



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS



LEONARDO SOBREIRA RODRIGUES

**Mantas de poli(ϵ -caprolactona) contendo cera e extrato da
própolis vermelha de Alagoas para aplicações na área da saúde**

Maceió - AL

2023

LEONARDO SOBREIRA RODRIGUES

**Mantas de poli(ϵ -caprolactona) contendo cera e extrato da
própolis vermelha de Alagoas para aplicações na área da saúde**

Defesa de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Materiais, da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Materiais Avançados

Orientadora: Profa. Dra. Ligia Maria Manzine Costa

Coorientadora: Profa. Dra. Adriana Santos Ribeiro

Maceió - AL

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário: Jone Sidney A. de Oliveira - CRB-4 -1485

R696m Rodrigues, Leonardo Sobreira.
Mantas de poli(e-caprolactona) contendo cera e extrato da Própolis vermelha de Alagoas para aplicações na área da saúde / Leonardo Sobreira Rodrigues - Maceió: AL, 2023. 80f.: il.

Orientadora: Lígia Maria Manzine Costa.
Coorientadora: Adriana Santos Ribeiro.
Tese (doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Materiais. Maceió, 2023.
Inclui bibliografia: 67-76.
Anexo: 77-80.

1. Própolis Vermelha. 2. Policaprolactona. 3. Eletrofiação - Curativo - Fibra. I. Título.

CDU:620.3

LEONARDO SOBREIRA RODRIGUES

Mantas de poli(ϵ -caprolactona) contendo cera e extrato da própolis vermelha de Alagoas para aplicações na área da saúde

Defesa apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Materiais Avançados

Aprovado em: 07/03/2023

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente

LIGIA MARIA MANZINE COSTA

Data: 07/03/2023 17:05:39-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^ª. Dr^ª. Ligia Maria Manzine Costa (Orientadora - PPGMateriais/UFAL)



Documento assinado digitalmente

ADRIANA SANTOS RIBEIRO

Data: 07/03/2023 19:20:39-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^ª. Dr^ª. Adriana Santos Ribeiro (Coorientadora - PPGMateriais/UFAL)



Documento assinado digitalmente

CAMILA BRAGA DORNELAS

Data: 08/03/2023 22:02:27-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^ª. Dr^ª. Camila Braga Dornelas (PPGMateriais/UFAL)



Documento assinado digitalmente

ADRIANA CARLA DE OLIVEIRA LOPES

Data: 08/03/2023 21:13:55-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^ª. Dr^ª. Adriana Carla De Oliveira Lopes (UFAL)



Documento assinado digitalmente

JOHNNATAN DUARTE DE FREITAS

Data: 10/03/2023 08:57:58-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Johnnatan Duarte De Freitas (IFAL)



Documento assinado digitalmente

MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

Data: 14/03/2023 17:08:20-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Márcia Regina De Moura Aouada (UNESP)



Documento assinado digitalmente

RAFAEL SALOMAO

Data: 14/03/2023 21:54:28-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rafael Salomão (USP)

*In memoriam: à minha avó, Maria
Irtes. Hoje sou doutor devido à
senhora! Obrigado por tudo!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido o dom da vida, pela saúde, pelos aprendizados durante minha caminhada pessoal e profissional, por nunca ter me desamparado nos momentos tristes e felizes, estando sempre ao meu lado e por todo amor incondicional derramado sobre meu ser.

À minha orientadora, amiga, conselheira e psicóloga Lígia Manzine, primeiramente por ter me aceitado como orientando e acreditado em meu potencial, mesmo não me conhecendo. Agradeço por confiar e incentivar a realização desse trabalho dividindo sua sabedoria e experiência para meu enriquecimento pessoal e profissional, como também pelos ensinamentos espirituais que me proporcionaram alívio.

In memoriam à minha avó, Maria Irtes Ferreira de Lima, pelo amor incondicional que sempre me proporcionou, pelas falas carinhosas e todo o conforto que sempre me ofereceu. Seu neto se tornará doutor devido à senhora. Te amo!

Aos meus pais, Clairtes Sobreira Lima e Francisco Everaldo Lima Rodrigues, por todo o amor que sempre transmitiram, pelas abdições e lutas diárias que fizeram para conseguirem oferecer sempre a melhor educação para meus irmãos e eu. Obrigado pelos conselhos, conversas e por nunca soltarem minha mão. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Lucas, Lisandro e Lazaro Sobreira Rodrigues pelo amor, cuidado, confiança, atenção, brincadeiras e por sempre estarem presentes nos momentos em que mais precisei. Vocês são o máximo! Em especial, ao meu afilhado Miguel Sobreira, que me faz ser criança todas as vezes que o vejo.

Ao Italo Silveira Alves, pela compreensão, paciência, amizade, incentivo e amor para a conclusão de mais um ciclo, você fez toda a diferença desde que lhe conheci. Obrigado por tornar meus dias mais alegres e coloridos.

Ao meu *dog* Dusk, por toda alegria em me receber ao chegar em casa, após um dia de trabalho, bem como pela companhia durante a escrita desta pesquisa.

Aos meus amigos, Ana Angélica Mathias Macêdo e Laécio Nobre Macêdo, por todo carinho e ensinamentos que sempre me proporcionaram no decorrer dos anos.

Às professoras Adriana Ribeiro, Camila Dornelas, Rusiene Almeida, e ao professor Eduardo Fonseca pelas contribuições durante a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos de apartamento, Kleber Martiniano, Mateus Tavares e Vitória pelas risadas, conversas e momentos de descontração, foram essenciais para me desconectar

um pouco. Agradeço em especial ao meu amigo/irmão Everaldo Neto, por sempre me incentivar a lutar pelos meus sonhos, obrigado por tudo!

Aos meus amigos acadêmicos Rodrigo Calumby, Analu Reis, Maria Julia Reis, Rodolfo Arruda, Teresa De Lisieux, Jorge Suarez e Emanuely Nanes pelas conversas, incentivos, encontros e risadas, fazendo com que todo o processo se tornasse mais tranquilo. Agradeço em especial à Jessica Rocha e Valcilaine Teixeira, por todo o carinho e atenção que sempre dispuseram, principalmente pelos desabafos, de fato, eram verdadeiras terapias, muito obrigado!

A todos os professores, técnicos e funcionários que contribuíram de alguma forma para enriquecer meu conhecimento.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós-Graduação em Materiais (PPGMateriais) por garantir essa oportunidade única.

À Capes pela bolsa concedida.

Aos muitos amigos e colegas que conheci durante minha estadia em Maceió.

Muito obrigado a todos!

"Não lembrareis coisas passadas, não
olheis para fatos antigos. Eis que farei
coisas novas, e que já estão surgindo."
Isaias 43:16-21

RESUMO

Desde os tempos antigos, a utilização de biomateriais vem evoluindo junto com a civilização, através de diversas melhorias tecnológicas ao longo dos anos. O destaque está sendo dado à combinação de duas ou mais substâncias para formar um novo material, devido a suas propriedades sinérgicas, resultando na melhora de suas propriedades. O extrato de própolis vermelha pode aumentar a bioatividade quando incorporado a um material. Já a cera de própolis vermelha, em especial, é descartada e não tem valor comercial. Portanto, este estudo objetiva produzir mantas a partir de policaprolactona (PCL) incorporada com cera ou extrato hidroalcolico de própolis vermelha de Alagoas, utilizando a técnica de eletrofiação para garantir a formação de estruturas fibrosas. As concentrações de cera e extrato de própolis vermelha variaram de 1% a 15%. As mantas foram avaliadas por suas propriedades físicas, químicas, estruturais, vibracionais, térmicas, mecânicas e biológicas. O resultado da cromatografia líquida de alta eficiência mostrou que o extrato contém mais flavonóides do que a cera. A morfologia das mantas, revelada pela microscopia eletrônica de varredura, apresentou diâmetro médio abaixo de 1,2 μm e uma porosidade média de aproximadamente 52%. O espectro vibracional indica que as interações são estritamente físicas, sem formação de novas ligações químicas. Foi verificado um decréscimo na cristalinidade à medida que a cera/extrato de própolis é adicionada à matriz polimérica, confirmado pela difração de raios X. A molhabilidade indica que as amostras com extrato de própolis apresentam maior intumescimento, com ângulo de contato menor que 90°, sendo molháveis quando a concentração é igual ou superior a 5%. A manta com 10% de própolis apresentou os melhores valores de tensão máxima, alongação na ruptura e módulo elástico. Além disso, essas mantas não apresentaram qualquer efeito tóxico às células. Assim, foi obtido um biomaterial fibroso com potencial para ser utilizado na como curativos bioativos.

Palavras chave: Própolis Vermelha; Policaprolactona; Eletrofiação; Curativo; Fibra.

ABSTRACT

Since ancient times, the use of biomaterials has evolved along with civilization through various technological improvements over the years. In recent times, there has been a growing interest in combining two or more substances to form a new material, due to their synergistic properties resulting in improved properties. The red propolis extract is a promising additive that can increase bioactivity when incorporated into a material. Red propolis wax, on the other hand, is discarded as waste and has no commercial value. Therefore, this study aims to produce mats from polycaprolactone (PCL) incorporated with red propolis wax or hydroalcoholic extract from Alagoas red propolis, using the electrospinning technique to ensure the formation of fibrous structures. The concentrations of wax and red propolis extract ranged from 1% to 15%. The mats were evaluated for their physical, chemical, structural, vibrational, thermal, mechanical, and biological properties. High-performance liquid chromatography was employed to determine the flavonoid content of the red propolis extract, which was found to be higher than that of the wax. The morphology of the mats was analyzed by scanning electron microscopy, revealing an average diameter below 1.2 μm and an average porosity of approximately 52%. The vibrational spectrum was used to investigate the nature of the interactions, which were found to be strictly physical without the formation of new chemical bonds. X-ray diffraction was employed to investigate the crystallinity of the mats, and a decrease in crystallinity was observed as the wax/red propolis extract was added to the polymeric matrix. The wetting behavior of the mats was analyzed using the contact angle method, and it was found that samples with propolis extract presented greater swelling, with a contact angle of less than 90° , being wettable when the concentration is equal to or greater than 5%. Mechanical testing showed that the mat with 10% propolis exhibited the best values for maximum stress, elongation at break, and elastic modulus. Furthermore, these mats did not exhibit any toxic effects on cells. These results suggest that it was possible to form a fibrous biomaterial with potential for use in tissue engineering, such as bioactive dressings.

Keyword: Red Propolis; Polycaprolactone; Electrospinning; Dressing; Fiber.

PRODUÇÕES

ARTIGOS PUBLICADOS

- **Rodrigues, L. S.**; Sonsin, A. F.; Barbosa, C. A. E. S.; Oliveira, D. M. F.; Fonseca, E. J. S.; Dornelas, C. B.; Ribeiro, A. S.; Costa, L. M. M. An eco-friendly green and facile synthesis of carbon dots from red propolis wax with photoluminescence dependent of reaction time and thermal treatment in solid state. *Journal of Nanoparticle research*, v. 23, p. 262, 2021.
- **Rodrigues, L. S.**; Oliveira dos Santos, A.; Mendes, F.; Mathias M., A. A. Growth of complex crystal on biopolymer surface: Synthesis and characterization. *POLYMERS & POLYMER COMPOSITES*, v. 30, p. 096739112210898, 2022.
- Lara Andrade, J.; Oliveira, A. G.; **Rodrigues, L. S.**; Companhoni, M. V. P.; Nakamura, C. V.; Lima, S. M.; Cunha Andrade, L. H.; Cótica, L. F.; Hechenleitner, A. A. W.; Pineda, E. A. G.; Oliveira, D. M. F. Al₂O₃ nanoparticle polymorphs: effects of Zn²⁺ doping on the structural, optical and cytotoxic properties. *Bulletin of Materials Science*, v. 44, p. 23, 2021.

PATENTES

- **Rodrigues, L. S.**; Costa, L. M. M.; Ribeiro, A. S.; Dornelas, C. B.; Nascimento, T. G.; Tonholo, J.; Arruda, R. E. S.; Nanes, E. C. M. F. Método de preparação de carbondots da cera de própolis vermelha de alagoas e usos do mesmo. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020200136291, título: "Método de preparação e carbondots da cera de própolis vermelha de Alagoas e usos do mesmo", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 02/07/2020.
- **Rodrigues, L. S.**; Costa, L. M. M.; Ribeiro, A. S.; Dornelas, C. B.; Nascimento, T. G.; Tonholo, J.; Arruda, R. E. S.; Nanes, E. C. M. F. Membrana eletrofiada de poli(e-caprolactona) com extrato de própolis vermelha de Alagoas e método de produção da mesma. 2021, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020210243619, título: "Membrana eletrofiada de poli(e-caprolactona) com extrato de própolis vermelha de Alagoas e método de produção da mesma", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 02/12/2021.

RESUMO

- **Rodrigues, L. S.;** Sonsin, A. F.; Barbosa, C. D. A. E. S.; Fonseca, E. J. S.; Dornelas, C. B.; Ribeiro, A. S.; Costa, L. M. M. Propriedades espectroscópicas e morfológicas dos carbondots obtidos utilizando cera de própolis vermelha. In: II Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia, 2021. II Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia, 2021.
- **Rodrigues, L. S.;** Mendes, F.; Santos, A. O.; Macêdo, A. A. M. Composite film properties of biopolymer and copper crystal for biomedical applications. In: International Federation of Biomedical Laboratory Science, 2021, Copenhagen. International Federation of Biomedical Laboratory Science, 2021. v. 34.
- **Rodrigues, L. S.;** Mendes, F.; Carvalho, A.; Carvalho, E.; Macêdo, A. A. M. Hydrocolloid film properties of biopolymer and silver sulfadiazine for pressure ulcers applications. In: International Federation of Biomedical Laboratory Science, 2021, Copenhagen. International Federation of Biomedical Laboratory Science, 2021. v. 34.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cálice de Licurgo, verde quando iluminado pela frente e vermelho quando iluminado por trás.	20
Figura 2. Configuração da montagem usual do equipamento de eletrofição, juntamente com a formação do cone de Taylor ampliada.....	24
Figura 3. Reação para a formação do polímero policaprolactona	30
Figura 4. Fluxograma processo de extração da cera.....	35
Figura 5. Mantas eletrofiadas contendo PCL, PCL-E e PCL-C.	37
Figura 6. Cromatograma do extrato de própolis vermelha no comprimento de onda de 280 nm. Identificação de 1) Liquiritigenina; 2) Daidzeina; 3) Pinobanksina; 4) Isoliquiritigenina; 5) Formononetina; 6) Biochanina A; e	42
Figura 7. Cromatograma da cera da própolis vermelha no comprimento de onda de 280 nm. Identificação de 1) Liquiritigenina; 2) Daidzeina; 3) Pinobanksina; 4) Isoliquiritigenina; 5) Formononetina; 6) Biochanina A; e,7) Pinocembrina.....	43
Figura 8. Espectros FTIR das mantas contendo PCL/Extrato (a) e PCL/Cera (b) de própolis vermelha	45
Figura 9. Micrografias MEV das mantas PCL (a), PCL-E1 (b), PCL-E5 (c), PCL-E10 (d) e PCL-E15 (e) e seus respectivos histogramas de distribuição de tamanhos	50
Figura 10. Micrografias MEV das membrans PCL-C1 (a), PCL-C5 (b), PCL-C10 (c) e PCL-C15 (d) e seus respectivos histogramas de distribuição de tamanhos	52
Figura 11. Porosidade estimada por meio da morfologia da manta de PCL	53
Figura 12. Porosidade estimada por meio da morfologia das mantas (PCL/Extrato de própolis)	54
Figura 13. Porosidade estimada por meio da morfologia das mantas (PCL/Cera de própolis).....	54
Figura 14. Porosidade das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha	55
Figura 15. Curvas DSC das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha.....	56
Figura 16. Curvas TG e DTG (interior dos gráficos de TG) das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha	56
Figura 17. Padrão de Difração de Raios X das mantas contendo extrato de própolis e sua faixa maximizada no intervalo de 20-26 °(2 θ).....	58
Figura 18. Padrão de Difração de Raios X das mantas contendo cera de própolis e sua faixa maximizada no intervalo de 20-26 °(2 θ).....	58
Figura 19. Fração cristalina das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha.....	59
Figura 20. Grau de intumescimento para as mantas de PCL-Extrato (a) e PCL-Cera (b) em função do tempo de imersão em água.....	60
Figura 21. Ângulo de contato em função do tempo das mantas PCL-Extrato (a) e PCL-Cera (b).....	61
Figura 22. Curvas representativas do comportamento tensão x deformação das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha, juntamente com o PCL puro	63
Figura 23. Viabilidade celular das mantas eletrofiadas de PCL, PCL-E10 e PCL-C10 avaliada em células L929, que são semelhantes a fibroblastos.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais dos tipos de própolis brasileira	33
Tabela 2. Proporção da solução polimérica para formação das mantas	36
Tabela 3. Determinação de alguns flavonoides identificados no extrato e cera de própolis vermelha	44
Tabela 4. Atribuições das vibrações dos compostos de partida	46
Tabela 5. Diâmetro médio das mantas	53
Tabela 6. Perfil térmico e estrutural das mantas obtidas por DSC	57
Tabela 7. Ângulo de contato das mantas eletrofiadas no intervalo de tempo igual a 120 s	62
Tabela 8. Propriedades mecânicas das mantas eletrofiadas	64

