a realização das análises, o que impede a identificação de maiores detalhes acerca da estrutura a nível microscópico.

3.4 ENSAIOS DE ENCAPSULAÇÃO E LIBERAÇÃO

Os estudos de encapsulação e liberação dos corantes rodamina B (**RhB**) e azul de metileno (**MB**) (**Figura 40**) em matrizes de rede covalente, iônica e híbrida, foram conduzidos em solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, a 25°C e 37°C.

Figura 40. Estrutura dos corantes azul de metileno (**MB**) e rodamina B (**RhB**) utilizados nos ensaios de encapsulação e liberação.



A encapsulação foi promovida por intumescimento das amostras em soluções contendo um excesso de corante. O transporte desses compostos para o interior do hidrogel é influenciado, majoritariamente, por processos de difusão e pelo intumescimento da rede. Por sua vez, a retenção desses compostos pode ser provocada pelo encolhimento da matriz após a efetuação da secagem e/ou pelo estabelecimento de interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre o encapsulado e os polímeros que compõem o retículo. De todo modo, a porosidade exerce um papel fundamental sobre o transporte de ativos tanto no sentido de carregamento como no sentido de liberação.^{41,68}

Os resultados experimentais referentes às primeiras oito horas de liberação foram organizados em gráficos de teor acumulado de corante por tempo e serão exibidos no decorrer desta seção. A quantificação do teor de corante foi realizada por intermédio de curvas de calibração previamente elaboradas (**APÊNDICE A-APÊNDICE C**). Os gráficos contendo o perfil de liberação em sua integridade encontram-se anexos ao **APÊNDICE D**.

A determinação do perfil de liberação de cada amostra foi efetuada a partir do ajuste matemático das curvas cinéticas aos modelos de primeira ordem (**Equação 3**) e Korsmeyer–Peppas (**Equação 4**) expressos a seguir.

$$\text{Modelo de primeira ordem: } \ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = kt \quad \text{Equação 3}$$

$$\text{Modelo de Korsmeyer–Peppas: } \frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad \text{Equação 4}$$

Nas expressões acima: M_t indica o teor de corante liberado após um intervalo de tempo t ; M_∞ representa a quantidade total de corante encapsulado no sistema; k e K designam as constantes de velocidade de liberação; e, n é um parâmetro que aponta os fatores que conduzem o mecanismo de liberação para o referido sistema.

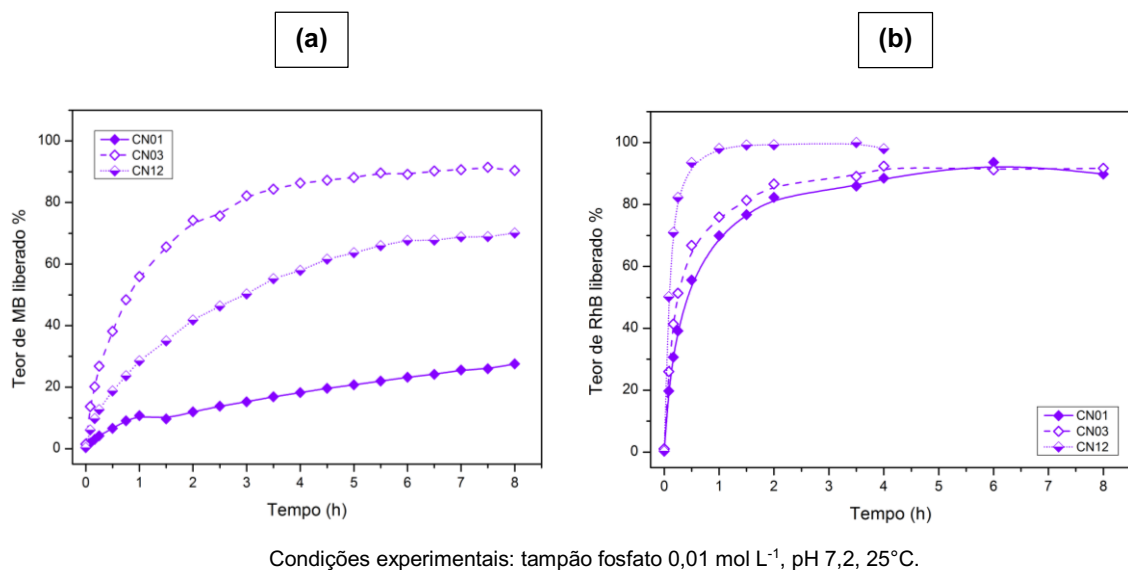
O ajuste de primeira ordem é comumente utilizado para representar o comportamento de hidrogéis cuja liberação de ativos é regulada majoritariamente pela difusão convencional de Fick.⁶⁹ Nesses sistemas, o teor de liberação varia de acordo com a quantidade de corante encapsulado na matriz.⁷⁰

A equação de Korsmeyer–Peppas pode ser utilizada para compreender o mecanismo que corresponde ao intervalo de liberação de até 60% do composto encapsulado, sob análise do parâmetro n .⁷¹ Quando n é igual a 1,0 diz-se que o mecanismo de transporte é governado por um processo de relaxação da estrutura, causado por intumescimento ou variação de temperatura, por exemplo. Para n igual a 0,5 assume-se que o transporte do encapsulado é regido pela difusão de Fick, impulsionada por um gradiente de potencial. Nos casos em que o valor do parâmetro se encontra entre 0,5 e 1,0 considera-se que o transporte ocorre de forma anômala e é um reflexo da atuação conjunta de ambos os fatores.^{69,71,72}

3.4.1 Sistemas de rede covalente (CN)

Os testes de incorporação e liberação de **MB** (Figura 41a) e **RhB** (Figura 41b) em hidrogéis de rede covalente possibilitaram a avaliação da influência do grau de reticulação na determinação da capacidade de carreamento e no perfil de liberação.

Figura 41. Ensaios de liberação cumulativa de **MB** (a) e **RhB** (b) encapsulados em hidrogéis de rede covalente (**PAm**) obtidos a partir de uma, três e doze horas de exposição à radiação UV.



Os resultados do ajuste das curvas cinéticas aos modelos matemáticos de primeira ordem e de Korsmeyer–Peppas auxiliam no entendimento do mecanismo de liberação (Tabela 11).

Tabela 11. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 25°C) de **MB**⁽¹⁾ e **RhB**⁽²⁾ de hidrogéis à base de **PAm** (**CN**) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.

Amostra	1ª Ordem ⁽¹⁾		Korsmeyer–Peppas ⁽¹⁾			1ª Ordem ⁽²⁾		Korsmeyer–Peppas ⁽²⁾		
	k / h ⁻¹	R ²	K / h ⁻¹	n	R ²	k / h ⁻¹	R ²	K / h ⁻¹	n	R ²
CN01	0,179	0,9802	8,782	0,540	0,9922	3,735	0,9964	82,421	0,556	0,9977
CN03	1,855	0,9911	56,360	0,558	0,9980	5,569	0,9999	120,568	0,609	0,9974
CN12	0,508	0,9934	27,816	0,545	0,9985	-	-	173,897	0,499	0,9999

O intervalo que compreende a liberação de até 60% de **MB** é majoritariamente governado pela difusão de Fick ($n \approx 0,5$) para as três amostras do tipo **PAm**. Nota-se que a taxa de liberação (**K**) é maior para o hidrogel que possui a menor densidade de reticulação (**CN03**) e menor para aquele que apresenta o maior número de ligações cruzadas entre as cadeias (**CN01**), característica que se porta como uma barreira adicional à liberação do ativo aprisionado no interior da matriz.

O mesmo comportamento em relação à taxa de liberação pode ser observado quando **RhB** é encapsulado na matriz. Nas amostras **CN01** (predomínio de ligações cruzadas entre as cadeias) e **CN12** (maior número de grupos terminais) a difusão é o principal mecanismo de liberação.

Por sua vez, a amostra **CN03** é obtida no momento de transição em que ligações cruzadas são desfeitas para posteriormente comporem cadeias mais longas. Portanto, trata-se de uma estrutura cuja flexibilidade e capacidade de expansão é superior às demais. O valor de n indica que nesse caso há uma ligeira contribuição da relaxação do retículo e da dilatação dos poros sobre o mecanismo de liberação, cuja correlação demonstra ocorrer conforme o modelo de primeira ordem.⁶⁹

Apesar do corante **RhB** apresentar um raio molecular (5,24 Å) maior do que o corante **MB** (4,25 Å), sua liberação ocorre de forma muito mais rápida.⁶⁴ Para o hidrogel **CN01**, por exemplo, a taxa de liberação (**K**) de **RhB** é cerca de dez vezes maior do que a determinada para o **MB**, indicando que não há uma correlação direta entre o tamanho da molécula do corante e a sua taxa de liberação.