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1	NANOTECNOLOGIA E NANOMATERIAIS	19
2.2	BIOMATERIAIS E NANOFIBRAS	20
2.3	ELETROFIAÇÃO	23
2.3.1	<i>Parâmetros da Solução (Polímero-Solvente)</i>	25
2.3.2	<i>Parâmetros do Processo</i>	27
2.3.3	<i>Parâmetros Ambientais</i>	29
2.4	POLI(E-CAPROLACTONA) OU POLICAPROLACTONA (PCL)	29
2.5	PRÓPOLIS VERMELHA	31
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4	METODOLOGIA	35
4.1	PROCESSO DE OBTENÇÃO DO EXTRATO CONCENTRADO DE PRÓPOLIS VERMELHA	35
4.2	PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA CERA DO RESÍDUO DE PRÓPOLIS VERMELHA	35
4.3	FORMAÇÃO DAS MANTAS PCL/PRÓPOLIS VERMELHA	36
4.4	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO E CERA DE PRÓPOLIS	37
4.4.1	<i>Cromatografia líquida de ultra eficiência</i>	37
4.5	CARACTERIZAÇÃO DAS MANTAS ELETROFIADAS	38
4.5.1	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	38
4.5.2	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)</i>	38
4.5.3	<i>Difração de Raios X (DRX)</i>	39
4.5.4	<i>Análises Térmicas</i>	39
4.5.5	<i>Molhabilidade</i>	40
4.5.6	<i>Ensaio Mecânicos</i>	40
4.5.7	<i>Avaliação da Citotoxicidade</i>	41
4.5.8	<i>Análise Estatística</i>	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA	42
5.2	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR-ATR)	44
5.3	ANÁLISE MORFOLÓGICA	48
5.3.1	<i>Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)</i>	48
5.3.2	<i>Porosidade</i>	53
5.4	ANÁLISES TÉRMICAS	55
5.5	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	57
5.6	MOLHABILIDADE	60
5.6.1	<i>Grau de Intumescimento</i>	60
5.6.2	<i>Ângulo de Contato</i>	61

5.7	PROPRIEDADES MECÂNICAS	63
5.8	CITOTOXICIDADE.....	65
6	CONCLUSÃO.....	67
7	REFERÊNCIAS	68
	ANEXO.....	77

1 INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos na área da saúde têm aumentado significativamente a expectativa de vida humana. Isso é devido ao desenvolvimento de novos materiais biocompatíveis de baixo custo de produção, alta eficiência e propriedades específicas para aplicações biomédicas. A engenharia de tecidos é uma abordagem inovadora na medicina regenerativa que tem como objetivo desenvolver novas técnicas para a regeneração de tecidos ou órgãos danificados (ANSARI; ESHGHANMALEK, 2019).

Biomateriais são materiais utilizados em aplicações médicas, como na fabricação de próteses, implantes, dispositivos médicos e outros equipamentos (FADAIE et al., 2018). Eles são desenvolvidos para serem biocompatíveis com o corpo humano e não causar reações adversas. A porosidade é uma característica importante dos biomateriais, pois afeta a sua interação com o tecido biológico (LIN et al., 2018).

A dimensão dos poros precisa ser apropriada para o desenvolvimento celular no interior do biomaterial, onde o tamanho do poro deve fornecer acesso a nutrientes e oxigênio para que a proliferação celular aconteça efetivamente (LIN et al., 2018). Dessa maneira, estruturas porosas compostas por redes poliméricas sintéticas e/ou naturais processadas pela técnica de eletrofiação são amplamente empregadas para produzir mantas com fibras de diâmetro na escala micro e nanométrica (YOON et al., 2019).

Existem muitos tipos de fibras poliméricas descritos na literatura, mas o polímero sintético poli(ϵ -caprolactona) ou policaprolactona (PCL) tem se destacado por sua habilidade em formar fibras e pela sua natureza sintética de baixo custo, atóxica, biocompatível, biodegradável, bioreabsorvível e aprovada pela agência reguladora de alimentos e medicamentos (ANDRIOLO et al., 2018). Devido às suas propriedades viscoelásticas, reológicas e mecânicas notáveis, esse polímero pode ser facilmente transformado em estrutura fibrosa e pode ser combinado com outros polímeros (CIPITRIA et al., 2011; HUTMACHER; COOL, 2007), bem como com substâncias naturais, como a própolis (DURÁN et al., 2007).

Nessas estruturas fibrosas, é possível adicionar substâncias bioativas, como a encontrada na própolis. A própolis vermelha de Alagoas é especialmente notável devido à elevada concentração de flavonoides em seu extrato, o que lhe confere uma ampla variedade de aplicações no campo da saúde (BANZATO et al., 2020; REGUEIRA et al., 2017; RUFATTO et al., 2017). Algumas de suas propriedades são amplamente conhecidas, incluindo a atividade citotóxica contra vários tipos de células cancerígenas, além de

propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-cariogênicas, antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes (DE MENDONÇA et al., 2015; SILVA et al., 2018b). Dessa forma, a própolis vermelha é uma ótima opção para o tratamento de lesões na pele.

Ademais, ao processar o extrato etanólico da própolis vermelha, é gerado um subproduto que frequentemente é descartado por não ter valor comercial agregado. Nesse subproduto é viável extrair a cera da própolis vermelha, que contém compostos químicos como ácidos graxos livres, ésteres, entre outros hidrocarbonetos (NEGRI et al., 1998; RODRIGUES et al., 2021). Essa cera também pode ser incorporada em estruturas fibrosas de polaridade semelhante, possibilitando uma sinergia em suas propriedades adesivas, adstringentes e hidrofóbicas (RESHMI et al., 2017).

Neste estudo, a técnica de eletrofição foi empregada para fabricar mantas porosas de PCL, que incluem extrato ou cera de própolis vermelha, com o objetivo de aproveitar suas propriedades complementares. Além disso, estas mantas são pretendidas como substitutos dérmicos para tratar ferimentos superficiais e como suportes para engenharia de tecidos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Nanotecnologia e nanomateriais

A área da nanociência e nanotecnologia, esses avanços são notáveis e têm impulsionado o desenvolvimento de novos materiais, enfatizando a investigação de suas propriedades elétricas, ópticas, magnéticas ou mecânicas, propondo diferentes campos de aplicação.

A nanotecnologia é uma forma de aplicação tecnológica, comercial ou industrial que se baseia nos conhecimentos adquiridos pela nanociência sobre nanomateriais. Estes materiais são caracterizados por terem partículas com diâmetro variando de 1 a 100 nanômetros. É bem estabelecido que muitas de suas propriedades mudam drasticamente quando comparadas à sua forma macroscópica devido ao seu pequeno tamanho (RODUNER, 2006; ZARBIN, 2007).

Devido ao grande impacto científico, social, tecnológico e econômico, a nanotecnologia é um ponto de discussão e investimento em todo o mundo. Assim, países estão investindo cada vez mais em conhecimento nanotecnológico (GOLUBEV et al., 2018). No Brasil, a inserção de definições e pesquisas ligadas à nanociência e nanotecnologia começou em 2000. E, entre 2000 e 2007, o governo brasileiro já havia investido cerca de 160 milhões de reais em pesquisas no campo da nanotecnologia, no entanto outros países já tinham obtido um cenário mais precoce no desenvolvimento científico nesta área (ENGELMANN; VON HOHENDORFF, 2016).

A nanotecnologia teve seu marco inicial divulgado pelo físico norte-americano Richard Feynman na década de 1950, durante uma de suas famosas palestras intitulada "*There's Plenty of Room at the Bottom*", apresentada na Sociedade Americana de Física (FEYNMAN, 1960). O termo começou a ganhar força e a ser consolidado com base na manipulação atômica, molecular e supramolecular para a fabricação de materiais em escala nanométrica, sendo posteriormente conhecido como nanomateriais.

Desde tempos antigos, há relatos do uso de nanomateriais, como documentado pelos romanos antigos, com o famoso Cálice de Licurgo, datado do século IV. Este artefato possui propriedades notáveis devido à presença de nanopartículas de prata e ouro dispersas na estrutura vítrea, que causam uma mudança de cor, passando da reflexão verde para a transmissão vermelha da luz (Figura 1). Este fenômeno é resultado do diâmetro das nanopartículas, cerca de 50 nanômetros, que têm a capacidade de absorver e espalhar a luz em

comprimentos de onda diferentes daqueles apresentados em sua forma macroscópica (IAN FREESTONE, NIGEL MEEKS, MARGARET SAX, 2007).



Figura 1. Cálice de Licurgo, verde quando a luz é incidida pela frente e vermelho quando a luz é transmitida (de dentro para fora).

Fonte: (IAN FREESTONE, NIGEL MEEKS, MARGARET SAX, 2007)

A literatura científica apresenta diversas definições de nanomateriais (BOHOLM; ARVIDSSON, 2016), porém a mais amplamente aceita é aquela que considera um nanomaterial como tendo pelo menos uma de suas três dimensões com tamanho menor ou igual a 1000 nanômetros (BOWMAN, 2017). Esse tamanho nanométrico resulta em mudanças nas propriedades dos materiais e maximiza suas potencialidades de aplicação. Uma das formas de utilizar esses nanomateriais têm sido em sistemas biológicos como partículas carreadoras de medicamentos ou como molde para regeneração de tecidos, por exemplo (PARK; LAKES, 2010a).

2.2 Biomateriais e nanofibras

A utilização de materiais alternativos para tratar lesões e substituir tecidos biológicos é uma prática antiga que acompanha a humanidade desde os tempos mais remotos. O conhecimento sobre esses materiais evoluiu ao longo dos anos e o primeiro registro histórico de incorporação de objetos estranhos ao corpo humano data de cerca de 9000 a.C. Arqueólogos descobriram que o fóssil conhecido como "homem de Kennewick" tinha a ponta de uma lança incrustada em seu quadril, o que não o impediu de realizar suas atividades diárias. Isso mostra a capacidade do corpo de aceitar materiais estranhos (RATNER et al., 2004a, 2013a; VENKATESAN; KIM; WONG, 2015).

A história da utilização de materiais alternativos como implante intencional para tratar lesões e/ou substituir tecidos biológicos remonta a tempos antigos. A implementação eficaz desses materiais pode ser vista a partir de exemplos como o uso de ferro forjado como implante dentário na Roma antiga (200 d.C.) (CRUBÉZY et al., 1998) e o uso de conchas do mar como substituto de dentes pelo povo Maia (600 d.C.), que resultou na técnica de osseointegração (ALBREKTSSON; JOHANSSON, 2001) que conhecemos hoje. Embora não houvesse conhecimento científico adequado por trás desses procedimentos, eles são prova da capacidade do ser humano de utilizar materiais alternativos para resolver questões relacionadas às suas funções fisiológicas e anatômicas.

Na evolução da medicina e da ciência dos materiais, o homem moderno tem buscado materiais que possam ser bem aceitos pelo corpo humano e possam ser utilizados como tratamento de lesões ou substituição de tecidos biológicos. Esses materiais são conhecidos como biomateriais. A expressão biomaterial começou a ser difundida na década de 60 e, no final da década, ocorreu o primeiro simpósio sobre o assunto (RATNER et al., 2013b). Embora existam várias definições para o termo, para fins deste estudo, considera-se biomaterial como um material sintético e farmacologicamente inerte que foi projetado para ser incorporado ou substituir tecidos vivos e interagir com o organismo de maneira biológica (PARK; LAKES, 2010b).

O avanço no campo dos biomateriais é resultado da combinação de conhecimentos multidisciplinares, tornando a colaboração entre diferentes áreas do saber fundamental para o seu sucesso (RATNER et al., 2004b, 2013b). Com o crescente interesse na saúde e a inovação em cirurgias, a união de profissionais como químicos, físicos, biólogos, médicos, engenheiros e outros é imprescindível para o desenvolvimento de biomateriais eficazes e seguros (FONG et al., 2012).

O desenvolvimento de novos biomateriais busca preencher lacunas no setor da saúde, promovendo soluções para diferentes aplicações, tais como biosensores (RODRIGUES et al., 2021), implantes (KIRAN et al., 2018), curativos (AHMED et al., 2019), lentes intraoculares (STANOJCIC; HULL; O'BRART, 2020) e liberação controlada de fármacos (DENG et al., 2019). Inicialmente, o objetivo principal era sintetizar materiais com alta biocompatibilidade, isto é, materiais inertes e seguros para o corpo humano. No entanto, com o passar do tempo, a ênfase mudou para a produção de biomateriais bioativos, biodegradáveis e biomiméticos, tornando-se um dos focos da engenharia de tecidos (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

A engenharia de tecidos é uma área que combina a tecnologia e as ciências da vida com o objetivo de restaurar, proteger ou melhorar as funções biológicas através da medicina regenerativa (GAUT; SUGAYA, 2015; JIN et al., 2021). Os avanços na ciência dos materiais permitiram a elaboração de biomateriais diversos, tais como hidrogéis (SAMADIAN et al., 2020), filmes (SULTANKULOV et al., 2019), esponjas (SONG et al., 2020), componentes nanoestruturados (ARBADE et al., 2019) e nanopartículas (RODRIGUES et al., 2013), que são amplamente estudados na engenharia de tecidos. Esses materiais são uma fonte importante para o desenvolvimento de novos biomateriais (JIN et al., 2021).

As nanofibras poliméricas nanoestruturadas são biomateriais de destaque devido à sua estrutura tridimensional com elevada porosidade, que os torna aptos para atuar como suporte para a fixação e crescimento celular. Além disso, esta estrutura permite a circulação de fatores bioquímicos, como a troca gasosa, essenciais para a nutrição celular, contribuindo para a formação de novos tecidos. O uso desse tipo de material em engenharia de tecidos é fundamental na busca por soluções regenerativas na medicina (LIN et al., 2018; ROSA et al., 2012; XU et al., 2001).

Para que a regeneração de tecidos seja possível, dois componentes cruciais são necessários: as células e o substrato (biomaterial). As células são uma parte vital no processo, pois são responsáveis por crescer e se multiplicar sobre a superfície do substrato. Já o substrato proporciona um ambiente adequado para o contato intercelular, o que permite que as células desempenhem suas funções adequadamente e estabeleçam uma interface efetiva com os sistemas biológicos.

Assim, um biomaterial poroso é um suporte crucial para a engenharia de tecidos, oferecendo as condições ideais para a adesão, diferenciação e proliferação celular. Além disso, deve possuir uma estrutura tridimensional que copie as propriedades e estrutura de um tecido biológico. Para seu uso efetivo na engenharia de tecidos, esse biomaterial precisa apresentar uma elevada porosidade, um tamanho de poros apropriado, conectividade interporos, área superficial adequada e boas propriedades mecânicas, para garantir a regeneração rápida e eficiente dos tecidos (LIU; XIA; CZERNUSZKA, 2007; MA, 2008).

A síntese de materiais porosos é um desafio que tem sido abordado por diversas técnicas, como a impressão 3D (KOWALCZYK et al., 2019), lixiviação (SOLA et al., 2019), inversão de fase por $scCO_2$ (SALERNO; SAURINA; DOMINGO, 2015) e eletrofiliação (ALTUN et al., 2019). Embora cada técnica tenha suas próprias vantagens, ainda não há uma técnica que ofereça o controle total sobre todos os parâmetros geométricos relevantes, como

tamanho do poro, tamanho de interligação e número de poros. No entanto, a técnica de eletrofiação tem se destacado como uma alternativa promissora, pois é capaz de produzir materiais porosos em nanoescala de forma simples e rápida.

2.3 Eletrofiação

Eletrofiação é uma técnica antiga que tem contribuído com muitas pesquisas científicas, utilizando conceitos físicos que foram descobertos ao longo dos anos (TUCKER et al., 2012). A primeira tentativa de desenvolver um equipamento de eletrofiação foi proposta por Formhals, que criou vários protótipos para aprimorar o equipamento e produzir fibras poliméricas através de uma diferença de potencial de alta intensidade. Em 1934, Formhals finalmente publicou sua primeira patente relacionada à eletrofiação para a fabricação de fios têxteis de acetato de celulose usando acetona e éter monometílico de etileno-glicol como solventes, aplicando uma diferença de potencial de 57 kV (BHARDWAJ; KUNDU, 2010)..

Mais tarde, no final da década de 1960, cientistas na área buscavam identificar modelos matemáticos que explicassem a formação de fibras usando a técnica de eletrofiação, aproximando o comportamento físico desses materiais eletrofiados. Taylor usou vários parâmetros e equações para descrever a formação de fibras e, com base em diversas teorias, ele conseguiu estimar esse comportamento, que hoje conhecemos como o cone de Taylor (TAYLOR, 1964).

Com essas descobertas, a eletrofiação gradualmente ganhou destaque mundial, com muitos trabalhos publicados que usavam uma série de polímeros com aplicações em vários campos, tornando-se uma grande aliada no processamento e na criação de novos materiais. Podemos definir a eletrofiação como um processo usado para obter fibras através de forças eletrostáticas em escalas nano e micrométricas a partir de uma solução polimérica ou de um polímero fundido (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; TUCKER et al., 2012).

O processo de formação de fibras a partir de um líquido (solução polimérica) ou de um polímero fundido é completamente físico, seja pela evaporação do solvente ou pelo resfriamento do polímero após aquecimento prévio (TUCKER et al., 2012). A estrutura básica da eletrofiação pode ser vista na Figura 2, que ilustra a formação de fibras. Na eletrofiação, o eletrodo é conectado a uma fonte de alta tensão e em seguida a solução polimérica é colocada em um tubo capilar e submetida a uma diferença de potencial. A gotícula formada está sujeita aos efeitos causados pelo cone de Taylor e, em seguida, a fibra é depositada no coletor (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; TAYLOR, 1964; TUCKER et al., 2012).

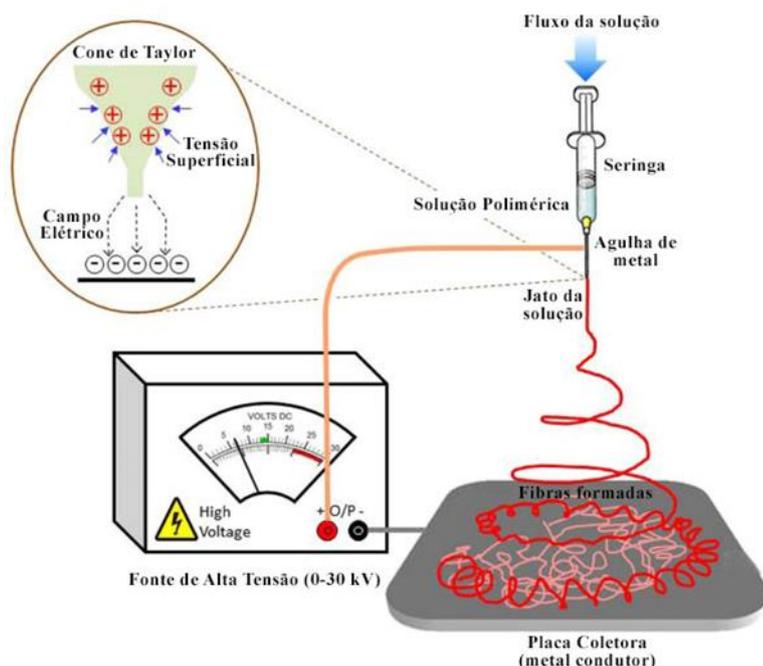


Figura 2. Configuração da montagem usual do equipamento de eletrofição, juntamente com a formação do cone de Taylor ampliada
Fonte: Adaptado (GHOSAL et al., 2018)

A formação do cone de Taylor ocorre devido à variação de potencial elétrico na extremidade do coletor e na ponta da agulha. Quando a tensão elétrica aumenta, a superfície da gota se alonga e forma um cone (ampliação Figura 2). Quando as forças eletrostáticas ultrapassam a tensão superficial da gota, o cone "estoura" formando um jato que segue um trajeto reto e desorientado até ser depositado no coletor. Nesse trajeto, o jato está sujeito a diversas forças, como forças elétricas, Coulomb, viscoelásticas, gravitacionais e tensão superficial (CHEM; DI; YU, 2011; LI; XIA, 2004).

Dessa forma, enquanto essas forças atuam, a solução sofre um estiramento e ao mesmo tempo o solvente é evaporado, formando fibras com diâmetro na escala de nanômetros e micrômetros na superfície do coletor. As mantas poliméricas compostas por fibras eletrofiadas apresentam uma rede tridimensional e são orientadas ou distribuídas de maneira aleatória (CHEM; DI; YU, 2011). Além disso, essas fibras possuem características interessantes, como uma estrutura porosa e uma área superficial 10^3 vezes maior em comparação a uma peça bulk, além de possuírem flexibilidade e desempenho mecânico significativos em relação a materiais de tamanhos convencionais (MARIA et al., 2010).

A vantagem da utilização da eletrofição para a fabricação de novos materiais é que é possível obter fibras a partir de soluções poliméricas e se aplica a uma ampla variedade de polímeros, incluindo tanto polímeros sintéticos como naturais, além de permitir a produção de

copolímeros ou blendas, através da mistura de polímeros ou adição de outros materiais solúveis ou dispersos, como fármacos, nanopartículas, resinas, enzimas, entre outros. Isso é possível devido à facilidade de manipulação do equipamento e ao controle da arquitetura fibrilar, como diâmetro, morfologia, topografia da superfície e porosidade (HE et al., 2005; PAPENBURG et al., 2009).

Na eletrofiação, é possível utilizar uma grande variedade de polímeros, mas para isso, é necessário preparar a solução polimérica de forma apropriada, com uma composição refinada de solventes e solutos, considerando a distribuição do peso molecular entre as cadeias macromoleculares para garantir uma viscosidade adequada e, ao mesmo tempo, uma elasticidade elevada. No entanto, devido às várias variáveis envolvidas no processo, as propriedades das fibras podem ser alteradas, tornando crucial estabelecer uma rota de processamento adequada (PISANI et al., 2018).

A eletrofiação é influenciada por diversos parâmetros, que podem ser categorizados em três grupos distintos: os parâmetros da solução, os parâmetros do processo e os parâmetros ambientais. Cada uma dessas variáveis exerce um impacto significativo na morfologia e diâmetro das fibras produzidas, sendo crucial otimizar e equilibrar esses parâmetros para alcançar um produto de alta qualidade (YOON et al., 2018).

O equilíbrio entre todos esses parâmetros é fundamental para se obter fibras com as características desejadas. Ajustes precisos devem ser realizados para atingir a morfologia e diâmetro almejados, bem como para controlar a porosidade, a distribuição das fibras na superfície e outras propriedades importantes. Por isso, é formidável realizar experimentos para determinar a combinação ideal de parâmetros que resultem nas fibras de melhor desempenho. Além disso, é interessante levar em consideração que as condições ambientais, como temperatura e umidade, também afetam o resultado final. Por isso, recomenda-se realizar a eletrofiação em ambientes controlados para garantir resultados consistentes e precisos.

2.3.1 Parâmetros da Solução (Polímero-Solvente)

Os parâmetros da solução, como concentração e massa molecular do polímero, podem ter uma grande influência na morfologia, geometria e qualidade da fibra produzida. Por exemplo, uma concentração elevada de polímero pode resultar em uma viscosidade mais alta da solução, o que pode afetar a uniformidade da deposição da fibra durante o processo de fabricação. Além disso, a tensão superficial da solução e a condutividade elétrica também

podem ser influenciadas pelos parâmetros da solução, o que pode ter um impacto na formação de gotas (*beads*) na superfície da fibra (RAMAKRISHNA et al., 2005; SONG et al., 2001)..

Além disso, as interações polímero-solvente também são importantes na determinação dessas propriedades da solução. Por exemplo, as interações polímero-solvente podem afetar a solubilidade do polímero no solvente e, conseqüentemente, a viscosidade da solução. Portanto, é importante compreender essas interações para ajustar os parâmetros da solução e produzir fibras com as propriedades desejadas (KEUN et al., 2004).

- Viscosidade

A viscoelasticidade está totalmente relacionada à concentração da solução polimérica, distribuição da massa molecular e arquitetura das moléculas. Para obter fibras uniformes sem a formação de defeitos do tipo gota, é necessário um grau de entrelaçamento das cadeias poliméricas, o que corresponde à concentração mínima do polímero na solução. Desta forma, dependendo da concentração, alguns efeitos podem ser observados (RAMAKRISHNA et al., 2005).

Com a viscosidade aumentando, há uma tendência de aumento no diâmetro médio da fibra, o que resulta em dificuldade na expulsão do jato e no seu estiramento. Isso significa que não há formação de jatos secundários, o que leva a uma deposição menor no coletor, pois não há dispersão dos feixes que saem da ponta da agulha. Por outro lado, a viscosidade muito baixa pode resultar em menor grau de emaranhamento, tornando o jato instável e causando a eletropulverização (*electrospraying*), o que pode contribuir para a formação de gotas como tipo de defeito (FONG; CHUN; RENEKER, 1999; RAMAKRISHNA et al., 2005).

- Tensão Superficial

A tensão superficial é uma força que atua na superfície de um gás ou líquido, medida em N/m. Ela tem como efeito reduzir a área da superfície por unidade de massa, fazendo com que o fluido adquira uma forma específica. Esta forma é determinada por três forças distintas: a força gravitacional, a força de coesão entre as moléculas e a força de adesão entre as moléculas na superfície sólida. Líquidos polares, como a água, apresentam interações intermoleculares intensas, resultando em alta tensão superficial (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

Na eletrofiação, o campo elétrico aplicado pode superar a tensão superficial da gota formada na ponta da agulha, gerando um jato fibroso por meio do cone de Taylor. As cadeias

poliméricas se orientam ao longo da formação do jato. Além disso, o tipo de solvente utilizado também influencia a tensão superficial da solução. Em geral, soluções com tensão superficial elevada dificultam a eletrofiação devido à instabilidade dos jatos e formação de gotículas pulverizadas, enquanto soluções com tensão superficial baixa favorecem a formação de fibras utilizando campos elétricos de menor intensidade. Portanto, a escolha adequada do polímero e do solvente é fundamental para modificar a morfologia das fibras produzidas por eletrofiação (RAMAKRISHNA et al., 2005).

- **Condutividade**

A condutividade elétrica de uma solução é determinada pela capacidade dos íons se moverem livremente na solução, facilitando a condução de corrente elétrica. A mobilidade dos íons afeta diretamente o estiramento das fibras produzidas por eletrofiação. Soluções com valores elevados de condutividade tendem a resultar em fibras com diâmetro reduzido e maior área de deposição no coletor (YALCINKAYA; YALCINKAYA; JIRSAK, 2015).

A condutividade da solução pode ser ajustada por meio de diversas técnicas, incluindo a mudança do tipo de solvente, adição de sais, uso de surfactantes iônicos, entre outras. No entanto, é importante lembrar que essas modificações excessivas podem impactar negativamente outros parâmetros importantes, como a tensão superficial e a viscosidade da solução. Portanto, é importante equilibrar as modificações para obter os melhores resultados no processo de eletrofiação (FONG; CHUN; RENEKER, 1999; YALCINKAYA; YALCINKAYA; JIRSAK, 2015).

2.3.2 *Parâmetros do Processo*

Os parâmetros do processo desempenham um papel fundamental na formação das fibras, pois, juntamente com os parâmetros da solução mencionados anteriormente, influenciam a morfologia final das mantas. Neste ponto, serão apresentados a tensão elétrica, a distância entre a agulha e o coletor, o fluxo de vazão e o tipo de coletor.

- **Tensão elétrica**

Assim como outros fatores, a tensão elétrica também desempenha um papel importante na formação da fibra. O intenso campo elétrico gerado pela diferença de potencial entre a ponta da agulha e o coletor resulta na formação do cone de Taylor, que dá origem à formação da fibra que é atraída para a superfície do coletor. A tensão elétrica aplicada normalmente varia entre 0 a 30 kV, mas pode ser superior (RAMAKRISHNA et al., 2005).

Além disso, existe uma relação direta entre a variação da tensão elétrica e a morfologia da fibra, uma vez que o campo elétrico tem influência na aceleração e no estiramento das fibras. Para que ocorra o estiramento da cadeia polimérica devido à repulsão das cargas elétricas, a tensão elétrica aplicada deve ultrapassar a tensão de limiar da solução, formando assim o jato fibroso que é direcionado ao coletor. No entanto, se a tensão aplicada não for suficiente para ultrapassar a tensão superficial da solução, ocorrerá o gotejamento vertical da solução. Mas, se a tensão aplicada for superior ao valor crítico, ocorrerá a formação do Cone de Taylor dentro da agulha, devido à alta velocidade de estiramento e evaporação rápida do solvente, resultando em defeitos de gota (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

- Distância entre a agulha e coletor

A distância de trabalho, ou seja, a separação entre a agulha e o coletor, precisa atingir um valor ideal para garantir uma evaporação eficiente do solvente e um campo elétrico adequado para formação do Cone de Taylor. Se a distância for muito ampla, o campo elétrico pode não ser suficiente, ocasionando problemas na estrutura da fibra. Por outro lado, se a distância for muito curta, não haverá tempo suficiente para a evaporação completa do solvente, resultando em solubilização das fibras, aumento de seu diâmetro e aparição de defeitos na forma de gotas (RAMAKRISHNA et al., 2005).

- Fluxo de vazão

A vazão é a medida da quantidade de material (solução) que é dispensada por unidade de tempo (ks/s) ou área por tempo (m^3/s). Ela pode ser controlada através de uma bomba de infusão ou pela força da gravidade (no caso de a agulha estar posicionada de forma vertical). Para uma determinada tensão elétrica, há uma vazão específica que manterá o Cone de Taylor estável, evitando a solidificação da solução na ponta da agulha ou o gotejamento excessivo devido a uma quantidade excessiva de solução (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; LURAGHI; PERI; MORONI, 2021).

Quando o fluxo é mais elevado, o diâmetro das fibras aumenta. No entanto, há um limite para esse aumento, uma vez que ele depende da taxa na qual o jato é formado, que por sua vez, depende da elevação da carga. Além disso, o acréscimo do fluxo pode tornar a evaporação do solvente mais difícil, favorecendo a formação de falhas e tornando as fibras coalescidas. Em geral, é desejável um fluxo mais baixo para que a evaporação do solvente seja mais eficiente (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; RENEKER; YARIN, 2008).

- Tipo de coletor

O coletor deve ser feito de um material condutor, comumente folha de alumínio ou cobre, pois esses materiais são mais eficientes na criação de um campo elétrico entre a ponta da seringa e o coletor para produzir o efeito eletrostático. Quando são utilizados materiais não-condutores, as cargas rapidamente se acumulam no coletor, resultando em menos fibras depositadas na sua superfície. Além disso, o coletor deve ser aterrado para manter a estabilidade da diferença de potencial (HE et al., 2005).

A posição vertical ou horizontal do coletor é utilizada para fins de produção da fibra, e pode variar dependendo da posição da agulha. O movimento do coletor pode ser estático ou rotativo. Quando o coletor é rotativo, há evidências de que a rotação influencia na linearidade das fibras (BECKER et al., 2015).

2.3.3 *Parâmetros Ambientais*

Além dos parâmetros de solução e processo, fatores ambientais como umidade, temperatura e composição do ar também tendem a influenciar o processo de eletrofiação. Embora poucos estudos tenham se concentrado nas modificações causadas por esses parâmetros na formação da fibra, muitas vezes eles são omitidos ou ignorados. No entanto, as pesquisas relacionadas à variação de temperatura e umidade estão se tornando cada vez mais frequentes (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

Geralmente, o aumento da temperatura resulta em uma maior taxa de evaporação do solvente, o que aumenta a viscosidade da solução e influencia o tamanho médio das fibras, que tende a diminuir devido ao maior estiramento do jato fibroso (DE VRIEZE et al., 2009). Por outro lado, o aumento da umidade pode dificultar a evaporação do solvente, promovendo a fusão das fibras e aumentando o diâmetro médio da fibra. Também pode contribuir para a condensação da água na superfície da fibra, resultando na formação de poros circulares na manta eletrofiada (RAMAKRISHNA et al., 2005).

Portanto, é crucial ajustar todos esses parâmetros para garantir a produção de fibras de alta qualidade. A importância do polímero é uma decisão necessária, pois suas características afetarão o resultado quando se considera a futura utilização da manta eletrofia. Entre as opções de polímeros disponíveis, podemos destacar a policaprolactona.

2.4 **Poli(ϵ -caprolactona) ou policaprolactona (PCL)**

A policaprolactona (PCL) é sintetizada por meio da polimerização da abertura do anel da ϵ -caprolactona e é um poliéster alifático, com cadeia linear (Figura 3) e alta

ductilidade. O PCL apresenta elevada hidrofobicidade, baixa taxa de degradação e é semicristalino, com a tendência de diminuição da cristalinidade à medida que o peso molecular aumenta (HOSKINS; GRAYSON, 2009; PERSENAIRE; DEGE, 2001). Em termos de propriedades térmicas, este polímero é estável termicamente, decompondo-se a temperaturas próximas a 350°C, com uma temperatura de transição vítrea entre -65 e -60°C e uma temperatura de fusão (T_f) entre 58 e 63°C (PERSENAIRE; DEGE, 2001). Estas características tornam o PCL um material adequado para trabalho, já que não apresenta uma T_f tão alta quanto o poli(tereftalato de etileno) (PET), que é de aproximadamente 260°C (GIRIJA; SAILAJA; MADRAS, 2005).

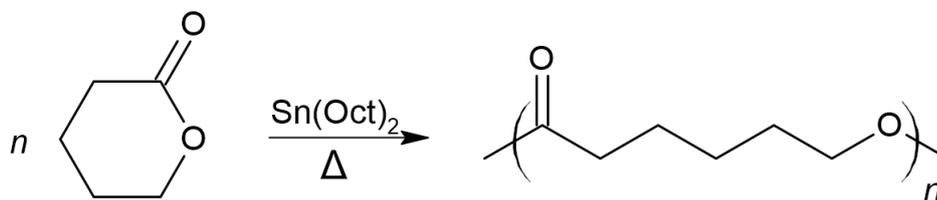


Figura 3. Reação para a formação do polímero policaprolactona

Fonte: Elaboração própria

Devido a essas características, a PCL tem sido amplamente considerada para aplicações, especialmente na área biomédica, graças à sua elevada miscibilidade com outros polímeros e facilidade na formação de blendas poliméricas. Além disso, a PCL é atóxica, biocompatível e biodegradável. Por esta razão, o uso da PCL tem sido cada vez mais incentivado na engenharia de tecidos, e a FDA (*Food and Drug Administration*) classifica a PCL como um dos polímeros que causam menos efeitos adversos quando em contato com estruturas e células humanas (HOSKINS; GRAYSON, 2009; HUANG et al., 2004).