Atenta-se para o fato de que o processo difusional é acompanhado pela quebra de interações existentes entre o composto encapsulado e a matriz polimérica.⁶⁸ Ambos os corantes possuem grupos ou átomos que possibilitam a formação de ligações de hidrogênio com a rede de **PAm**. Em pH 7,2, **MB** possui caráter catiônico, enquanto que **RhB** mantém uma carga residual neutra devido ao balanceamento entre a carga positiva localizada no nitrogênio da amina terciária e a carga negativa originada a partir da desprotonação do grupo ácido carboxílico (pK_a 3,7).⁶⁴

Esse valor de pH é ligeiramente superior ao pH_{PZC} das amostras de **PAm** ($pH_{PZC,CN01} = 6,7$ e $pH_{PZC,CN03} = 6,5$). Nessa condição, há uma pequena concentração de cargas negativas se formando na superfície o que favorece

a retenção do **MB** na matriz, visto que, interações **PAm/MB** de caráter eletrostático podem se somar às ligações de hidrogênio já estabelecidas.

Estima-se que o impedimento estérico em torno da carga positiva na amina terciária do **RhB** dificulte sua aproximação efetiva das cargas contrárias dispostas no interior do retículo.⁶⁴

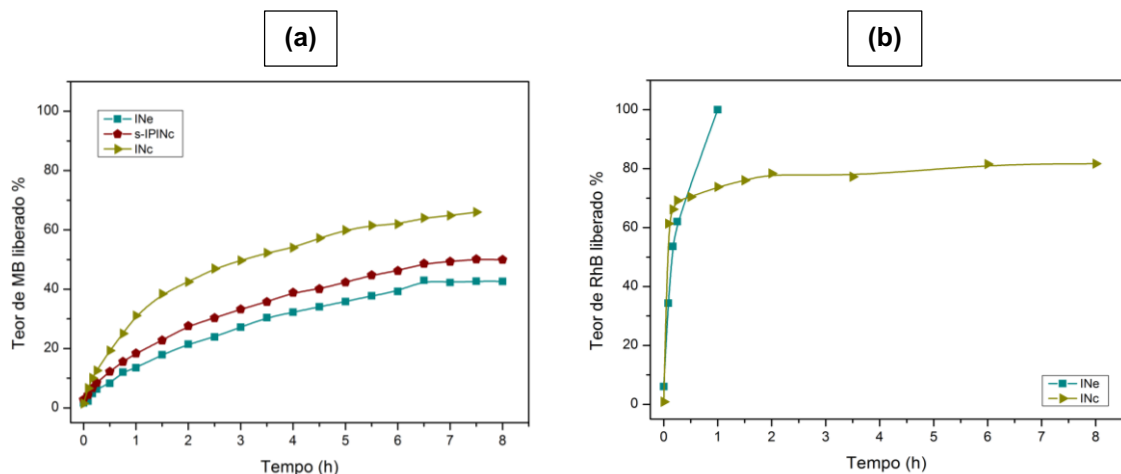
Adicionalmente, forças repulsivas entre as cargas negativas que se formam no retículo acima do pH_{PZC} e o grupo carboxilato do **RhB** podem dificultar o processo de encapsulação e retenção, limitando a ocupação do corante às porções mais externas da rede onde a estrutura tende a ser menos densa e os poros, maiores. Dessa forma, a maior contribuição para a retenção do corante na matriz se resume às ligações de hidrogênio.

Por outro lado, o corante **MB** além de conseguir adentrar o retículo mais facilmente, estabelece com ele, predominantemente, interações eletrostáticas cuja força é de magnitude superior às ligações de hidrogênio e, portanto, atua no sentido contrário à difusão.⁷²

3.4.2 Sistemas de rede iônica (INc, s-IPINc e INe)

Os resultados dos ensaios de incorporação e liberação de **MB** e **RhB** a partir de retículos iônicos encontram-se organizados nos gráficos da figura a seguir.

Figura 42. Ensaios de liberação cumulativa de **MB** (a) e **RhB** (b) encapsulados em hidrogéis de rede iônica (**Ca/SA**) obtidos sob diferentes condições.



Condições experimentais: tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, 25°C.

Os parâmetros determinados a partir do ajuste das cinéticas de liberação aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas foram registrados na **Tabela 12**.

Tabela 12. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 25°C) de **MB**⁽¹⁾ e **RhB**⁽²⁾ de hidrogéis à base de **Ca/SA** (**INe**, **s-IPINc**, **INc**) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.

Amostra	1ª Ordem ⁽¹⁾		Korsmeyer–Peppas ⁽¹⁾			1ª Ordem ⁽²⁾		Korsmeyer–Peppas ⁽²⁾		
	k / h ⁻¹	R ²	K / h ⁻¹	n	R ²	k / h ⁻¹	R ²	K / h ⁻¹	N	R ²
INe	0,252	0,9965	14,459	0,554	0,9923	6,375	0,9961	130,454	0,522	0,9631
s-IPINc	0,288	0,9967	18,799	0,498	0,9944	-	-	-	-	-
INc	0,581	0,9941	29,064	0,462	0,9886	-	-	80,629	0,110	0,9994

É possível constatar que, para todas as amostras, o ajuste que melhor se correlaciona ao perfil de liberação de **MB** é o modelo de primeira ordem. Esse comportamento é típico de hidrogéis com baixa densidade de reticulação, como os de origem iônica. A formação de poros grandes normalmente não oferece grandes obstáculos à liberação do corante que, como demonstram os dados da **Tabela 12**, acaba ocorrendo por mecanismos difusionais.⁶⁹

A taxa de liberação é menor para o hidrogel obtido por meio de eletrofiação (**INe**) (**Figura 43**) e aumenta à medida que a estrutura se torna menos complexa. Após a retirada do **PEO** da composição (**INc**), a concentração de corante liberado por hora é praticamente duplicada. Desse modo, pressupõe-se que o polímero atua tanto na realização de ligações de hidrogênio com o corante como na forma de barreira física à passagem de **MB**, enquanto cadeia polimérica interpenetrada na rede de **Ca/SA**.

Figura 43. Fotografia da amostra **INe** após quatro horas de imersão em ambiente tamponado (pH 7,2) a 25°C para a liberação de azul de metileno (**MB**).

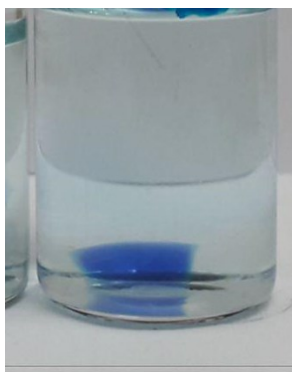


Imagem obtida pela autora (2021).

O pH de 7,2 sob o qual foram desenvolvidos os ensaios de liberação cumulativa se encontra ligeiramente acima do pH_{PZC} da amostra **INe** (6,9) e igual ao pH_{PZC} da amostra **INc** (7,2), portanto, nenhuma deve apresentar uma densidade de carga residual significativa sobre o retículo. Entretanto, nessa condição, os grupos *ácido carboxílico* distribuídos ao longo da cadeia polimérica de alginato encontram-se desprotonados (pK_a 3,38-3,65) e podem estabelecer interações eletrostáticas com o **MB** atuando como força contrária à sua difusão.⁷²

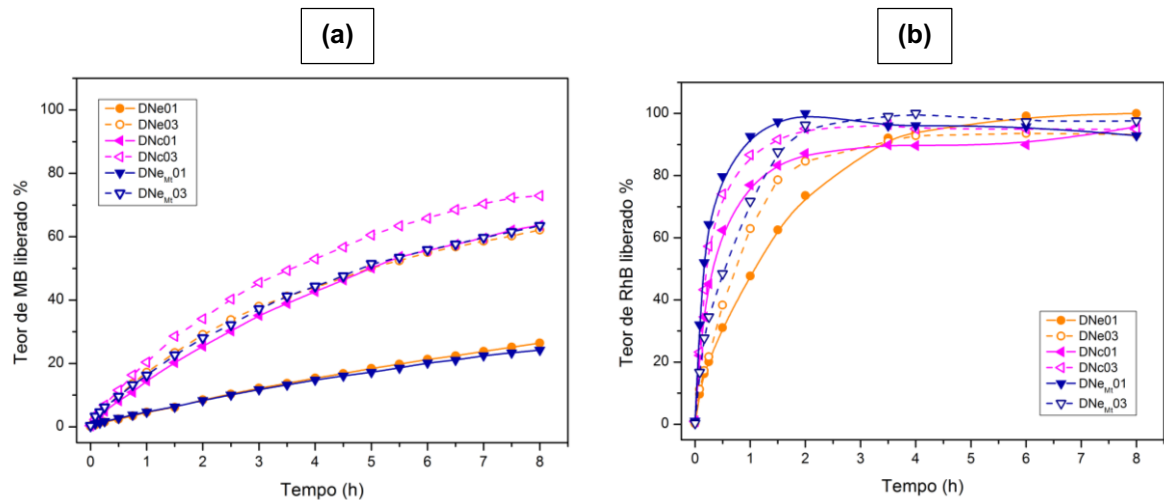
De forma análoga, verifica-se que a liberação de **RhB** também corresponde ao modelo de primeira ordem, sendo gerenciada por mecanismos difusionais. Para fins comparativos, considerando-se o modelo de primeira ordem, a taxa de liberação de **RhB** para o hidrogel **INe** é cerca de 25 vezes maior do que a observada para o **MB**. Ainda, a liberação de **RhB** a partir do sistema **s-IPINc** ocorre tão rapidamente que impede a determinação correta dos parâmetros n e K a partir do modelo de Korsmeyer–Peppas.

Tendo-se em vista o aumento pronunciado da taxa de liberação de **RhB** nos sistemas de rede iônica em relação aos sistemas de rede covalente, propõe-se que esse comportamento seja um reflexo de repulsões eletrostáticas estabelecidas entre os grupos *carboxilato* do corante e do alginato.

3.4.3 Sistemas de rede híbrida (DNe, DNc e DNeM)

Os perfis de liberação de **MB** e **RhB** encapsulados em hidrogéis de rede híbrida encontram-se dispostos na figura abaixo.

Figura 44. Ensaios de liberação cumulativa de **MB** (a) e **RhB** (b) encapsulados em hidrogéis de rede híbrida à base de **Ca/SA-PAm**.



Condições experimentais: tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, 25°C.

A partir do ajuste matemático das curvas de liberação aos modelos de cinética de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas foram determinados os parâmetros que refletem o mecanismo (n) e a taxa de liberação (K) (Tabela 13).

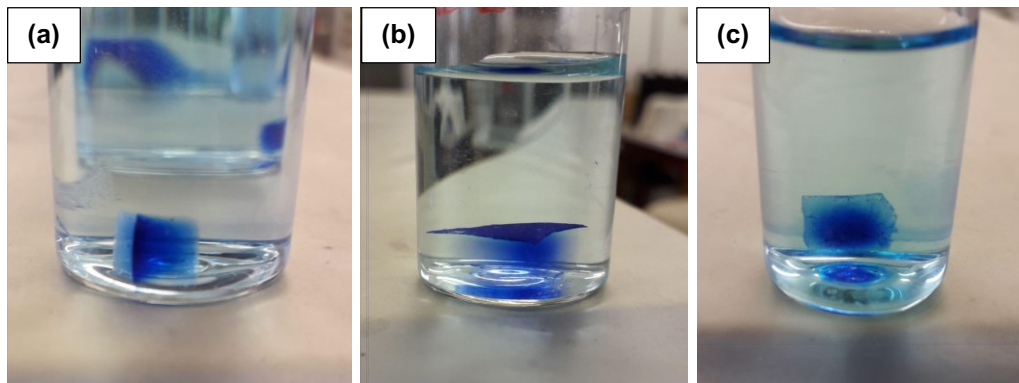
Tabela 13. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 25°C) de **MB**⁽¹⁾ e **RhB**⁽²⁾ de hidrogéis de rede híbrida à base de **Ca/SA-PAm** (**DNe**, **DNc**, **DNe_{Mt}**) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.

Amostra	1ª Ordem ⁽¹⁾		Korsmeyer–Peppas ⁽¹⁾			1ª Ordem ⁽²⁾		Korsmeyer–Peppas ⁽²⁾		
	k / h ⁻¹	R ²	K / h ⁻¹	n	R ²	k / h ⁻¹	R ²	K / h ⁻¹	n	R ²
DNc01	0,172	0,9996	15,489	0,715	0,9969	3,835	0,9982	92,746	0,551	0,9950
DNc03	0,287	0,9994	20,713	0,682	0,9966	2,625	0,9982	174,745	0,797	0,9968
DNe01	0,077	0,9996	4,847	0,821	0,9991	1,525	0,9897	47,782	0,621	0,9994
DNe03	0,249	0,9993	18,364	0,611	0,9945	0,895	0,9942	62,910	0,728	0,9986
DNe_{Mt}01	0,098	0,9997	4,973	0,772	0,9991	5,478	0,9999	153,819	0,621	0,9969
DNe_{Mt}03	0,216	0,9995	17,779	0,637	0,9958	3,995	0,9981	71,957	0,552	0,9949

Observa-se na **Tabela 13** que o modelo cinético de primeira ordem é o que melhor representa o perfil de liberação de **MB** para todos os tipos de hidrogéis de rede híbrida. De acordo com o parâmetro *n*, o intervalo de tempo que corresponde a liberação de até 60% do corante encapsulado é gerenciado por um mecanismo de transporte anômalo, havendo a ação conjunta de processos de difusão e relaxação do retículo.

Em contrapartida ao observado para os hidrogéis de rede iônica, verifica-se que os valores de *n* são maiores do que 0,5 e se aproximam de 1,0 em uma tendência crescente, indicando que há uma maior contribuição do intumescimento da matriz no processo de liberação. Realizando uma comparação interna entre os grupos, percebe-se que o intumescimento exerce uma influência ainda maior sobre a liberação dentre os hidrogéis que possuem um maior grau de reticulação (**DNc01** e **DNe01**), isto porque um grande percentual do corante **MB** encontra-se aprisionado no interior da matriz, retido por interações eletrostáticas (**Figura 45**).⁷² Por outro lado, no caso das amostras menos reticuladas (**DNc03** e **DNe03**) o tamanho dos poros é maior e acaba facilitando o transporte por difusão.⁶⁹

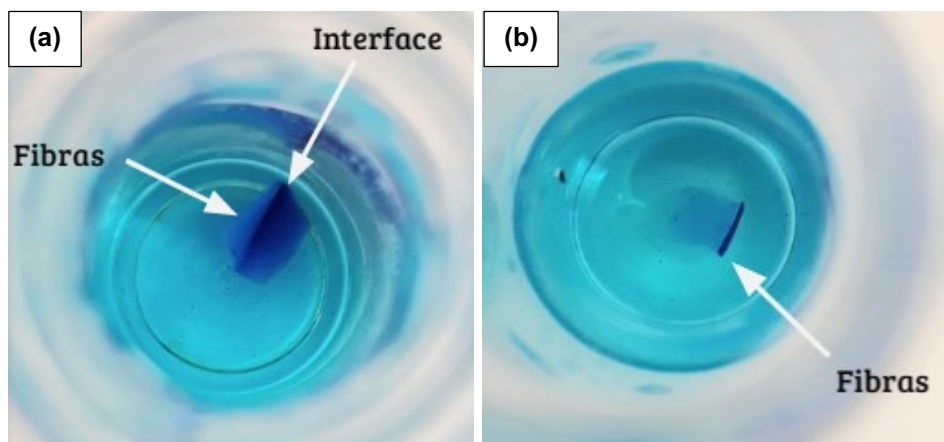
Figura 45. Fotografias das amostras **DNe01 (a)**, **DNeMt01 (b)** e **DNc01 (c)** coletadas após quarenta e oito horas de imersão em ambiente tamponado (pH 7,2) a 25°C para a liberação de azul de metileno (**MB**).



Imagens obtidas pela autora (2021).

Dentre todas as amostras, os hidrogéis **DNe01** ($k = 0,077 \text{ h}^{-1}$) e **DNeMt01** ($k = 0,098 \text{ h}^{-1}$) destacam-se por exibirem as menores taxas de liberação de **MB**. Essas amostras são constituídas por uma estrutura altamente complexa e densa, composta por fibras de **PEO-Ca** reticuladas em **SA** e interpenetradas por uma rede covalente de **PAm** polimerizada *in situ*. Como o emaranhado composto pelos retículos iônico e covalente tende a ser mais denso na região de interface, seus poros costumam ser menores, característica que contribui para um melhor aprisionamento do corante na amostra (**Figura 46**).

Figura 46. Fotografias das amostras **DNe01 (a)** e **DNeMt01 (b)** coletadas durante o processo de liberação de azul de metileno (**MB**).



Imagens obtidas pela autora (2021).

Por conta disso, para que o transporte do encapsulado ocorra, faz-se necessária a flexibilização da matriz por inchamento.⁶⁹ Cabe ressaltar que esse conjunto de características reflete em um perfil de liberação *sustentada* que garante o transporte do princípio ativo por um período prolongado, especificamente por até 240 horas para as amostras **DNe01** e **DNe_{mt}01**, como pode ser visualizado nas figuras **A** e **I** do **APÊNDICE D**.⁷²

Já a amostra **DNc01** exibe uma taxa de liberação ($k = 0,172 \text{ h}^{-1}$) muito próxima a apresentada pela sua equivalente de rede pura, **CN01** ($k = 0,179 \text{ h}^{-1}$). Nota-se que a presença da rede iônica altera o mecanismo de liberação, direcionando-o como uma consequência do intumescimento da rede. Porém, como a matriz de **Ca/SA** se forma somente após a polimerização da acrilamida, a capacidade máxima de intumescimento da rede híbrida (**DNc01**) permanece limitada à capacidade de expansão da rede covalente (**CN01**).

Outro fator que exerce influência sobre a taxa de liberação é a presença de cargas que possibilitem o estabelecimento de interações eletrostáticas, sejam elas atrativas ou repulsivas. No pH de realização dos ensaios (7,2) as amostras **DNe** ($\text{pH}_{\text{PZC}} = 6,4$) e **DNe_{mt}** ($\text{pH}_{\text{PZC}} = 6,5$) apresentam uma densidade de carga residual negativa. Aliado a isso tem-se a formação de grupos *carboxilato* no decorrer das cadeias de alginato. O excesso de cargas negativas auxilia na retenção de moléculas catiônicas, como **MB**, porém repele a aproximação de moléculas que apresentam grupos negativamente carregados, como é o caso do **RhB**, o que justifica a elevada taxa de liberação desse corante.