Com o objetivo de aplicar a PCL na engenharia de tecidos, Carter, Rahman e Bhattarai (2016) desenvolveram uma manta composta de PCL, polímero natural e aloe vera. Eles descobriram que as nanofibras produzidas apresentaram uma boa uniformidade na morfologia das fibras, propriedades mecânicas satisfatórias e mantiveram sua estrutura fibrosa intacta em soluções aquosas. Além disso, a manta mostrou ser viável para células de fibroblastos 3T3.

Nessa perspectiva, Jin et al. (2013) encontraram que a nanofibra formada por *Memecylon edule* apresentou menor citotoxicidade e maior proliferação e viabilidade celular em comparação com as outras amostras, o que a torna um potencial candidato para aplicações na engenharia de tecidos. De acordo com Ravichandran et al. (2019a), o efeito antimicrobiano dessas nanofibras é proveniente dos extratos vegetais, já que eles contêm metabólitos secundários que promovem essa ação.

Além disso, vários estudos têm destacado o potencial da combinação de PCL com outros materiais, incluindo polímeros naturais, extratos vegetais, nanopartículas, entre outros, para aplicações biomédicas. Essas combinações têm mostrado uma série de propriedades benéficas, incluindo hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, efeitos antimicrobianos, entre outras. A incorporação de extratos vegetais tem sido especialmente destacada como uma estratégia promissora para desenvolver novos curativos e produtos para a engenharia de tecidos, já que muitos extratos vegetais possuem propriedades antimicrobianas e estimuladoras da proliferação celular. Ao continuar a investigar o potencial da PCL como material para aplicações biomédicas, é provável que sejam descobertos ainda mais usos para esse polímero em soluções inovadoras na área da saúde (AL-KAABI et al., 2021; SALLES et al., 2020; SHARIFI et al., 2020).

Dessa forma, é possível notar que, ao unir as vantagens da técnica de eletrofiação com as propriedades do PCL, extratos vegetais podem ser utilizados na formação de mantas fibrosas para atuar como substrato para a proteção de lesões sobre a superfície da pele. Entre estas opções, a própolis vermelha é especialmente destacada, devido ao elevado índice de metabólitos secundários presentes em sua constituição (REGUEIRA et al., 2017).

2.5 Própolis vermelha

A palavra própolis tem sua origem no grego, sendo "pro" significando "defesa" e "polis" significando "cidade". Assim, podemos entender a própolis como um produto que protege a colmeia. Ela é formada pela mistura de secreções salivares das abelhas e resinas coletadas de diferentes partes das plantas, como pólen, flores, cascas e ramos. Além de proteger a colmeia, a própolis tem diversas funções importantes, tais como reparar danos e prevenir a entrada de insetos; atuar como antisséptico, impedindo a proliferação de microrganismos; mumificar insetos mortos, evitando a contaminação da colmeia; e fornecer propriedades mecânicas para a construção e sustentação da colmeia (ROJCZYK; KLAMABARY; WOJCIECH, 2020; TORETI et al., 2013).

A utilização da própolis data de tempos antigos, sendo mencionada em representações de abelhas e seu produto em vasos originários do Egito Antigo. Os egípcios utilizavam a própolis para embalsar corpos e associavam as abelhas aos deuses. Já os gregos, chamavam a própolis de "cola de abelha" e reconheciam suas propriedades medicinais, utilizando-a em ferimentos devido sua ação cicatrizante e antisséptica. Os romanos também utilizavam frequentemente a própolis em suas guerras como medicamento de emergência para lesões. Durante a Segunda Guerra Mundial, médicos tentaram usar a própolis para regeneração de tecidos, cicatrização de feridas, tratamento de tuberculose, inflamação pulmonar e desnutrição. Atualmente, a lista de aplicações da própolis é quase infinita, graças ao seu gradual processo de difusão (ROJCZYK; KLAMA-BARY; WOJCIECH, 2020; TORETI et al., 2013).

A cor e a fonte botânica da própolis variam dependendo da região geográfica, podendo apresentar tons de amarelo, verde, vermelho e marrom. Já a composição química é influenciada pelas fontes vegetais, espécie de abelha, iluminação, altitude, temperatura e disponibilidade de alimentos (DO NASCIMENTO et al., 2019; REGUEIRA et al., 2017). No entanto, a composição geral da própolis é semelhante, com cerca de 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e 5% de pólen. Além disso, a própolis tem amplo espectro terapêutico e contém mais de 300 componentes diferentes (ANJUM et al., 2019; ROJCZYK; KLAMA-BARY; WOJCIECH, 2020).

A grande diversidade da flora brasileira levou Park, Alencar e Aguiar (PARK; ALENCAR; AGUIAR, 2002) a classificar a própolis brasileira em 12 grupos distintos. A classificação foi baseada na localidade, características físicas e químicas e cor. Destes, 5 grupos estão na região Sul, 1 na região Sudeste e 6 no Nordeste. A Tabela 1 apresenta informações resumidas sobre as características da própolis encontrada no Brasil, incluindo a área de ocorrência e as atividades biológicas já identificadas.

Um tipo de própolis, originário dos mangues do Nordeste brasileiro, especialmente de Alagoas, possui características únicas, uma delas é a coloração avermelhada. Sua cor proveniente da resina encontrada na espécie *Dalbergia ecastophyllum* L., conhecida popularmente como rabo-de-bugio, presente nos manguezais. Tal particularidade classifica a própolis vermelha como o 13º tipo de própolis brasileira (CABRAL et al., 2009). A própolis vermelha tem similaridade com outros tipos de própolis encontrados em Cuba e Veneza, porém com origem botânica distinta, garantindo, assim, a certificação do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), reconhecido internacionalmente e que dá direito à propriedade

intelectual autônoma, indicando a origem de um determinado produto ou serviço (VIDAL, 2021).

Entre a diversidade de componentes fitoquímicos existentes na própolis vermelha brasileira, os flavonoides se destacam, pois representam mais de 60% da composição dos metabólitos secundários existentes no extrato. Muitas das ações terapêuticas são atribuídas a esses compostos (REGUEIRA et al., 2017), garantindo interessantes atividades biológicas, como mostrado na Tabela 1.

Os flavonoides são uma classe de compostos polifenólicos amplamente distribuídos em plantas e substâncias de origem vegetal. Eles são caracterizados por sua estrutura química complexa, composta por anéis fenólicos interconectados. Os flavonoides apresentam uma variedade de propriedades bioativas e são reconhecidos por sua capacidade antioxidante, que envolve a neutralização de espécies reativas de oxigênio e a proteção contra danos oxidativos (REGUEIRA et al., 2017).

Além de suas propriedades antioxidantes, os flavonoides também demonstraram atividades anti-inflamatórias, anticancerígenas, antimicrobianas e neuroprotetoras. Assim, essas características endossam a aplicabilidade da própolis vermelha para fins biomédicos e, juntamente com outros materiais, proporcionam sinergia quanto à sua utilidade.

Tabela 1. Características gerais dos tipos de própolis brasileira

Fonte: Adaptado de Vidal (2021)

Tipo	Área de Ocorrência	Origem Botânica	Atividade Biológica
Verde	Minas Gerais e São Paulo	<i>Baccharis dracunculifolia</i> (alecrim-do campo)	Antibacteriano, anticâncer, antifúngico, anti-inflamatório, antioxidante, inibição da angiogênese, imunomodulador e antiviral
Vermelha	Litoral de Alagoas, Paraíba, Pernambuco, Sergipe e Bahia	<i>Dalbergia ecastophyllum</i> , (rabo-de-bugio) espécie de manguezais	Antibacteriano, anticâncer, anticariogênico, antifúngico, anti-inflamatório, antioxidante, antiproliferativo e imunomodulador
Marrom	Sul e Sudeste	<i>Copaifera langsdorffii</i> (copaíba), Araucária	Antigenotoxicidade, antimicrobiano e antioxidante
Preta	Semiárido brasileiro	<i>Mimosa tenuiflora</i> (jurema-preta)	Antioxidante e antibacteriano

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Desenvolver mantas eletrofiadas com uma base polimérica PCL, contendo cera ou extrato de própolis vermelha de Alagoas.

3.2 Objetivos Específicos

- Preparar mantas com estruturas fibrosas;
- Concentrar os componentes bioativos da própolis vermelha;
- Purificar a cera de própolis vermelha;
- Analisar o perfil químico dos componentes existentes no extrato e cera de própolis vermelha;
- Incorporar cera ou extrato de própolis vermelha na estrutura da manta;
- Caracterizar as mantas nanoestruturadas bioativas, pelas técnicas de FTIR, MEV, análises térmica, DRX, molhabilidade, propriedades mecânicas e citotoxicidade.

4 METODOLOGIA

4.1 Processo de obtenção do extrato concentrado de própolis vermelha

A amostra bruta de própolis vermelha foi obtida por meio do apiário de Paripueira (Maceió, Brasil), cujo a localização geográfica está localizada latitude sul: 9° 26.448', latitude oeste: 35° 31.710' e altura de 4,7 metros. Para a obtenção do extrato concentrado de própolis vermelha foi utilizado como líquido extrato etanol 70% na proporção de 400 mL para 100 g da amostra bruta de própolis vermelha. A suspensão foi deixada em repouso por 48 h, a temperatura ambiente (27 °C), posteriormente o sobrenadante foi retirado e o procedimento repetido por três vezes. O extrato hidroalcolólico obtido foi filtrado em papel filtro comum e rotaevaporado (IKA® RV10, Alemanha) a 50 °C, em seguida, o extrato foi armazenado a 10 °C (DO NASCIMENTO et al., 2016).

Realizado no Laboratório de Tecnologia de Nanosistemas Carreadores de Substâncias Ativas (Tecnano), Instituto de Ciências Farmacêuticas, UFAL.

4.2 Processo de extração da cera do resíduo de própolis vermelha

O resíduo insolúvel resultante da obtenção do extrato etanólico da própolis vermelha de Alagoas é uma massa sólida insolúvel na solução hidroalcolólica e foi armazenado em recipiente de vidro no laboratório do IQB/ICF da Universidade Federal de Alagoas, campus Simões, Maceió/AL, no qual possuem grupos de pesquisa que descartam esse material.

O resíduo foi previamente seco em estufa a 50 °C por 24 h para total evaporação de possíveis solventes. Posteriormente o material sólido resinoso foi aquecido (100 °C) pelo método de decocção modificada (RODRIGUES et al., 2021), utilizando água deionizada para extração da cera. O processo foi repetido diversas vezes até a água ficar translúcida. O material foi resfriado e armazenado a temperatura ambiente (Figura 4).

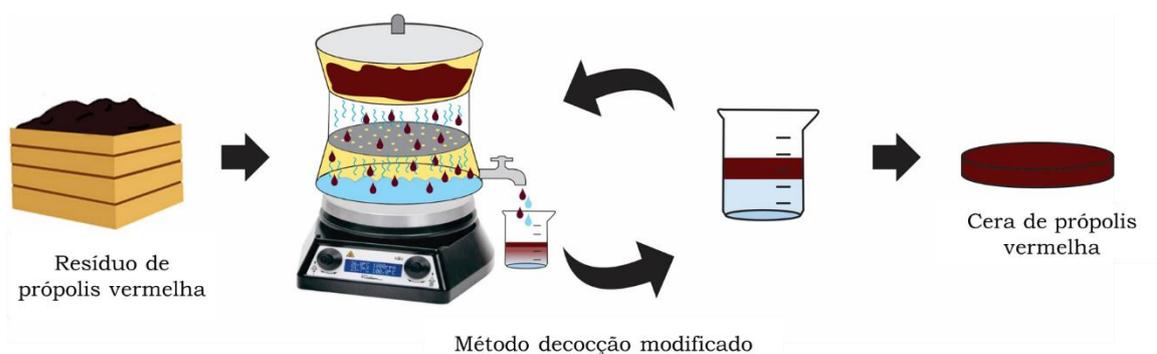


Figura 4. Fluxograma processo de extração da cera

Fonte: Elaboração própria

Realizado no Laboratório de Polímeros Condutores Eletrocromáticos e Fluorescentes (LPCEIF), Centro de Tecnologia, UFAL.

4.3 Formação das mantas PCL/Própolis Vermelha

As amostras foram preparadas com porcentagens de cera ou extrato de: 1, 5, 10 e 15% em relação ao peso total (1,8 g) de PCL presente na solução (

Tabela 2). Uma solução de referência intitulada como branca foi feita usando apenas policaprolactona. As outras soluções com cera ou extrato foram feitas com base nas porcentagens mencionadas anteriormente. Os materiais foram solubilizados em uma solução padronizada de clorofórmio/metanol (20 mL) na proporção 4/1 v/v, conforme o estudo proposto por Ruckh et al. (2010). A solução foi agitada a 27 °C por 5 horas para garantir a homogeneização dos reagentes.

As amostras foram identificadas por siglas para tornar a organização mais fácil. A sigla PCL se refere à policaprolactona. Já a sigla PCL-E representa a amostra que contém extrato de própolis vermelha e policaprolactona. E a sigla PCL-C indica a presença de cera e policaprolactona. As numerações após as letras informam a porcentagem de extrato ou cera de própolis vermelha adicionada às soluções.

Tabela 2. Proporção da solução polimérica para formação das mantas

Amostra	PCL (g)	Extrato (g)	Cera (g)
PCL	1,8	-	-
PCL-E1	1,782	0,018	-
PCL-E5	1,71	0,09	-
PCL-E10	1,62	0,18	-
PCL-E15	1,53	0,27	-
PCL-C1	1,782	-	0,018
PCL-C5	1,71	-	0,09
PCL-C10	1,62	-	0,18
PCL-C15	1,53	-	0,27

As mantas foram produzidas pela técnica de eletrofição aplicando uma tensão de 18 kV. Foi utilizado uma seringa de vidro de 10 mL com agulha de 0,8 mm, onde será colocada a

solução polimérica para a formação das mantas. A distância do coletor rotativo e a agulha foi de 12 cm. A taxa de fluxo obedeceu a força gravitacional.

Realizado no Laboratório de Polímeros Condutores Eletrocromáticos e Fluorescentes (LPCEIF), Centro de Tecnologia, UFAL.

Na Figura 5, podem ser visualizadas as mantas produzidas.

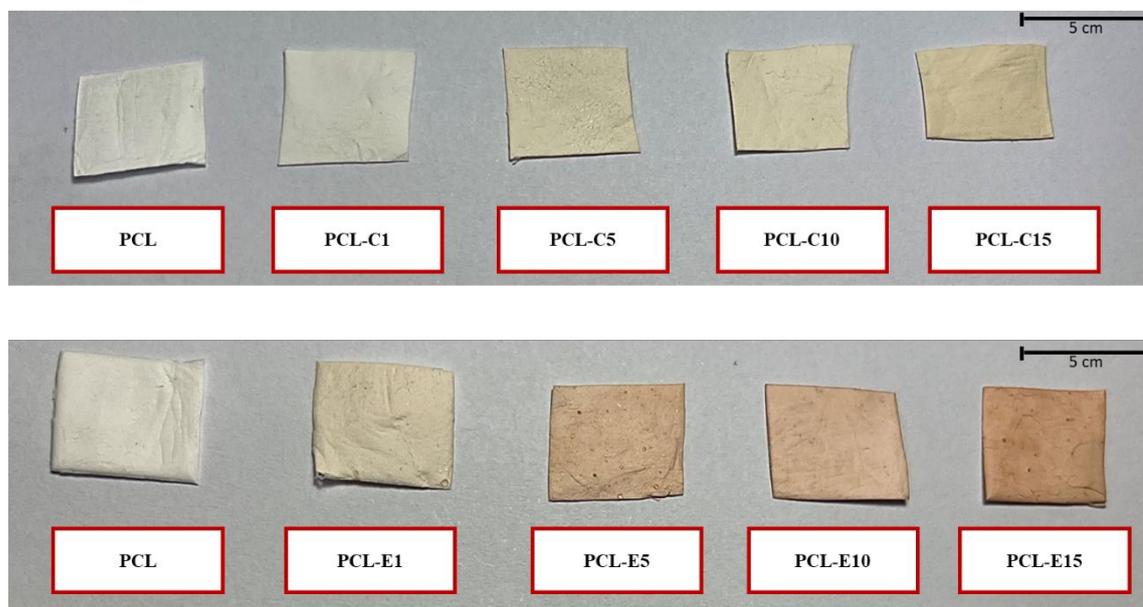


Figura 5. Fotos das Mantas eletrofiadas contendo PCL, PCL-E e PCL-C.

4.4 Caracterização do Extrato e Cera de Própolis

4.4.1 Cromatografia líquida de ultra eficiência

A análise de teor de isoflavonóides do extrato e cera de própolis vermelha foi determinado por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplado com detector de arranjo de diodos (UPLC-DAD), modelo Shimadzu. Foi utilizado uma coluna C₁₈ (150 x 4,6 mm; 5 μm); a fase móvel consistiu de água (Ultrapura) e acetonitrila (Merk), cujo o volume de injeção correspondeu a 2 μL com sistema de autoinjeção; o modo de gradiente foi composto de 30% de água e 70% de acetonitrila no tempo de 0 minutos e 100% de acetonitrila em 40 minutos.