Em análise à **Tabela 13**, verifica-se que o perfil de liberação de **RhB** das amostras **DNc** e **DNe_{mt}** possui uma maior correlação ao modelo de primeira ordem, enquanto que o transporte de **RhB** a partir da matriz **DNe** é melhor representado pelo modelo de Korsmeyer–Peppas.

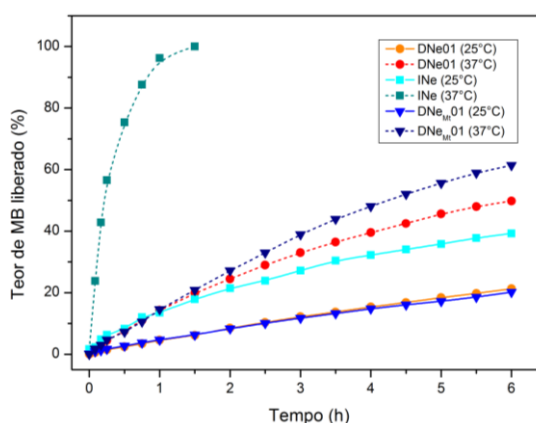
De modo geral, a etapa que corresponde à liberação de até 60% do corante é governada pelo mecanismo de transporte anômalo. Nas amostras mais reticuladas (**DNx01**) predomina o transporte por difusão, ao passo que nas demais (**DNx03**) o transporte é majoritariamente orientado pelo intumescimento da estrutura.

Esse comportamento, contrário ao observado para o transporte de **MB**, pode ser um reflexo do tamanho do corante e das interações que ele estabelece com o retículo. No caso do **RhB**, o raio molecular (5,24 Å) e a repulsão eletrostática com as cargas negativas do retículo impedem que a molécula adentre a região central dos hidrogéis mais densamente reticulados (**DNe_{Mt}01** e **DNe01**). Nesse contexto, por se encontrarem alojadas nas porções mais externas, o transporte pode ser facilmente orientado por um mecanismo de difusão. Por outro lado, as amostras que apresentam uma maior capacidade de expansão (**DNx03**) são capazes de incorporar o corante em poros do interior da matriz. Após a secagem do hidrogel, o encolhimento provoca a compactação das redes e o aprisionamento do corante, de modo que o intumescimento se torna a força motriz para a sua liberação.

3.4.4 Efeito do aquecimento sobre a cinética de liberação

A análise do perfil de liberação de corantes a 37°C foi efetuada para amostras de rede iônica (**INe**) e dupla (**DNe** e **DNe_{Mt}**) em solução tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2 (**Figura 47**). Os gráficos contendo o perfil de liberação em sua integridade encontram-se anexos ao **APÊNDICE E**.

Figura 47. Ensaio de liberação cumulativa de **MB** encapsulado em hidrogéis de rede iônica (**INe**) e dupla (**DNe** e **DNe_{Mt}**) confeccionados por eletrofiação.



Condições experimentais: tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, pH 7,2, 25°C e 37°C.

Por intermédio do ajuste das curvas cinéticas aos modelos matemáticos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas, foram determinados os parâmetros que indicam a taxa e o mecanismo de liberação (**Tabela 14**).

Tabela 14. Parâmetros obtidos a partir do ajuste das curvas de liberação (a 37°C) de **MB** de hidrogéis de rede iônica (**INe**) e dupla (**DNe**, **DNe_{Mt}**) aos modelos de primeira ordem e Korsmeyer–Peppas.

Composição	Amostra	1ª Ordem		Korsmeyer–Peppas		
		k	R ²	K	n	R ²
Iônica PEO-Ca/SA	INe (25°C)	0,252	0,9965	14,459	0,554	0,9926
	INe (37°C)	2,742	0,9992	165,926	0,769	0,9961
Dupla PEO-Ca/SA-PAm	DNe01 (25°C)	0,077	0,9996	4,847	0,821	0,9991
	DNe01 (37°C)	0,222	0,9997	14,698	0,702	0,9969
Dupla PEO-Mt-Ca/SA-PAm	DNe _{Mt} 01 (25°C)	0,098	0,9997	4,973	0,772	0,9991
	DNe _{Mt} 01 (37°C)	0,149	0,9995	15,318	0,810	0,9972

Identifica-se, pelos dados da **Tabela 14**, que o perfil de liberação das amostras a 25°C e a 37°C corresponde ao modelo cinético de primeira ordem. Em todas as amostras observa-se que o mecanismo de transporte é anômalo, exceto para a amostra **INe** (25°C), cujos poros são maiores, em decorrência do tipo de rede, e favorecem o transporte por mecanismos difusionais. À temperatura ambiente, conforme verificado anteriormente, **DNe** e **DNe_{Mt}** apresentam um mecanismo de liberação majoritariamente induzido pela relaxação do retículo, nesse caso, causada pelo intumescimento.

O aquecimento desses sistemas a 37°C provoca uma maior relaxação das cadeias poliméricas que o compõem e, aliado ao intumescimento das matrizes, impulsiona a taxa de liberação. Esse fenômeno se torna mais pronunciado na amostra de retículo iônico **INe**, que sob aquecimento, atinge uma taxa de liberação (**k**) cerca de dez vezes maior do que a observada em temperatura ambiente.

A rede de acrilamida, em sistemas híbridos polimerizada após a formação do retículo iônico, atua na proteção da estrutura do hidrogel quando submetido a estímulos externos como variação de pH ou temperatura. Essa sustentação da matriz pode ser verificada pela retenção parcial do efeito do aquecimento sobre a taxa de liberação. Na amostra **DNe**, por exemplo, o acréscimo na taxa de liberação (**k**) foi de três vezes o valor determinado à temperatura ambiente, enquanto que na **DNe_{Mt}** o incremento foi de apenas 1,5 vezes a taxa de liberação a 25°C.

De fato, todas as amostras apresentaram uma maior capacidade de encapsulação (**Tabela 15**) para o corante **MB** cujo raio molecular (4,25 Å) é inferior ao **RhB** (5,24 Å) e pode, portanto, ter favorecido seu ingresso e acomodação nos poros das matrizes.

A incorporação de 2% (m/v) de montmorilonita (**Mt**) nas fibras não exerceu um efeito significativo sobre a encapsulação e a liberação de **MB** nos hidrogéis com maior densidade de reticulação (**DNe_{Mt}01** em relação a **DNe01**). Porém, foi possível observar um incremento na capacidade de encapsulação de **RhB** de aproximadamente 145% para o hidrogel **DNe_{Mt}** em relação a **DNe**. Trata-se de uma consequência da interação, intermediada por moléculas de água, entre o grupo carboxilato do **RhB** e os grupos *hidroxila* presentes na estrutura lamelar da argila. O mesmo efeito não é observado para o **MB** porque sua interação com a **Mt** ocorre, predominantemente, por atração eletrostática, da mesma forma que se estabelece com o restante das matrizes poliméricas estudadas neste trabalho.^{64,72}

Tabela 15. Índices de capacidade máxima de encapsulação ($Q_{\text{máx,corante}}$) de **MB** e **RhB** aferidos para hidrogéis de diferentes composições.

ID DA AMOSTRA	TIPO DE REDE COMPOSIÇÃO	$Q_{\text{máx}} / \text{mol g}^{-1}$	
		MB	RhB
CN01	Covalente PAm	1,03E-05	1,33E-06
CN03	Covalente PAm	8,31E-06	1,10E-06
CN12	Covalente PAm	4,81E-06	7,64E-07
INe	Iônica PEO-Ca/SA	2,01E-06	2,31E-07
s-IPINc	Cadeias de PEO semi-interpenetradas na rede iônica PEO _{IPN} -Ca/SA	2,74E-06	-
INc	Iônica Ca/SA	1,64E-06	1,49E-06
DNc01	Dupla PAm-SA/Ca	1,36E-05	1,05E-06
DNc03	Dupla PAm-SA/Ca	8,40E-06	7,98E-07
DNe01	Dupla PEO-Ca/SA-PAm	3,53E-06	7,23E-07
DNe03	Dupla PEO-Ca/SA-PAm	3,90E-06	6,49E-07
DNe _{Mt} 01	Dupla PEO-Mt-Ca/SA-PAm	1,97E-06	1,77E-06
DNe _{Mt} 03	Dupla PEO-Mt-Ca/SA-PAm	2,48E-06	1,27E-06

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi desenvolvida uma nova metodologia de síntese de hidrogéis de rede tripla à base de **PEO-Ca/SA-PAm** empregando-se a técnica de eletrofiação sobre fase líquida aliada à polimerização *in situ*.

Análises de DSC e testes de avaliação da capacidade de intumescimento demonstraram que com apenas uma hora de exposição à radiação ultravioleta foi possível obter hidrogéis de **PAm** com um elevado grau de reticulação. Com a exposição prolongada estimula-se o processo de clivagem das ligações cruzadas entre as cadeias, ocasionando pontos de fragilidade e até de ruptura da matriz.

Constatou-se durante o estudo térmico das amostras de rede iônica a existência de uma T_g atribuída à formação de um retículo reversível composto por **PEO** e **SA**, interconectados através de ligações de hidrogênio.

A incorporação de **PEO** em hidrogéis, tanto na forma de nanofibras como de cadeias interpenetradas, provocou a redução da capacidade de expansão das matrizes. Por se tratar de um polímero biocompatível, sua aplicação em sistemas de carregamento biológicos pode vir a ser uma alternativa viável para a atenuação de taxas elevadas de liberação.

O hidrogel **DNe01**, elaborado a partir da técnica de eletrofiação (**PEO-Ca/SA-PAm**), apresentou a menor capacidade de expansão dentre todas as composições avaliadas neste trabalho. Seu desempenho indica que a pós-formação da rede de **PAm** ocorre de forma interpenetrada às fibras de **PEO-Ca/SA**, resultando em uma estrutura reticulada de alta complexidade e compactação.

Testes de carregamento apontaram que a encapsulação efetiva de **MB** na matriz **DNe01** se dá através do estabelecimento de interações eletrostáticas entre o corante catiônico e grupos *carboxilato* da cadeia de **SA**, e são reforçadas pela presença de cargas negativas residuais na superfície, quando em pH acima de 6,4, conforme demonstrado pela análise de PZC.

Em ensaios conduzidos em pH 7,2 verificou-se um perfil de liberação de primeira ordem para o **MB**, e de Korsmeyer–Peppas para **RhB**, ambos orientados por um mecanismo de transporte anômalo, com uma maior influência do intumescimento da matriz. Ressalta-se que a amostra **DNe01** apresentou uma taxa de liberação de **MB** sustentada por um período de até 240 horas, totalizando nesse intervalo de tempo o transporte de cerca de 99% do corante encapsulado.

A incorporação de montmorilonita às fibras de **PEO-Ca** resultou em um aumento na capacidade de encapsulação de **RhB** de aproximadamente 145% para a **DNeMt01** em relação ao índice apresentado pela amostra sem aditivo (**DNe01**). Esse efeito é um resultado do estabelecimento de ligações de hidrogênio entre os grupos *hidroxila* da argila e os grupos *carboxilato* do corante, intermediadas por moléculas de água.

Sob condição de aquecimento, a elevada reticulação das amostras **DNe01** e **DNeMt01** exibiu um efeito de supressão sobre a liberação de **MB**, havendo um acréscimo na taxa de liberação de apenas 3x para a **DNe01** e de 1,5x para a **DNeMt01** em relação aos índices constatados a 25°C. Atenta-se para o fato de que essas amostras apresentam uma variação na capacidade de expansão de acordo com o pH e a temperatura do meio em que se encontram, indicando perspectivas para uma investigação mais aprofundada sobre a responsividade desses sistemas e potenciais aplicações decorrentes.

Nesse contexto, compreende-se que os sistemas de rede tripla desenvolvidos a partir da técnica de eletrofiação, **DNe01** e **DNeMt01**, apresentam características promissoras para atuarem como sistemas de carreamento de compostos catiônicos.

REFERÊNCIAS

1. BHATT, P. *et al.* Polymers in Drug Delivery: An Update. **Applications of Polymers in Drug Delivery**, p. 1–42, 2021.
2. CALORI, I. R. *et al.* Polymer scaffolds as drug delivery systems. **Eur. Polym. J.**, 129, 109621, 2020.
3. RAMALINGAM, M.; RAMAKRISHNA, S. Introduction to nanofiber composites. **Nanofiber Composites for Biomedical Applications**, p. 3–29, 2017.
4. MANOUKIAN, O. S. *et al.* Electrospun Nanofiber Scaffolds and Their Hydrogel Composites for the Engineering and Regeneration of Soft Tissues. **Biomedical Nanotechnology: Methods and Protocols**, p. 261–278, 2017.
5. NEZARATI, R. M.; EIFERT, M. B.; COSGRIFF-HERNANDEZ, E. Effects of Humidity and Solution Viscosity on Electrospun Fiber Morphology. **Tissue Eng Part C Methods**, 10, 2013.
6. KAASSIS, A. Y. A. *et al.* Pulsatile drug release from electrospun poly(ethylene oxide)–sodium alginate blend nanofibres. **J Mater Chem B**, 2, p. 1400–1407, 2014.
7. CARVALHO, L. D. de *et al.* Doxycycline release and antibacterial activity from PMMA/PEO electrospun fiber mats. **J. Appl. Oral Sci.**, 27, 2019.
8. GONÇALVES DE PINHO, A. R. *et al.* Hybrid Polyester-Hydrogel Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering Applications. **Front. Bioeng. Biotechnol.**, 7, 231, 2019.
9. AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **J. Adv. Res.**, 6, p. 105–121, 2015.
10. PEPPAS, N. A.; SLAUGHTER, B. V.; KANZELBERGER, M. A. Hydrogels. **Polymer Science: A Comprehensive Reference**, p. 385–395, 2012.
11. CHEN, Q. *et al.* Fundamentals of double network hydrogels. **J. Mater. Chem. B**, 3, p. 3654–3676, 2015.
12. XU, Y. *et al.* Anti-Freezing multiphase gel materials: Bioinspired design strategies and applications. **Giant**, 2, 100014, 2020.
13. ZHANG, Y. *et al.* Controlled display of enzyme activity with a stretchable hydrogel. **Chem. Commun.**, 49, 9815, 2013.
14. LI, J. *et al.* The Potential of Electrospinning/Electrospraying Technology in the Rational Design of Hydrogel Structures. **Macromol. Mater. Eng.**, 305, 2000285, 2020.
15. SONG, J. *et al.* Mechanically and Electronically Robust Transparent Organohydrogel Fibers. **Adv. Mater.**, 32, 1906994, 2020.

16. SUN, J. *et al.* The development of cell-initiated degradable hydrogel based on methacrylated alginate applicable to multiple microfabrication technologies. **J. Mater. Chem. B**, 5, p. 8060–8069, 2017.
17. NARAYANASWAMY, R.; TORCHILIN, V. P. Hydrogels and Their Applications in Targeted Drug Delivery. **Molecules**, 2019.
18. EAKWAROPAS, P. *et al.* Fabrication of electrospun hydrogels loaded with Ipomoea pes-caprae (L.) R. Br extract for infected wound. **J. Drug Deliv. Sci. Technol.**, 55, 101478, 2020.
19. SHARIFZADEH, G. *et al.* Montmorillonite-based polyacrylamide hydrogel rings for controlled vaginal drug delivery. **Mater. Sci. Eng. C**, 110, 110609, 2020.
20. KOUSER, R. *et al.* Na-Montmorillonite-Dispersed Sustainable Polymer Nanocomposite Hydrogel Films for Anticancer Drug Delivery. **ACS Omega**, 3, p. 15809–15820, 2018.
21. APOORVA, A. *et al.* Novel pH-sensitive alginate hydrogel delivery system reinforced with gum tragacanth for intestinal targeting of nutraceuticals. **Int. J. Biol. Macromol.**, 147, p. 675–687, 2020.
22. OSHI, M. A. *et al.* pH-Responsive Alginate-Based Microparticles for Colon-Targeted Delivery of Pure Cyclosporine A Crystals to Treat Ulcerative Colitis. **Pharmaceutics**, 13, 1412, 2021.
23. PARK, R.-M. *et al.* Alginate oligosaccharides can maintain activities of lysosomes under low pH condition. **Sci. Rep.**, 11, 11504, 2021.
24. BAHRAMI, Z.; AKBARI, A.; EFTEKHARI-SIS, B. Double network hydrogel of sodium alginate/polyacrylamide cross-linked with POSS: Swelling, dye removal and mechanical properties. **Int. J. Biol. Macromol.**, 129, p. 187–197, 2019.
25. REIS, T. **Síntese de hidrogéis de alginato reticulados com nanofibras de lactato de cálcio/poli(óxido de etileno) obtidas por eletrofiação**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
26. SHI, Q; JACKOWSKI, G. One-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *In*: HAMES, B. D. **Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach**. OUP Oxford, 1998.
27. GHAUCH, A. *et al.* Contribution of persulfate in UV-254 nm activated systems for complete degradation of chloramphenicol antibiotic in water. **Chem. Eng. J.**, 317, p. 1012–1025, 2017.
28. ALVES, T. V. G. *et al.* Thermal analysis characterization of PAAm-co-MC hydrogels. **J. Therm. Anal. Calorim.**, 106, p. 717–724, 2011.
29. NESRINNE, S.; DJAMEL, A. Synthesis, characterization and rheological behavior of pH sensitive poly(acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels. **Arab. J. Chem.**, 10, p. 539–547, 2017.