A identificação dos flavonóides foram realizadas pela comparação dos espectros ultravioletas obtidos pelo fotodiodo em comprimento de onda de 249, 266, 275, 280, 289, 291 e 366 nm, e dos tempos de retenção obtidos para os padrões e para as amostras. Para o preparo das amostras foi utilizado 1 mg do extrato e cera de própolis vermelha, no qual foi diluído com metanol para balão volumétrico de 10 mL (solução estoque), em seguida uma segunda diluição foi realizada tomando-se 500μL da solução estoque e transferindo-se para

outro balão volumétrico de 10mL e completando o volume com metanol, para ser injetada no UPLC-DAD. Outros detalhes utilizados para essa determinação estão expostos no estudo de Nascimento et al. (2016). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Farmácia, do Instituto de Ciências Farmacêuticas da UFAL, sob coordenação do Prof. Dr. Ticiano Nascimento.

4.5 Caracterização das mantas eletrofiadas

4.5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens da morfologia das amostras foram obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo VEGA3 (Tescan, República Tcheca), utilizando detector de elétrons secundários (SE) em alto vácuo, temperatura constante sob tensão de 20 kV. As amostras foram fixadas em porta amostra utilizando fita de carbono e posteriormente metalizadas com uma fina camada de ouro utilizando o equipamento Quorum Q150R ES com uma corrente de 45 mA por um tempo de 200 s.

As porosidades superficiais das amostras foram estimadas a partir das suas imagens obtidas por MEV utilizando o software OriginLab 2020b, por meio do método proposto por Abdullah e Khairurrijal (2009). A porosidade foi calculada aplicando a Equação (1):

$$Porosidade = 1 - \frac{V_{sólido}}{V_{total}} \quad (1)$$

Onde o V_{total} é o volume total do material poroso relacionada a superfície e suas coordenadas. Já, o $V_{sólido}$ é o volume abaixo da superfície, no qual é integrada, em que a profundidade é estimada em *pixels*. A porosidade é analisada pela vacância do material com o volume fracionado que é observado pela micrografia. Para cada manta foi processado cinco imagens.

Análises realizada no Laboratório de Microscopia, Bloco de Química, IFAL.

4.5.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR-ATR foram obtidos no equipamento Espectrômetro no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR IR-Prestige-21, Shimadzu) em módulo de ATR. O intervalo investigado compreendeu 4000 a 500 cm^{-1} , 32 varreduras, cuja resolução foi de 4 cm^{-1} utilizando detector do tipo InGaAs.

Realizado no Laboratório de Estruturas e de Materiais (LEMA), Centro de Tecnologia, UFAL.

4.5.3 Difração de Raios X (DRX)

Análises por difração de raios-X das mantas foram realizadas em um difratômetro de Raios X Shimadzu7000, no qual apresenta geometria Bragg-Brentano ($\theta:\theta$), fonte de radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). As condições de análise seguiram com um intervalo angular (2θ) de 18° a 40° , voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, tempo de contagem de 0,60 s, taxa de varredura de $2^\circ/\text{min}$. Todas as medidas foram realizadas a temperatura ambiente (27°C).

A cristalinidade dos materiais foram calculadas pelo método de separação simples de áreas, no qual consiste em separar as intensidade integradas da fase cristalina e amorfa em um intervalo 2θ (RABIEJ, 1991), após a separação, a fração cristalina é estimada pela seguinte Equação (2):

$$\text{Fração Cristalina} = \left(\frac{A_c}{A_c + A_a} \right) * 100 \quad (2)$$

Onde, A_c e A_a representam a área cristalina e amorfa, respectivamente.

Realizado no Laboratório de Tecnologia de Nanosistemas Carreadores de Substâncias Ativas (Tecnano), Instituto de Ciências Farmacêuticas, UFAL.

4.5.4 Análises Térmicas

Para medidas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG) foi utilizado o analisador térmico simultâneo modelo SDT (da TA *instruments*), com aproximadamente 1,0 mg de amostra, sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 100 mL/min, razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, utilizando cadinho de alumínio. A faixa de temperatura foi ajustada para 30 a 120°C para a medida de DSC e entre 30 a 500 para a análise de TG.

Para o cálculo (AMASH; ZUGENMAIER, 1997) da cristalinidade, foi utilizado os resultados obtidos pela análise de DSC, no qual seguiu a seguinte Equação (3):

$$\text{Cristalinidade} = \left(\frac{\Delta H_F}{\Delta H_0 * F_w} \right) * 100 \quad (3)$$

Onde, ΔH_F é a entalpia de fusão das mantas; ΔH_0 é a entalpia de fusão para o polímero (PCL) 100% cristalino, no qual o valor é 136 J/g (QIU et al., 2005); e, F_w é a fração do polímero presente na manta.

As análises foram realizadas junto ao Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) – IQB, UFAL.

4.5.5 Molhabilidade

O grau de intumescimento das fibras foram avaliados pela imersão das amostras em água destilada (pH 6,4), utilizando o método proposto por Çay, Miraftab e Kumbasar (2014). As fibras foram recortadas em formato circular com diâmetro de 10 mm e logo em seguida pesadas para determinação da massa inicial. Após a pesagem, as amostras foram imersas em 50 mL de água destilada, no qual permaneceram imersas por diferentes períodos, variando entre 1-60 min. Antes de medir o peso das amostras intumescidas, o excesso de água superficial foi removido utilizando papel absorvente. Todos os ensaios de intumescimento foram realizados em triplicata. Para avaliar o grau de intumescimento foi aplicada a Equação 4:

$$\text{Grau de Intumescimento} = \left(\frac{M_{\text{úmida}} - M_{\text{inicial}}}{M_{\text{inicial}}} \right) * 100 \quad (4)$$

Onde, $M_{\text{úmida}}$ é a massa da amostra intumescida. Já, M_{inicial} é a massa da amostra seca, isto é, antes de imersa na água destilada. O grau de intumescimento foi obtido em porcentagem.

As medidas de ângulo de contato foram realizadas utilizando água destilada como solvente em um sistema que consiste basicamente de um porta amostra, cuja a dimensão é de 10x10 mm, um microscópio digital (Magnificação 1600x) acoplado a um notebook, uma lâmpada de LED, uma superfície de alinhamento ajustável e uma seringa de 5 mL com agulha inoxidável de 25x0,6 mm.

As amostras foram recortadas de acordo com a dimensão da porta a mostra, em seguida o sistema foi ligado e gotejado o solvente sobre a superfície da amostra. O ângulo de contato da gota foi analisado pela variação do tempo. As fotografias foram avaliadas utilizando o software *ImageJ*, seguindo a metodologia proposta por Stalder et al. (2006).

Análises realizadas no Laboratório de Polímeros Condutores Eletrocromicos e Fluorescentes (LPCEIF), Centro de Tecnologia, UFAL.

4.5.6 Ensaios Mecânicos

Os ensaios de tração foram realizado sem uma máquina universal de ensaios mecânicos da Shimadzu, modelo AG-X, com uma célula de carga de 100 kN. Para este experimento foi utilizado as especificações da norma ASTM D882-10. Foram utilizados 5 corpos de prova para obtenção do gráfico Tensão x Deformação, cujo as dimensões dos corpos de prova equivalem à 7 mm de largura, 48 mm de altura e 0,2 mm de espessura. Foi utilizada a taxa de deslocamento de 500 mm/min.

As análises foram realizadas no Laboratório de Estrutura e Materiais (LEMA) – CTEC, UFAL.

4.5.7 *Avaliação da Citotoxicidade*

4.5.7.1 Cultura de células L929 na superfície do biomaterial

As células L929 semelhantes a fibroblastos foram cultivadas em um meio modificado de Eagle por Dulbecco (DMEM com 100 UI/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 2 mmol/L de glutamina fornecido pela Gibco, de Grand Island, NY, EUA) complementado com 10% de Soro fetal bovino (SFB, fornecido pela Gibco).

4.5.7.2 Ensaio Alamar Blue

A análise da viabilidade celular foi realizada com o uso do ensaio Alamar Blue® (Life Technologies, Carsbad, CA, EUA). Este método se baseia na redução do composto ativo Resazurina pelas células viáveis, resultando na produção de Resorufina. Após 24 horas de incubação, os biomateriais foram lavados com 1 mL de PBS e, em seguida, foram adicionados 450 µL de DMEM sem SFB e 50 µL de solução Alamar Blue®. Os biomateriais foram incubados por mais 4 horas a 37 °C e 5% de CO₂. Duas alíquotas de 100 µL foram retiradas dos poços e transferidas para uma placa de 96 poços, e a absorbância de cada uma foi medida com um leitor de fluorescência (excitação a 560 nm e emissão a 590 nm) (Synergy H1; BioTek, Winooski, VT, USA). O grupo controle negativo (DMEM suplementado com 1% de SFB) foi considerado como 100% de viabilidade celular, e os dados foram submetidos a testes estatísticos com nível de significância de 5% ($\alpha < 5\%$).

As análises foram realizadas pelo grupo de pesquisa em Biomateriais do Instituto de Química da UNESP no campus em Araraquara, SP.

4.5.8 *Análise Estatística*

Todos os resultados quantitativos foram relatados como médios e considerando o desvio padrão. A análise estatística foi obtida utilizando a análise de variância unidirecional (ANOVA), com $p \leq 0.05$ considerado como sendo estatisticamente significativo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Cromatografia líquida de ultra eficiência

A técnica de cromatografia é amplamente utilizada na identificação e quantificação de metabólitos secundários em diferentes produtos. O princípio da técnica envolve a análise de substâncias por meio de seu tempo de retenção, que depende da interação dos componentes com a fase móvel ou estacionária. É crucial conhecer a composição do extrato e cera de própolis vermelha para estabelecer padrões para futuras aplicações. As Figuras Figura 6 e Figura 7 mostram o perfil cromatográfico dos flavonoides identificados, enquanto a Tabela 3 apresenta uma síntese dos compostos químicos detectados. As estruturas químicas das substâncias podem ser verificadas no ANEXO I.

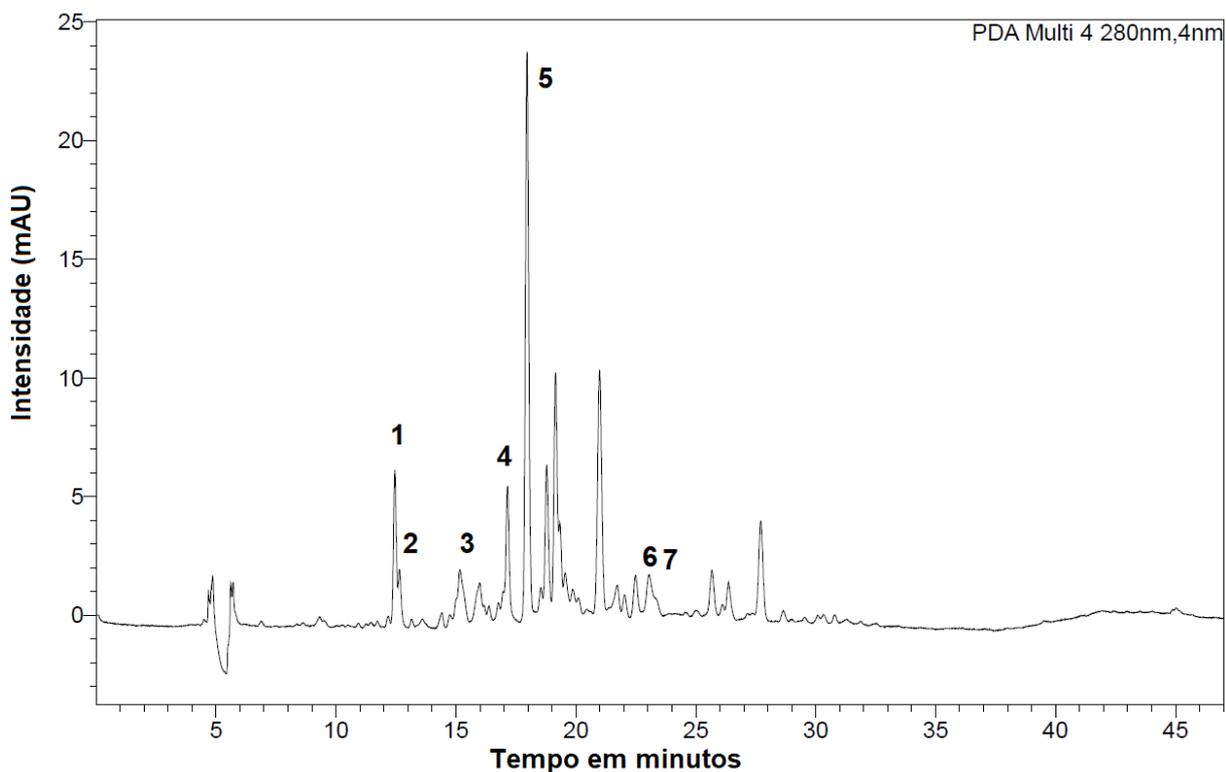


Figura 6. Cromatograma do extrato de própolis vermelha no comprimento de onda de 280 nm. Identificação de 1) Liquiritigenina; 2) Daidzeina; 3) Pinobanksina; 4) Isoliquiritigenina; 5) Formononetina; 6) Biochanina A; e 7) Pinocebrina

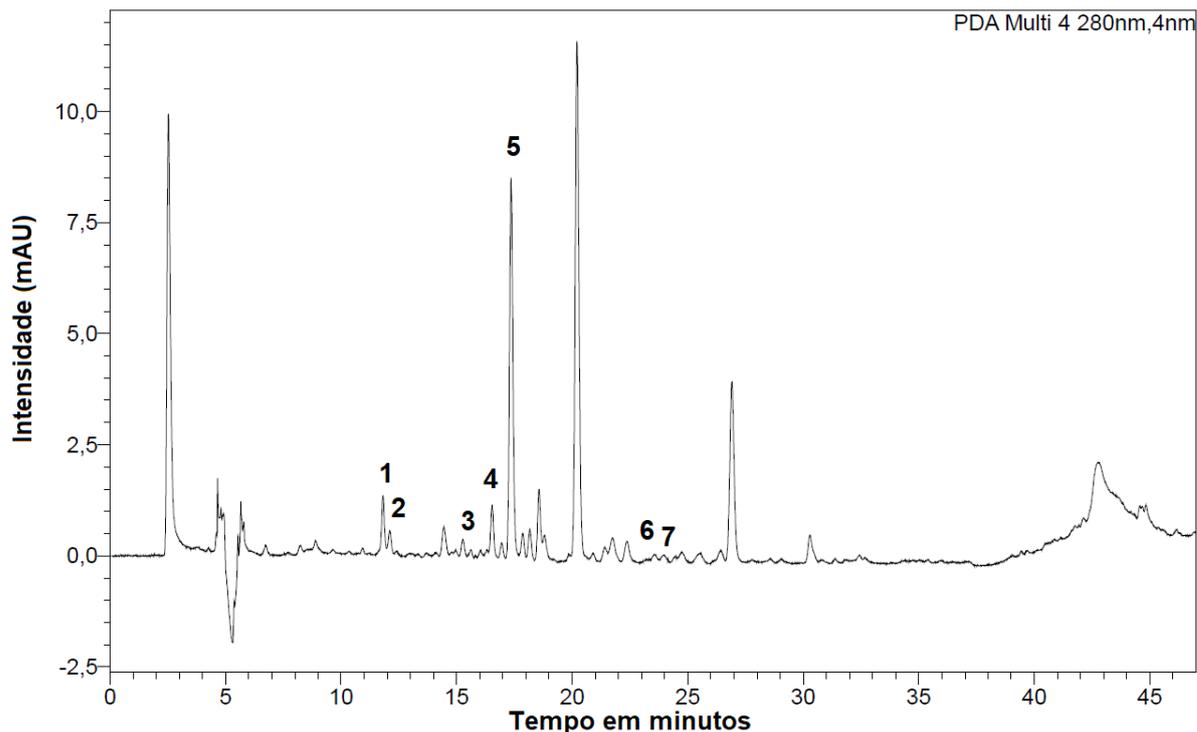


Figura 7. Cromatograma da cera da própolis vermelha no comprimento de onda de 280 nm. Identificação de 1) Liquiritigenina; 2) Daidzeina; 3) Pinobanksina; 4) Isoliquiritigenina; 5) Formononetina; 6) Biochanina A; e,7) Pinocembrina

Os picos identificados na cromatografia correspondem aos flavonoides presentes nas amostras de extrato e cera de própolis vermelha, incluindo Liquiritigenina (12,48 min), Daidzeina (12,72 min), Pinobanksina (16,04 min), Isoliquiritigenina (17,20 min), Formononetina (18,08 min), Biochanina A (22,55 min) e Pinocembrina (23,55 min), com tempos de retenção comparáveis aos padrões analíticos utilizados durante a otimização do método cromatográfico. Este método se mostrou eficaz na determinação da concentração desses compostos no extrato e cera de própolis vermelha, com variação entre 0,05 e 7,5 $\mu\text{g/mL}$.

Os resultados apontam que os metabólitos secundários de maior concentração nas amostras de extrato em comparação com a amostra de cera de própolis vermelha são: Liquiritigenina, Daidzeina, Pinobanksina, Isoliquiritigenina, Formononetina, Biochanina A e Pinocembrina, conforme ilustrado na Tabela 3. Esses compostos também foram descritos em estudos de Nascimento et al. (2016) e Oliveira et al. (2020) ao investigarem o extrato de própolis vermelha.