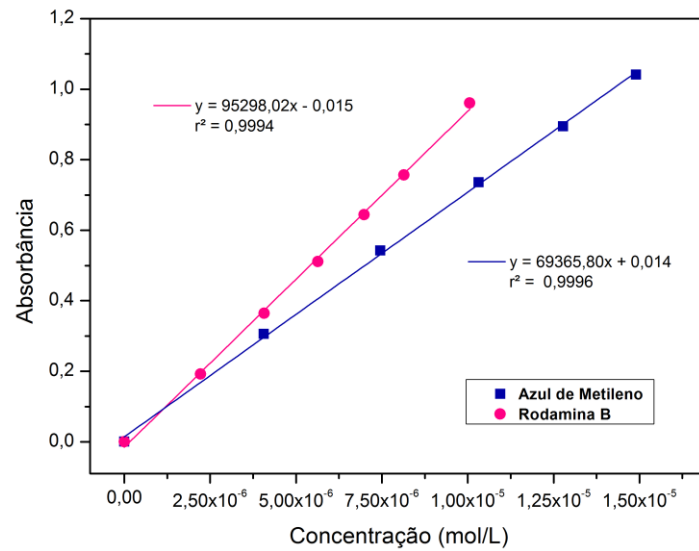
30. DWEIK, H. *et al.* Analysis Characterization and Some Properties of Polyacrylamide Copper Complexes. **Int. J. Polym. Mater.**, 57, p. 228–244, 2008.
31. BERMEJO, J. S.; UGARTE, C. M. Influence of Cross-Linking Density on the Glass Transition and Structure of Chemically Cross-Linked PVA: A Molecular Dynamics Study. **Macromol. Theory Simul.**, 18, p. 317–327, 2009.
32. CAULFIELD, M. J. *et al.* Degradation on polyacrylamides. Part II. Polyacrylamide gels. **Polymer**, 44, p. 3817–3826, 2003.
33. HARA, K. *et al.* UV-irradiation Effects on the Properties of *poly*-Acrylamide/Sodium Acrylate Gel. **Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.**, 35, p. 865–868, 2010.
34. SELEN, F.; CAN, V.; TEMEL, G. Preparation of photodegradable polyacrylamide hydrogels via micellar copolymerization and determination of their phototunable elasticity and swelling behaviors. **RSC Adv.**, 6, p. 31692–31697, 2016.
35. FERREIRA, L.; VIDAL, M. M.; GIL, M. H. Design of a Drug-Delivery System Based On Polyacrylamide Hydrogels. Evaluation of Structural Properties. **Chem. Educ.**, 6, p. 100–103, 2001.
36. VERA-GRAZIANO, R.; HERNANDEZ-SANCHEZ, F.; CAUICH-RODRIGUEZ, J. V. Study of crosslinking density in polydimethylsiloxane networks by DSC. **J. Appl. Polym. Sci.**, 55, p. 1317–1327, 1995.
37. PIĄTEK-HNAT, M.; BOMBA, K. The influence of of cross-linking process on the physicochemical properties of new copolyesters containing xylitol. **Mater. Today Commun.**, 22, 100734, 2020.
38. PANDEY, M. *et al.* Rapid Synthesis of Superabsorbent Smart-Swelling Bacterial Cellulose/Acrylamide-Based Hydrogels for Drug Delivery. **Int. J. Polym. Sci.**, p. 1–10, 2013.
39. MARANDI, G. B. *et al.* pH sensitivity and swelling behavior of partially hydrolyzed formaldehyde-crosslinked poly(acrylamide) superabsorbent hydrogels. **J. Appl. Polym. Sci.**, 109, p. 1083–1092, 2008.
40. MULLET, M. *et al.* A simple and accurate determination of the point of zero charge of ceramic membranes. **Desalination**, 121, p. 41–48, 1999.
41. BARBERO, C. A. *et al.* Cross-Linked Polymeric Gels and Nanocomposites: New Materials and Phenomena Enabling Technological Applications. **Macromol**, 2, p. 440–475, 2022.
42. RODRÍGUEZ-FÉLIX, D. E. *et al.* Synthesis and swelling properties of pH- and temperature-sensitive interpenetrating polymer networks composed of polyacrylamide and poly(γ -glutamic acid). **J. Appl. Polym. Sci.**, 119, p. 3531–3537, 2011.

43. JAYARAMUDU, T. *et al.* Swelling Behavior of Polyacrylamide–Cellulose Nanocrystal Hydrogels: Swelling Kinetics, Temperature, and pH Effects. **Materials**, 12, 2080, 2019.
44. LI, P. *et al.* Swelling behavior of polyacrylamide/laponite clay nanocomposite hydrogels: pH-sensitive property. **Compos. Part B Eng.**, 40, p. 275–283, 2009.
45. GHOBASHY, M. M.; BASSIONI, G. pH stimuli-responsive poly(acrylamide- co -sodium alginate) hydrogels prepared by γ -radiation for improved compressive strength of concrete. **Adv. Polym. Technol.**, 37, p. 2123–2133, 2018.
46. JIRKOVEC, R. *et al.* Preparation of a Hydrogel Nanofiber Wound Dressing. **Nanomaterials**, 11, 2178, 2021.
47. ABASALIZADEH, F. *et al.* Alginate-based hydrogels as drug delivery vehicles in cancer treatment and their applications in wound dressing and 3D bioprinting. **J. Biol. Eng.**, 14, 8, 2020.
48. MATYASH, M. *et al.* Swelling and Mechanical Properties of Alginate Hydrogels with Respect to Promotion of Neural Growth. **Tissue Eng. Part C Methods**, 20, p. 401–411, 2014.
49. SILVA, T. L. da, *et al.* Alginate and Sericin: Environmental and Pharmaceutical Applications. *In*: SHALABY, E. A. **Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides**. InTech, 2017.
50. DUMITRESCU, A. M. *et al.* Ni ferrite highly organized as humidity sensors. **Mater. Chem. Phys.**, 156, p. 170–179, 2015.
51. RUSSO, R.; MALINCONICO, M.; SANTAGATA, G. Effect of Cross-Linking with Calcium Ions on the Physical Properties of Alginate Films. **Biomacromolecules**, 8, p. 3193–3197, 2007.
52. SIMPLICIANO, C. *et al.* Cross-Linked Alginate Film Pore Size Determination Using Atomic Force Microscopy and Validation Using Diffusivity Determinations. **J. Surf. Eng. Mater. Adv. Technol.**, 03, p. 1–12, 2013.
53. VRANDEČIĆ, N. S. *et al.* Kinetic analysis of thermal degradation of poly(ethylene glycol) and poly(ethylene oxide)s of different molecular weight. **Thermochim. Acta**, 498, p. 71–80, 2010.
54. POLASKOVA, M. *et al.* Effect of Thermal Treatment on Crystallinity of Poly(ethylene oxide) Electrospun Fibers. **Polymers**, 11, 1384, 2019.
55. HU, C.; GONG, R. H.; ZHOU, F. L. Electrospun Sodium Alginate/Polyethylene Oxide Fibers and Nanocoated Yarns. **Int. J. Polym. Sci.**, p. 1–12, 2015.
56. GOHIL, R. M. Synergistic blends of natural polymers, pectin and sodium alginate. **J. Appl. Polym. Sci.**, 120, p. 2324–2336, 2011.
57. ZIA, F. *et al.* Alginate-Poly(Ethylene) Glycol and Poly(Ethylene) Oxide Blend Materials. **Algae Based Polymers, Blends, and Composites**, p. 581–601, 2017.