É esperado encontrar uma concentração menor dos metabólitos secundários na amostra de cera em comparação com o extrato, já que o extrato concentrado de própolis é rico em tais substâncias. Além disso, o processo de purificação da cera pode levar à perda ainda

maior desses metabólitos. É importante ressaltar que a presença desses compostos é o que induzem a resposta bioativa, isto é, a existência dessas moléculas em uma matriz porosa pode intensificar uma resposta antimicrobiana.

Tabela 3. Determinação de alguns flavonoides identificados no extrato e cera de própolis vermelha

Flavonóide	λ_{max}	Tempo de Retenção (min)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	
			Extrato	Cera
(1)Liquiritigenina	275	12.48	5.050	0.922
(2)Daidzeína	249	12.72	2.574	0.692
(3)Pinobanksina	289	16.04	0.955	0.091
(4)Isoliquiritigenina	366	17.20	5.317	1.658
(5)Formononetina	249	18.08	7.532	4.070
(6)Biochanina A	249	22.55	0.578	0.084*
(7)Pinocembrina	291	23.55	0.606	0.050*

λ_{max} . = Comprimento de onda máximo (nm); *média e desvio padrão de três determinações.

5.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR-ATR)

A técnica de análise FTIR-ATR foi empregada para investigar as interações químicas entre o PCL combinado com o extrato e o PCL combinado com a cera de própolis vermelha. Além disso, a análise FTIR-ATR permitiu identificar as vibrações dos grupos funcionais presentes nos materiais de partida. A Figura 8 apresenta os espectros FTIR-ATR das mantas e seus compostos de origem, revelando as principais vibrações presentes nestes compostos. Por sua vez, a Tabela 4 descreve as atribuições das vibrações observadas no espectro FTIR-ATR.

Ao analisar o espectro do PCL são observados duas absorções em 2944 cm^{-1} , atribuída ao estiramento assimétrico do grupo metileno-oxigênio ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_2\text{-O}$), já outra em 2862 cm^{-1} relacionada ao estiramento simétrico do grupo CH_2 (HERNÁNDEZ et al., 2013; JANARTHANAN et al., 2019). Uma intensa absorção é observada em aproximadamente 1724 cm^{-1} , tal vibração é pertencente ao estiramento da carbonila (C=O) (LYU; LEE; HAN, 2019). O sinal em $\sim 1365\text{ cm}^{-1}$ pode estar atrelado a deformação dos grupos metilenos (CH_2) (HERNÁNDEZ et al., 2013). A banda associada a fase cristalina do polímero é evidenciada à 1294 cm^{-1} , no qual se refere aos estiramentos do tipo νCO e νCC (ELZEIN et al., 2004; RESHMI et al., 2017). Outro estiramento assimétrico está posicionado em $\sim 1240\text{ cm}^{-1}$,

pertencente à ligação C-O-C (ELZEIN et al., 2004), referente ao grupamento éster desse polímero. Já, as bandas situadas em aproximadamente 1187 e 1166 cm^{-1} são estiramentos simétricos referentes à fase amorfa do polímero (COLEMAN; ZARIAN; SECTION, 1979; RESHMI et al., 2017). As outras duas bandas pontuadas em 1045 e 959 cm^{-1} estão associadas à deformação angular da ligação do tipo CH_2 (HERNÁNDEZ et al., 2013).

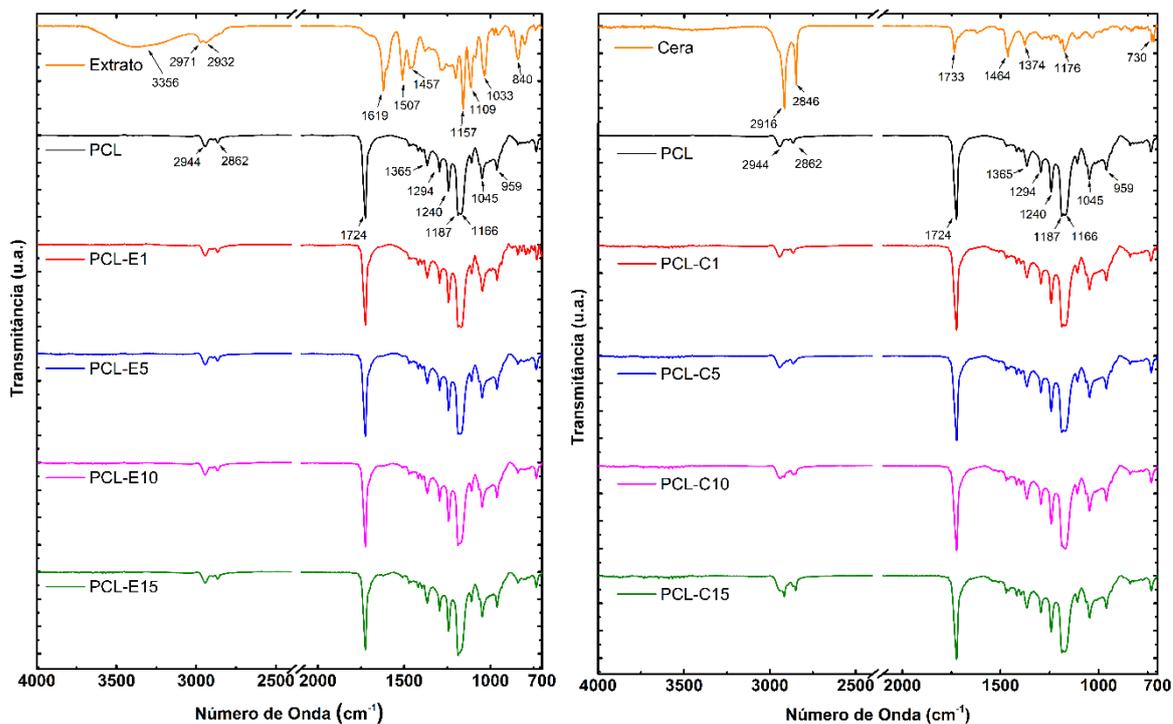


Figura 8. Espectros FTIR das mantas contendo PCL/Extrato (a) e PCL/Cera (b) de própolis vermelha

O espectro do extrato da própolis vermelha exibe uma forte absorção no intervalo de 3600-3000 cm^{-1} , cujo a absorção máxima é em aproximadamente 3356 cm^{-1} , tal vibração está relacionada ao estiramento OH dos grupos fenólicos presentes no extrato (DO NASCIMENTO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2019). Outras duas bandas de baixa intensidade foram percebidas em 2971 e 2932 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente (GOMES et al., 2021; NASCIMENTO et al., 2019). Tais vibrações podem ser associadas à fragmentos de cera ou terpenos existentes no extrato. Os sinais percebidos em 1619, 1507 e 1457 cm^{-1} condizem com os estiramentos do tipo CC relativo ao anel aromático dos flavonoides (DO NASCIMENTO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2019), como foi verificado na medida de UPLC. Sabe-se que compostos fenólico se flavonoides podem originar estiramentos e deformações angulares em uma estreita faixa (1300-1000 cm^{-1}) de absorção (SILVA et al., 2018a), tal qual verificado nas

vibrações 1157 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$) e 1109 cm^{-1} ($\delta\text{C-OH}$). A banda em 1033 cm^{-1} condiz ao estiramento C-O pertencente ao grupo éter do anel aromático, bem como a vibração apontada em 840 cm^{-1} está associada à deformação angular fora do plano (γCH) (DO NASCIMENTO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2019).

No espectro de FTIR-ATR da cera de própolis vermelha, todos os sinais estão relacionados as cadeias alifáticas presentes na estrutura da cera, onde esse produto é geralmente composto por diferentes tipos de ésteres, hidrocarbonetos e ácidos graxos (BAGLIONI et al., 2018; SVEČNJAK et al., 2015). Fortes vibrações são percebidas em 2916 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$) e 2846 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$) pertencentes às absorções dos hidrocarbonetos (SVEČNJAK et al., 2015).

Tabela 4. Atribuições das vibrações dos compostos de partida

	Número de onda (cm^{-1})	Vibrações	Referências
PCL	2944	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$	(HERNÁNDEZ et al., 2013; JANARTHANAN et al., 2019)
	2862	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$	(HERNÁNDEZ et al., 2013; JANARTHANAN et al., 2019)
	1724	$\nu\text{C=O}$	(LYU; LEE; HAN, 2019)
	1365	δCH_2	(HERNÁNDEZ et al., 2013)
	1294	νCO e νCC	(ELZEIN et al., 2004; RESHMI et al., 2017)
	1240	$\nu_{\text{as}}\text{COC}$	(ELZEIN et al., 2004)
	1187	$\nu_{\text{s}}\text{COC}$	(COLEMAN; ZARIAN; SECTION, 1979; RESHMI et al., 2017)
	1166	$\nu_{\text{s}}(\text{C-O})$ e $\nu_{\text{s}}\text{CC}$	
	1045	δCH_2	(HERNÁNDEZ et al., 2013)
959			
ExtratoPrópolis	3356	νOH	(DO NASCIMENTO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2019)
	2971	νCH_2 e νCH_3	(GOMES et al., 2021; NASCIMENTO et al., 2019)
	2932		
	1619	$\nu(\text{C=C})$	(DO NASCIMENTO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2019)
	1507		
	1457		
	1157	$\nu\text{C-O}$	(SILVA et al., 2018a)
	1109	$\delta\text{C-OH}$	
	1033	$\nu\text{C-O}$	(DO NASCIMENTO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2019)
840	γCH		
Cer	2916	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$	(SVEČNJAK et al., 2015)
	2846	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$	

1733	$\nu\text{C=O}$	(RESHMI et al., 2017; SVEČNJAK et al., 2015)
1464	$\delta_{\text{as}}\text{CH}_2$	
1374	$\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$	(RESHMI et al., 2017)
1176	$\nu\text{C=O}$ e δCH	(BAGLIONI et al., 2018; SVEČNJAK et al., 2015)
730	ρCH_2	(RESHMI et al., 2017; SVEČNJAK et al., 2015)

Nomenclatura: ν = estiramento; δ = deformação angular no plano ou *scissoring*; γ – deformação angular fora do plano; ρ – *rocking*

A impressão digital (*fingerprint*) da cera de abelha são comumente verificadas na faixa entre aproximadamente 1800 à 800 cm^{-1} , no qual se encontram as absorções lipídicas. Em 1733 cm^{-1} é condizente com o estiramento C=O de éster colesterol, bem como as vibrações em 1464 cm^{-1} ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_2$), 1374 cm^{-1} ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$) e 1176 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$ e δCH) podem ser atribuídas estiramentos e deformações existentes nos grupos carboxílicos de ácidos graxos e ésteres (BAGLIONI et al., 2018; RESHMI et al., 2017; SVEČNJAK et al., 2015). Já o sinal observado em uma região de mais baixa absorção em 730 cm^{-1} é atrelada a vibração do tipo *rocking* pertencente aos hidrocarbonetos (RESHMI et al., 2017; SVEČNJAK et al., 2015). O não aparecimento de bandas relacionadas aos compostos fenólicos, como verificado na análise de UPLC pode estar associada à baixa concentração dessas moléculas na composição da cera.

Os espectros de FTIR-ATR para o PCL incorporado com extrato e cera de própolis vermelha mostram as mesmas intensidades e trechos característicos do PCL, no qual em todas as composições das mantas não é evidenciado vibrações correlacionadas ao extrato e cera de própolis. Tais indícios podem ser interpretadas devido à baixa concentração do extrato e cera de própolis, bem como a possibilidade de ocorrer a sobreposição de bandas, sugerindo uma boa homogeneidade das mantas. Outro ponto não detectado foi o aparecimento de novas bandas o que sugere a inexistência da formação de novas ligações químicas, no qual a interação física é predominante entre os componentes que compõem as mantas (TRAN; HOCKING; O’CONNOR, 2015). Um estudo realizado por Azevedo et al. (2018) demonstrou o mesmo comportamento verificado nesta pesquisa, porém encapsulando o extrato da própolis vermelha em formato semelhante a uma esfera.

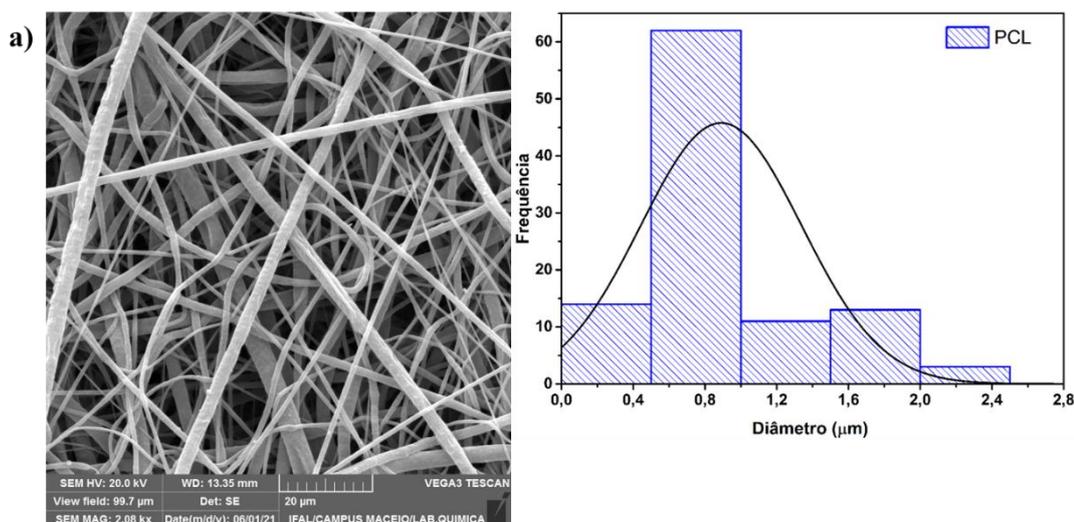
5.3 Análise Morfológica

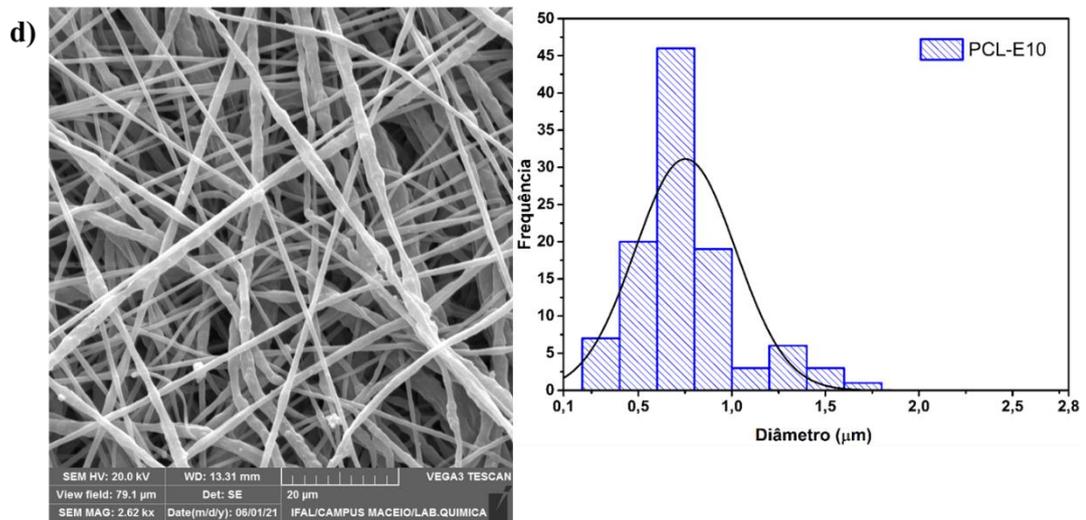
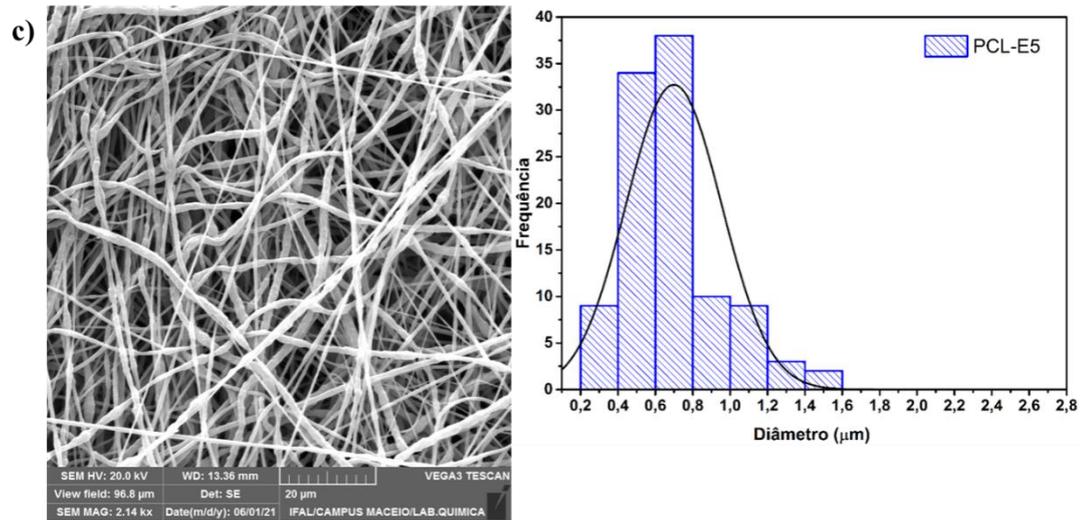
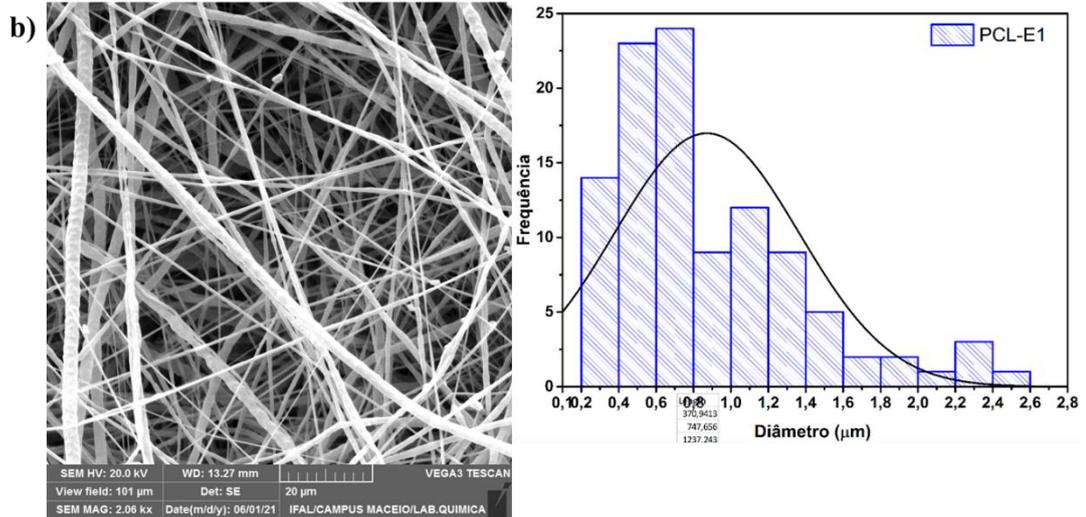
5.3.1 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

As morfologias das mantas eletrofiadas podem ser visualizadas nas Figuras Figura 9 e Figura 10, incluindo seus histogramas correspondentes, permitindo uma avaliação dos possíveis desvios e a distribuição das fibras. A média dos diâmetros das mantas podem ser encontradas na Tabela 5.