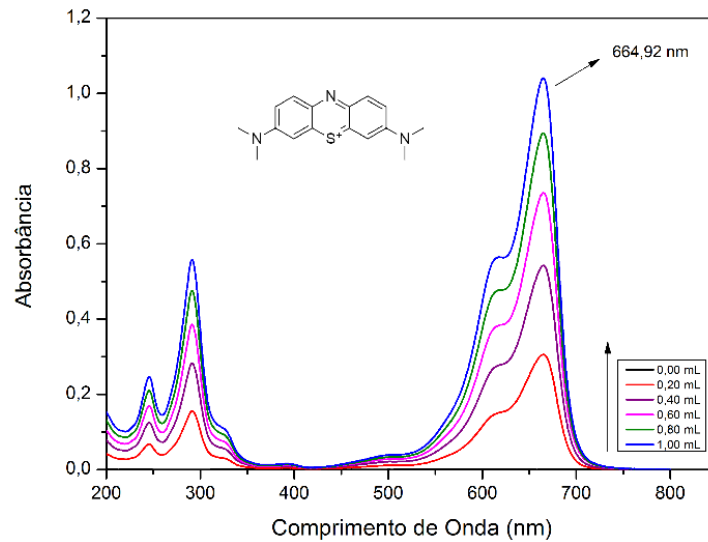
58. DROZDOV, A. D.; CHRISTIANSEN, J. deClaville. Modeling the effects of pH and ionic strength on swelling of anionic polyelectrolyte gels. **Model. Simul. Mater. Sci. Eng.**, 23, 055005, 2015.
59. REHMAN, T. U. *et al.* Fabrication of stable superabsorbent hydrogels for successful removal of crystal violet from waste water. **RSC Adv.**, 9, p. 40051–40061, 2019.
60. ALVES, A. *et al.* Xanthan Gum–Konjac Glucomannan Blend Hydrogel for Wound Healing. **Polymers**, 12, 99, 2020.
61. RAHMAN, Md. S. *et al.* Morphological Characterization of Hydrogels. *In*: MONDAL, Md. I. H. **Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels**. Springer International Publishing, 2019.
62. RAJA, I. S.; FATHIMA, N. N. Porosity and dielectric properties as tools to predict drug release trends from hydrogels. **SpringerPlus**, 3, 393, 2014.
63. LIN, F. *et al.* In situ polymerization approach to cellulose–polyacrylamide interpenetrating network hydrogel with high strength and pH-responsive properties. **Cellulose**, 26, p. 1825–1839, 2019.
64. FANG, Y. *et al.* Complex Formation via Hydrogen bonding between Rhodamine B and Montmorillonite in Aqueous Solution. **Sci. Rep.**, 8, 229, 2018.
65. PARK, J.-H. *et al.* Application of montmorillonite in bentonite as a pharmaceutical excipient in drug delivery systems. **J. Pharm. Investig.**, 46, p. 363–375, 2016.
66. UDDIN, F. Montmorillonite: An Introduction to Properties and Utilization. *In*: ZOVEIDAVIANPOOR, M. **Current Topics in the Utilization of Clay in Industrial and Medical Applications**. InTech, 2018.
67. WANG, J. *et al.* Adsorption toward Pb(II) occurring on three-dimensional reticular-structured montmorillonite hydrogel surface. **Appl. Clay Sci.**, 210, 106153, 2021.
68. ZARZYCKI, R. *et al.* Drug release from hydrogel matrices. **Ecological Chemistry and Engineering S**, 17, 2010.
69. LARACUENTE, M.-L.; YU, M. H.; MCHUGH, K. J. Zero-order drug delivery: State of the art and future prospects. **J. Controlled Release**, 327, p. 834–856, 2020.
70. VIGATA, M. *et al.* Hydrogels as Drug Delivery Systems: A Review of Current Characterization and Evaluation Techniques. **Pharmaceutics**, 12, 1188, 2020.
71. PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **Int. J. Pharm.**, 57, p. 169–172, 1989.
72. LI, J.; MOONEY, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nat. Rev. Mater.**, 1, 16071, 2016.

APÊNDICE

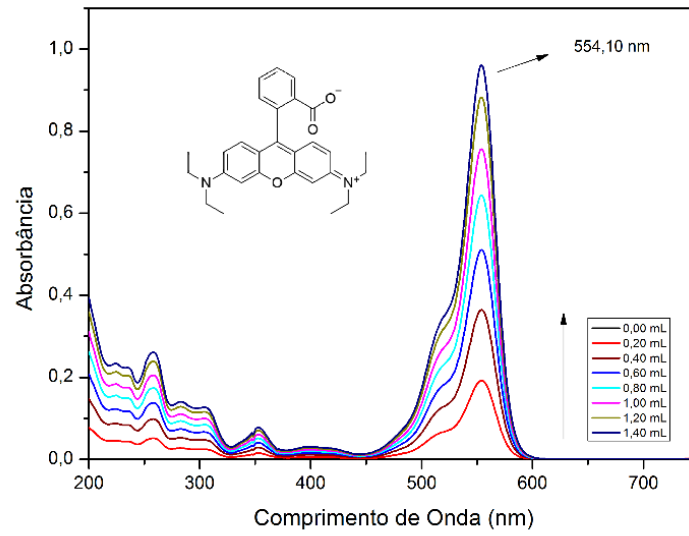
APÊNDICE A - Curvas de calibração elaboradas em água a 25°C para a quantificação de **MB** ($\lambda_{\text{máx}} = 664,92 \text{ nm}$) e **RhB** ($\lambda_{\text{máx}} = 554,10 \text{ nm}$).



APÊNDICE B - Espectros na região do UV-Vis obtidos a partir de soluções aquosas de diferentes concentrações de **MB** a 25°C.

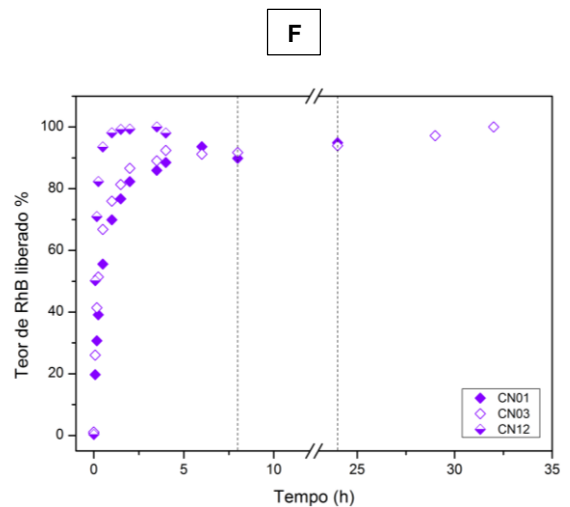
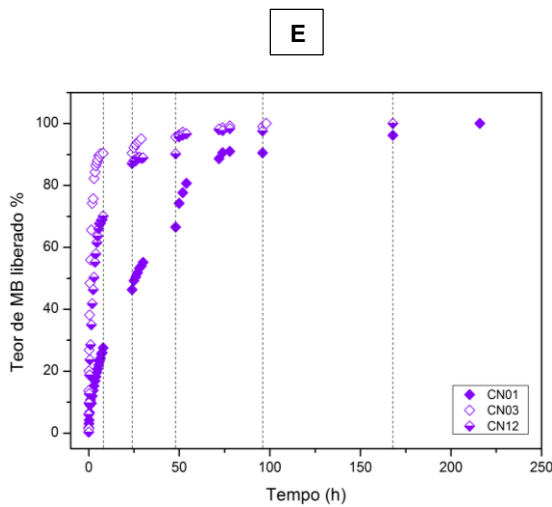
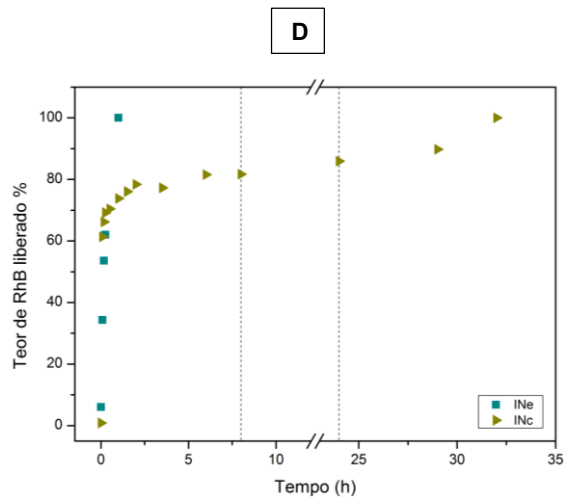
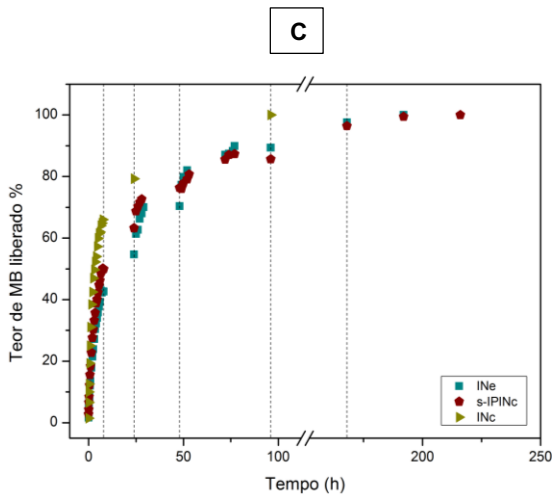
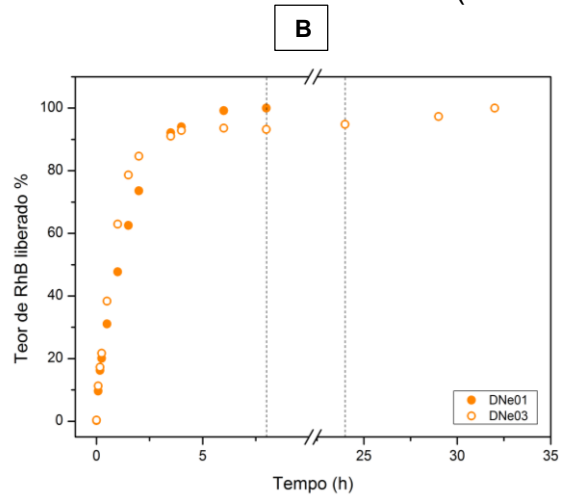
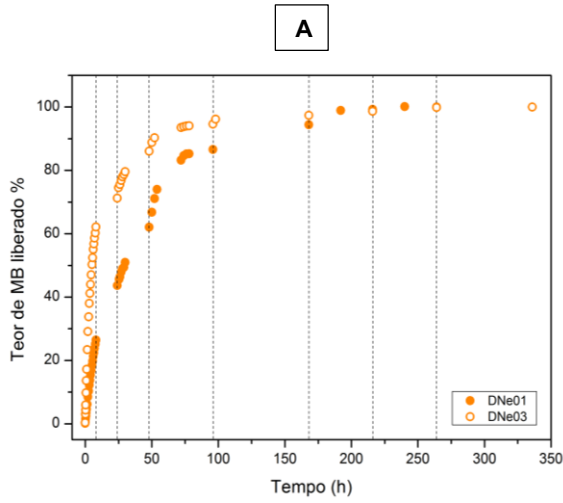


APÊNDICE C - Espectros na região do UV-Vis obtidos a partir de soluções aquosas de diferentes concentrações de **RhB** a 25°C.