A Figura 9a mostra a morfologia e a distribuição de tamanho das fibras de PCL. É possível observar que as fibras estão entrelaçadas sem qualquer padrão de alinhamento, como indicado pelo histograma, cujo diâmetro médio é aproximadamente $0,89 \pm 0,44 \mu\text{m}$. Não há presença de defeitos do tipo gota na estrutura das mantas, porém algumas imperfeições rugosas são perceptíveis. Essas irregularidades podem estar relacionadas à interação entre o polímero e o solvente, afetando a qualidade da fibra, já que a tensão superficial e a velocidade de evaporação do solvente influenciam diretamente em formação (GONÇALVES et al., 2015).

O uso de diferentes solventes pode afetar significativamente a espessura e a qualidade das fibras, pois quando o solvente não evapora antes da deposição das fibras, os jatos podem se aglutinar formando mantas com aparências diferentes. Essas variações resultam em diferentes morfologias de superfície (GONÇALVES et al., 2015), como comprovado por estudos realizados por Qin e Wu (2012), Lowery et al. (2010) e verificado nesta pesquisa ao se utilizar uma mistura de clorofórmio/metanol.





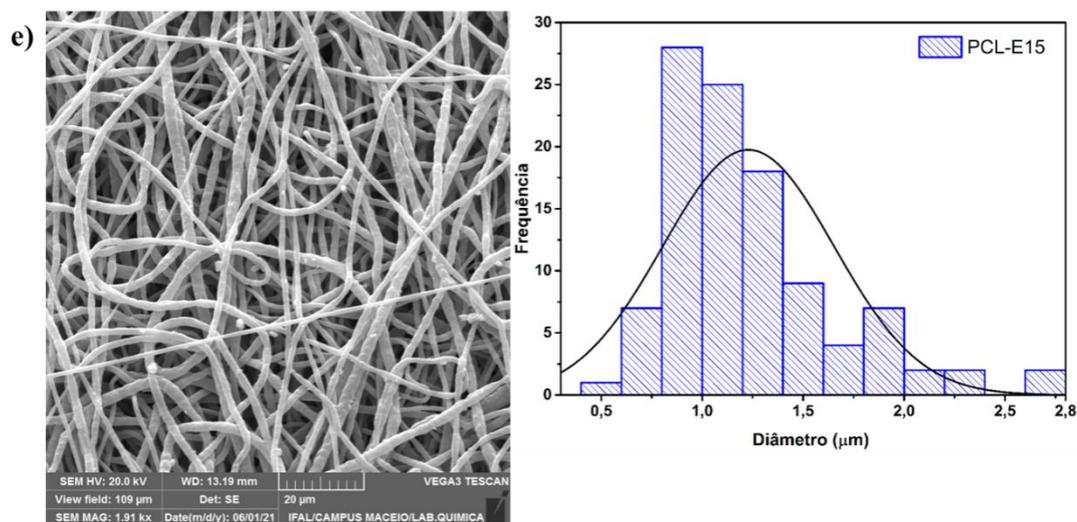


Figura 9. Micrografias MEV das mantas PCL (a), PCL-E1 (b), PCL-E5 (c), PCL-E10 (d) e PCL-E15 (e) e seus respectivos histogramas de distribuição de tamanhos

As Figura 9b-e apresentam as morfologias e distribuições de tamanhos para mantas que contêm uma mistura de extrato de própolis vermelha e PCL. Observe-se que a morfologia das amostras é semelhante à da amostra contendo apenas PCL (Figura 9a), onde as fibras estão distribuídas de forma aleatória e sem apresentar defeitos do tipo gota. A rugosidade das fibras aumenta quando a concentração do extrato de própolis é adicionada à estrutura do polímero. Esse aumento pode ser devido a um menor estiramento sofrida pelas fibras que contêm o extrato de própolis ou por outras alterações ocorridas na solução ou durante o processamento.

Pode-se identificar três possíveis maneiras pelas quais a adição de extrato de própolis à solução pode afetar a sua composição: (1) mudanças na condutividade e viscosidade da solução; (2) impactos na taxa de evaporação; e (3) variações na velocidade de cristalização do polímero. Quanto à manta PCL-E15 (Figura 9e), observa-se que as fibras apresentam diâmetros mais largos (cerca de $1,20 \pm 0,42 \mu\text{m}$), o que pode ser atribuído a uma maior quantidade de extrato de própolis adicionada ao polímero. Esta constatação está de acordo com estudos anteriores realizados por Suryamathi et al. (2019) e Ferreira et al. (2022), que também concluíram que a adição de extrato de própolis pode modificar parâmetros de processamento e da solução, como descrito acima.

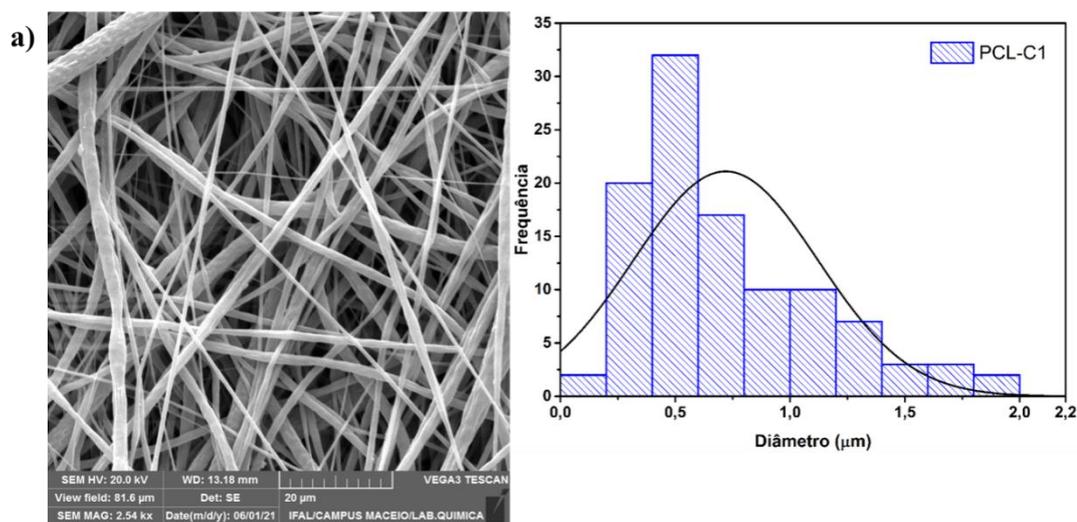
Ao avaliar os diâmetros das fibras que contêm extrato de própolis e levando em consideração o erro de análise, verifica-se que todos os valores se encontram dentro do mesmo intervalo de tamanho. Isso sugere que a adição de extrato de própolis não tem impacto significativo na morfologia das fibras eletrofiadas (FERREIRA et al., 2022). Este resultado

difere dos estudos de Salles et al.(2020) e Ravichandran et al.(2019a), que utilizaram extratos das folhas de *Arrabidaea chica* e *Clerodendrum phlomidis*, respectivamente, e observaram uma redução de cerca de 50% nos diâmetros das fibras com a adição dos extratos.

A morfologia e distribuição de tamanho das fibras contendo cera de própolis vermelha são apresentadas nas Figura 10a-d. As amostras apresentam fibras individuais, assimétricas e organizadas aleatoriamente, sem quaisquer defeitos tipo gota. A superfície das fibras exibe uma estrutura parcialmente rugosa, como discutido anteriormente, possivelmente devido ao menor estiramento das fibras causado pela presença da cera.

De acordo com os histogramas (Figura 10a-d), é possível verificar a variação no diâmetro médio das fibras em função da concentração da cera de própolis. É evidente uma tendência de redução no diâmetro médio das fibras com o aumento da concentração da cera, tendo uma variação de diâmetro médio entre 0,72 a 0,82 μm . Esta variação pode ser explicada pois ceras são mais viscoelásticas, podendo assim sofrer mais movimentos durante a distância de trabalho e assim se solidificar com uma espessura maior.

Como demonstrado na literatura a diminuição do diâmetro médio das fibras também pode ser atribuída à variação da viscosidade da solução, que tende a diminuir com o aumento da concentração de cera (RESHMI et al., 2017). Isso ocorre porque a cera tem um peso molecular menor que o PCL, e, em soluções com viscosidade reduzida, as cadeias poliméricas são suficientemente isoladas e não se sobrepõem, resultando em fibras de diâmetro reduzido. Além disso, as fibras contendo cera apresentam pouca variação em seus diâmetros, com margem de erro relativamente baixa, o que indica que as amostras tendem a apresentar fibras com tamanhos semelhantes.



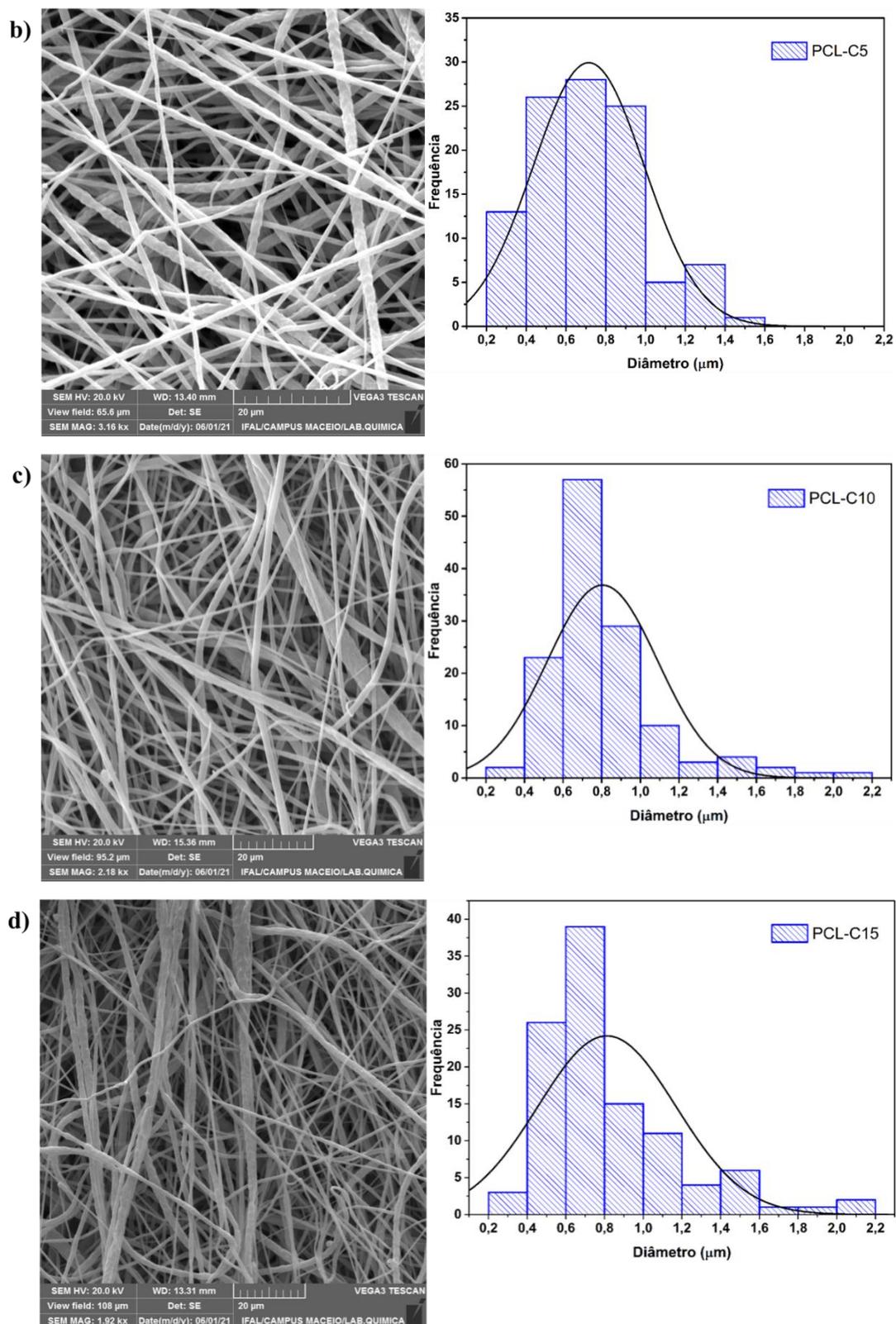


Figura 10. Micrografias MEV das mantas PCL-C1 (a), PCL-C5 (b), PCL-C10 (c) e PCL-C15 (d) e seus respectivos histogramas de distribuição de tamanhos

Tabela 5. Diâmetro médio das mantas

Amostra	Diâmetro médio (μm)
PCL	$0,89 \pm 0,44$
PCL-E1	$0,84 \pm 0,45$
PCL-E5	$0,69 \pm 0,25$
PCL-E10	$0,76 \pm 0,48$
PCL-E15	$1,20 \pm 0,42$
PCL-C1	$0,72 \pm 0,40$
PCL-C5	$0,71 \pm 0,28$
PCL-C10	$0,80 \pm 0,25$
PCL-C15	$0,82 \pm 0,35$

5.3.2 Porosidade

A porosidade é um fator crucial para se obter uma adesão eficiente de células em aplicações biomédicas. O método proposto por Abdullah e Khairurrijal (2009) permitiu estimar a porcentagem de porosidade das mantas através da análise de suas micrografias. As imagens de contorno (Figuras Figura 11-Figura 13) mostram a morfologia das micrografias observadas no MEV, onde as variações de cor indicam a profundidade da amostra em relação ao substrato. Valores mais próximos ao vermelho indicam que a superfície da amostra está mais elevada em relação ao substrato, enquanto valores próximos ao azul indicam o contrário (ABDULLAH; SCIENCES, 2009). Com base nessas informações, foi possível calcular os valores de porosidade (Figura 14).