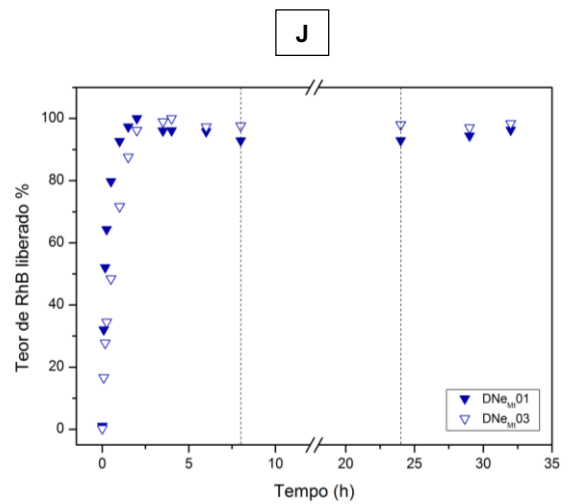
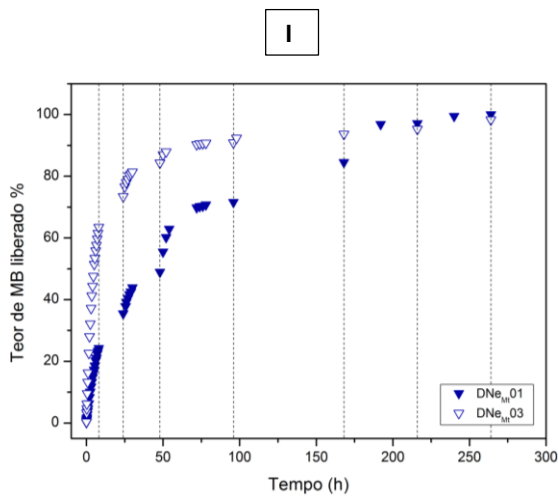
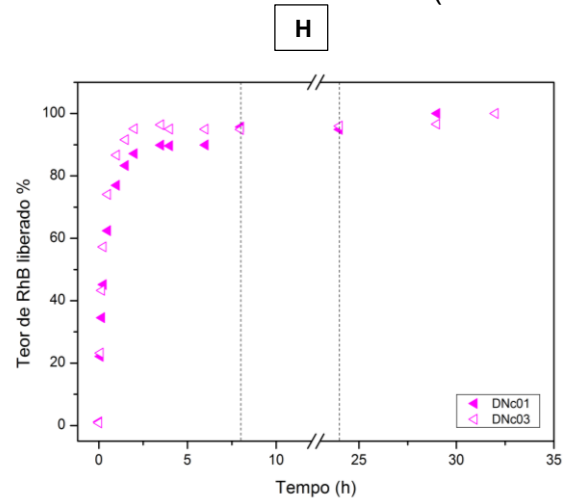
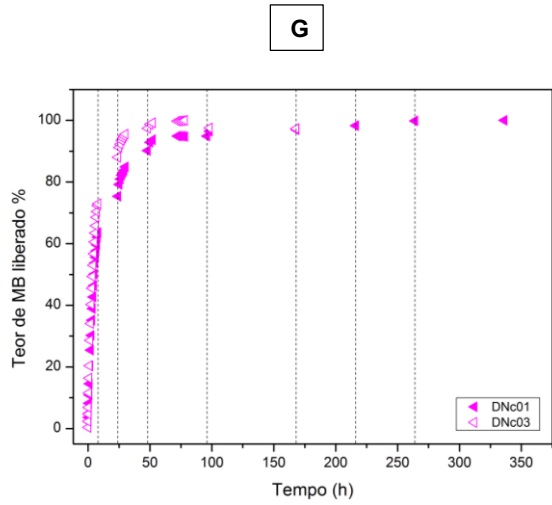
APÊNDICE D - Cinéticas de liberação de MB e RhB encapsulados nas amostras: DNe01 e DNe03 (A-B); INe, s-IPINc e INc (C-D); CN01, CN03 e CN12 (E-F); DNc01 e DNc03 (G-H); DNemt01 e DNemt03 (I-J)

(continua)



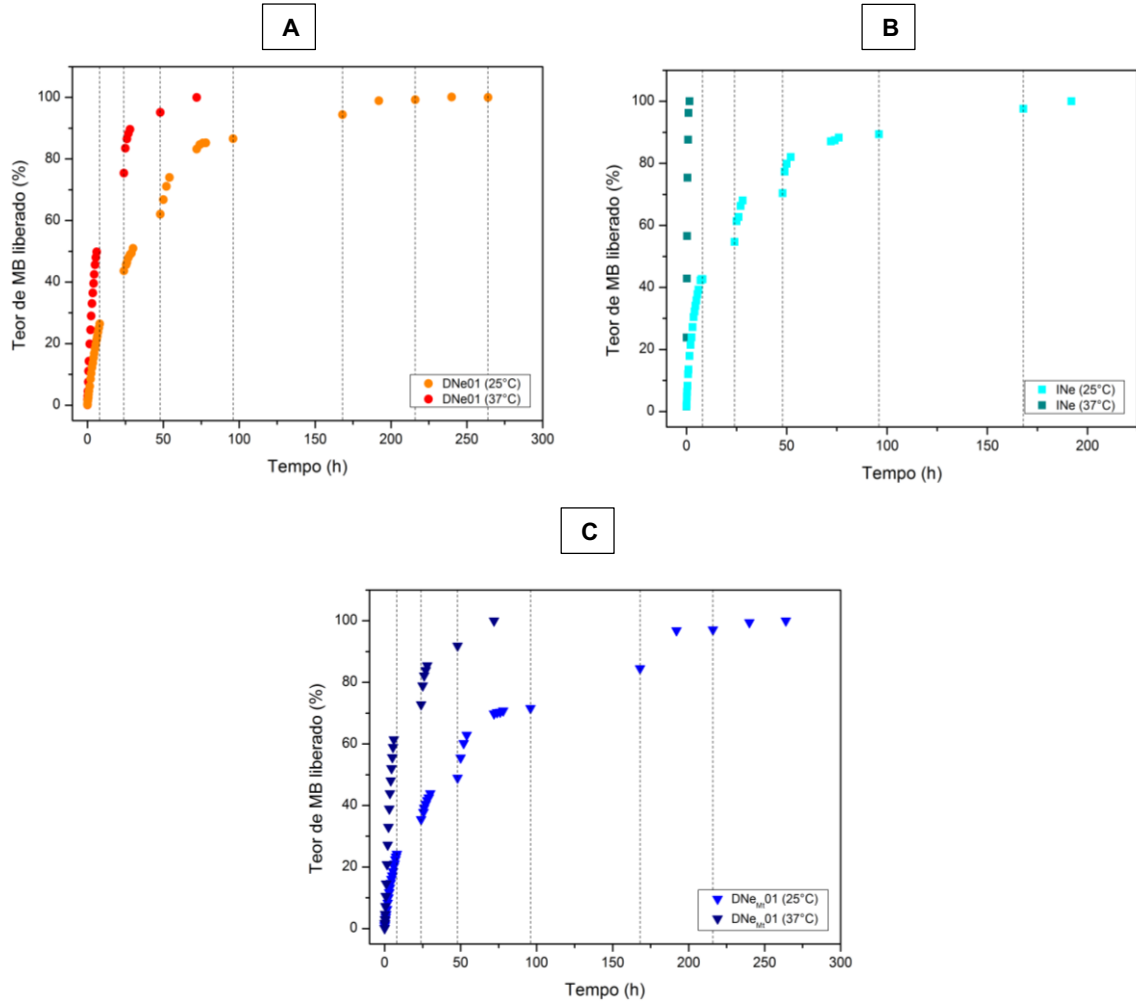
APÊNDICE D - Cinéticas de liberação de MB e RhB encapsulados nas amostras: DNe01 e DNe03 (A-B); INe, s-IPINc e INc (C-D); CN01, CN03 e CN12 (E-F); DNc01 e DNc03 (G-H); DNe_m01 e DNe_m03 (I-J)

(conclusão)



Nota: as linhas verticais tracejadas representam os ciclos de renovação do meio de liberação (sobrenadante).

APÊNDICE E - Cinéticas de liberação a 25 e 37°C de MB encapsulado nas amostras: DNe01 (A), INe (B) e DNe_m01 (C).



Nota: as linhas verticais tracejadas representam os ciclos de renovação do meio de liberação (sobrenadante).