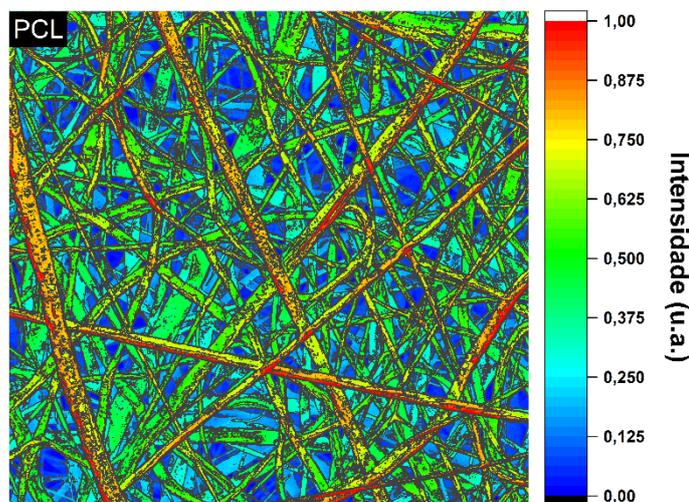


Figura 11. Porosidade estimada por meio da morfologia da manta de PCL

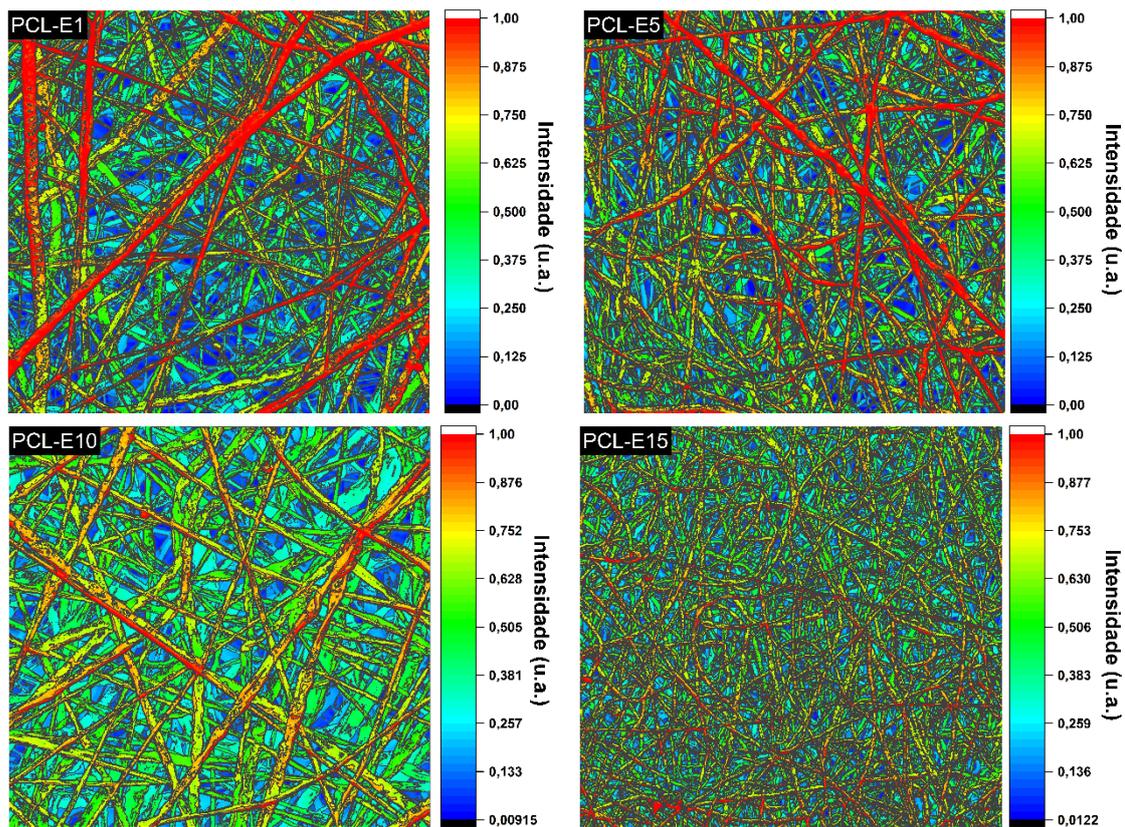


Figura 12. Porosidade estimada por meio da morfologia das mantas (PCL/Extrato de própolis)

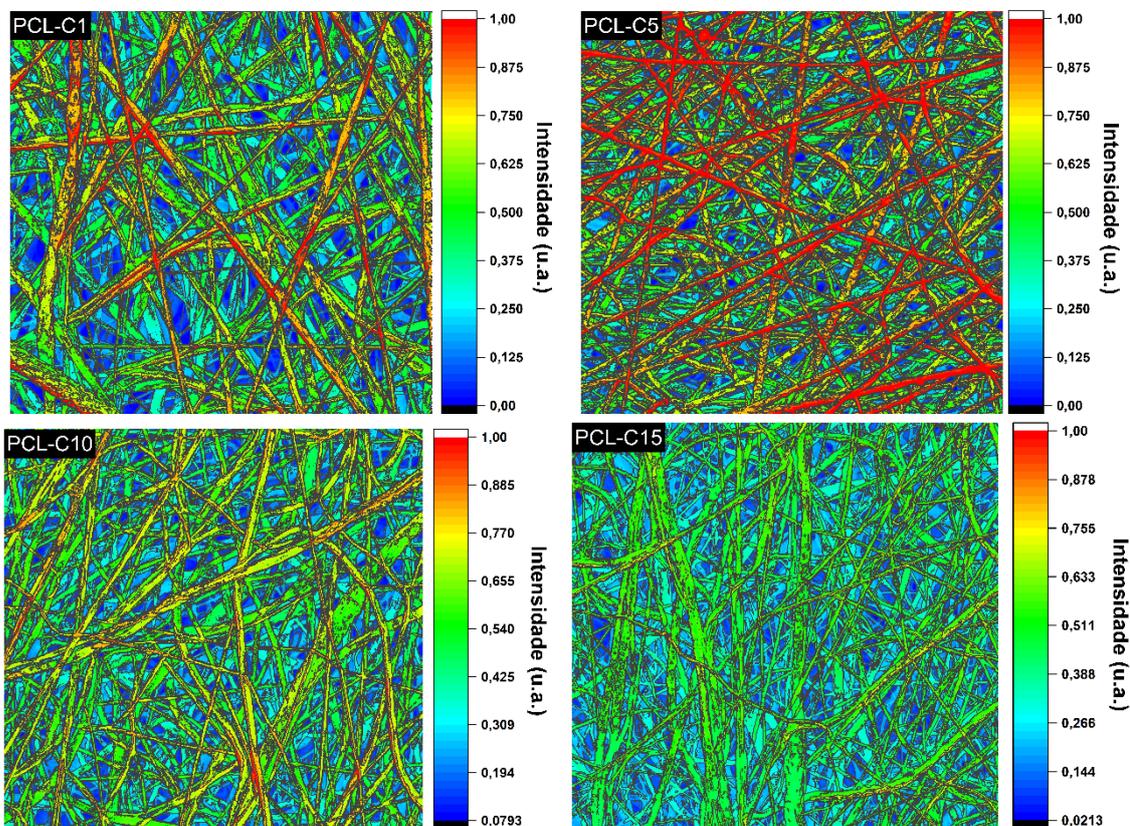


Figura 13. Porosidade estimada por meio da morfologia das mantas (PCL/Cera de própolis)

Os resultados apontam que as mantas eletrofiadas de PCL apresentam uma porosidade relativa de $52,6\% \pm 2,3$, coerente com os dados encontrados na literatura (SURYAMATHI et al., 2019). Observou-se que a adição de extrato ou cera de própolis resulta em uma redução na porcentagem de porosidade quando a concentração é de 5%, com valores são de aproximadamente 44% de porosidade.

No entanto, concentrações maiores do que 5% de extrato e cera de própolis levam a um aumento na porosidade, alcançando valores aproximados a 52%. Este efeito pode ser atribuído à repulsão eletrostática das fibras durante seu processamento, bem como à presença de substâncias na superfície das fibras ou à pequena variação no diâmetro das fibras. Adicionalmente, a análise estatística dos resultados permite concluir que todas as mantas apresentam valores de porosidade similares.

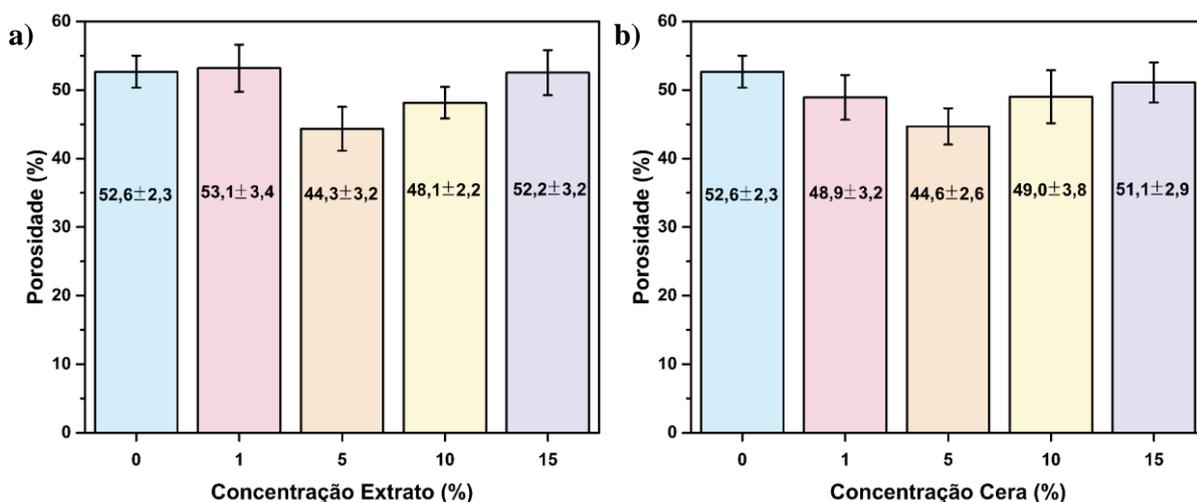


Figura 14. Porosidade das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha

5.4 Análises Térmicas

As curvas DSC (Figura 15) e TG/DTG (Figura 16) fornecem informações sobre o comportamento térmico das mantas eletrofiadas. A Tabela 6 apresenta os dados resumidos dos resultados obtidos pelo ensaio DSC, que indicam o comportamento térmico das mantas.

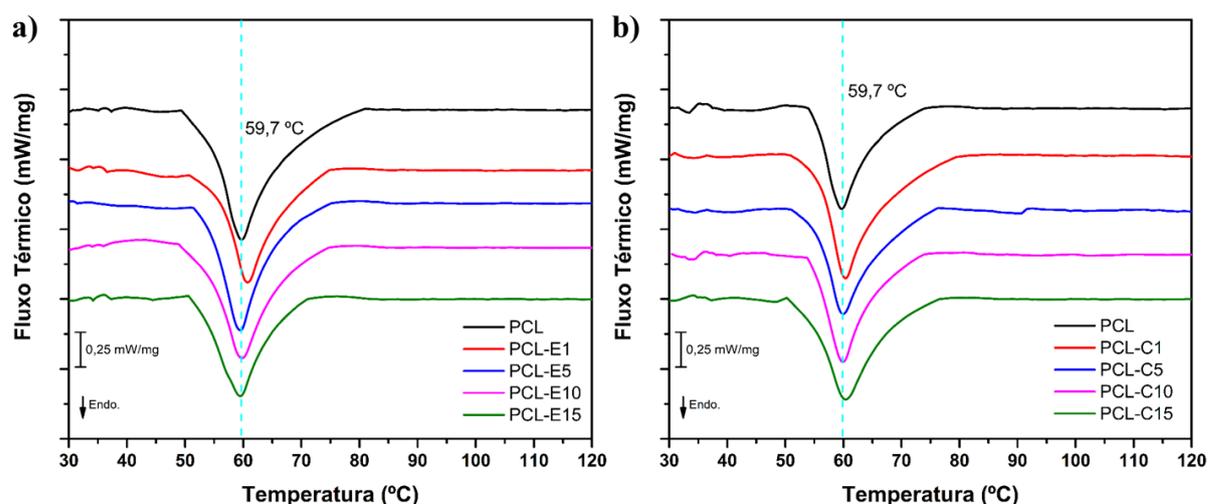


Figura 15. Curvas DSC das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha

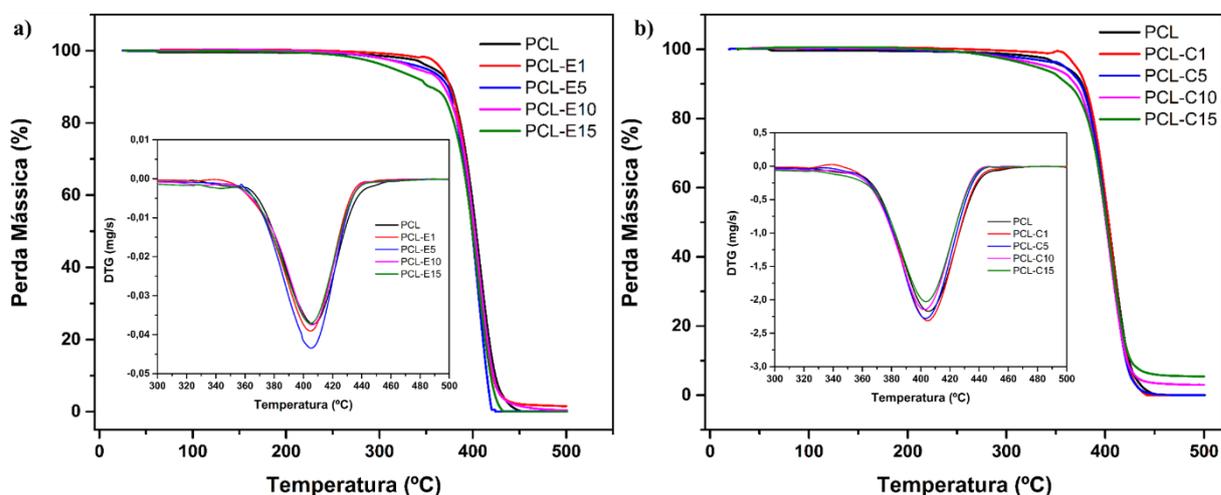


Figura 16. Curvas TG e DTG (interior dos gráficos de TG) das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha

A análise da curva DSC do polímero revelou apenas um pico endotérmico, correspondente ao ponto de fusão. A adição dos compostos de própolis não afetou a temperatura de fusão, que variou entre 59,4 e 60,7 °C, indicando que não houve alterações no tamanho dos cristais do polímero.

No entanto, foi observada uma redução na cristalinidade do polímero à medida que se adicionou os compostos de própolis vermelha. A maior diminuição foi de aproximadamente 7%. Isso sugere que o extrato e a cera de própolis atuam como inibidores de cristalização, impedindo que as cadeias moleculares do PCL se reorganizem e cristalizem. Além disso, a rápida evaporação do solvente e a organização das fibras também podem ter contribuído para a redução na cristalinidade (WANG et al., 2013).

A análise térmica por meio de curvas de TG revelou que o início da degradação térmica das mantas contendo PCL, PCL-E e PCL-C ocorreu em torno de 300 °C. A perda percentual de massa na marca de 50% foi registrada aproximadamente a 400 °C. Este comportamento sugere que as mantas de PCL/Extrato e PCL/Cera podem ser misturas homogêneas. Esta observação coincide com o estudo de Ravichandran et al. (2019b), que incorporou extrato de *Clerodendrum phlomidis* às fibras de PCL e obteve fibras homogêneas sem modificações drásticas.

Além disso, foi identificada a formação de resíduos nas amostras PCL-C10 e PCL-C15 devido à maior presença de cera nessas amostras. Uma pequena mudança foi notada nas amostras que contêm 1% de extrato e cera de própolis vermelha no início da degradação, devido a essas substâncias agirem como impurezas na composição da manta, não tendo uniformidade após sua produção. Essas características também podem ser verificadas em outros testes como DRX, MEV e propriedades mecânicas.

Tabela 6. Perfil térmico e estrutural das mantas obtidas por DSC

Amostra	Temperatura de fusão (°C)	Entalpia de fusão (J/g)	Grau de cristalinidade (%)
PCL	59,7	64,4	47,7
PCL-E1	60,7	64,4	47,0
PCL-E5	59,4	65,1	45,9
PCL-E10	59,6	64,6	42,8
PCL-E15	59,5	63,8	40,2
PCL-C1	60,3	65,1	47,6
PCL-C5	59,9	63,3	44,4
PCL-C10	59,8	64,5	42,8
PCL-C15	59,9	63,8	40,1

5.5 Difração de Raios X (DRX)

A técnica de análise de DRX foi usada para verificar a estrutura das mantas eletrofiadas. As Figuras Figura 17 e Figura 18 mostram o resultado da difração de raios X para as mantas que contêm extrato e cera de própolis vermelha. A imagem ampliada entre 20 a 26 °(2θ) permite verificar os picos mais importantes relacionados ao polímero. A Figura 19 mostra a porcentagem cristalina das mantas, calculada a partir dos resultados da análise de DRX.

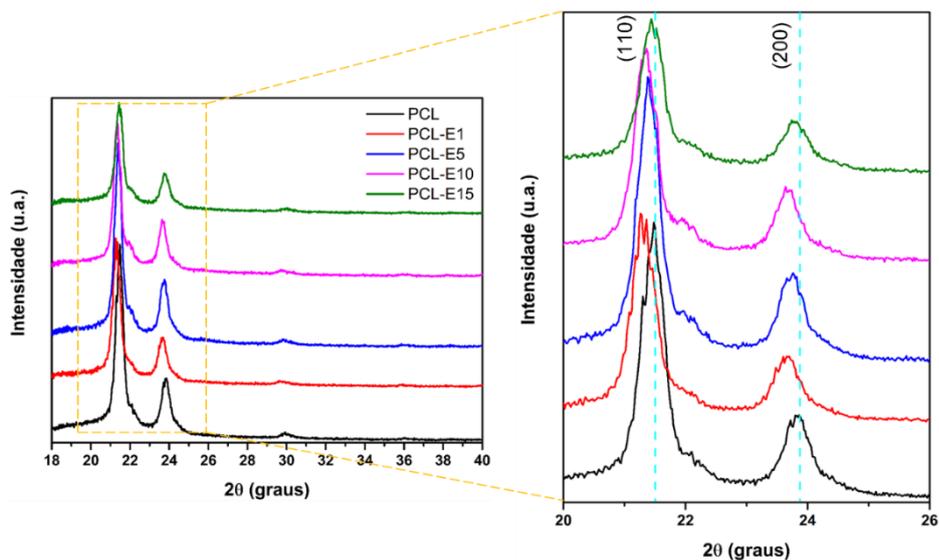


Figura 17. Padrão de Difração de Raios X das mantas contendo extrato de própolis e sua faixa maximizada no intervalo de 20-26 °(2θ)

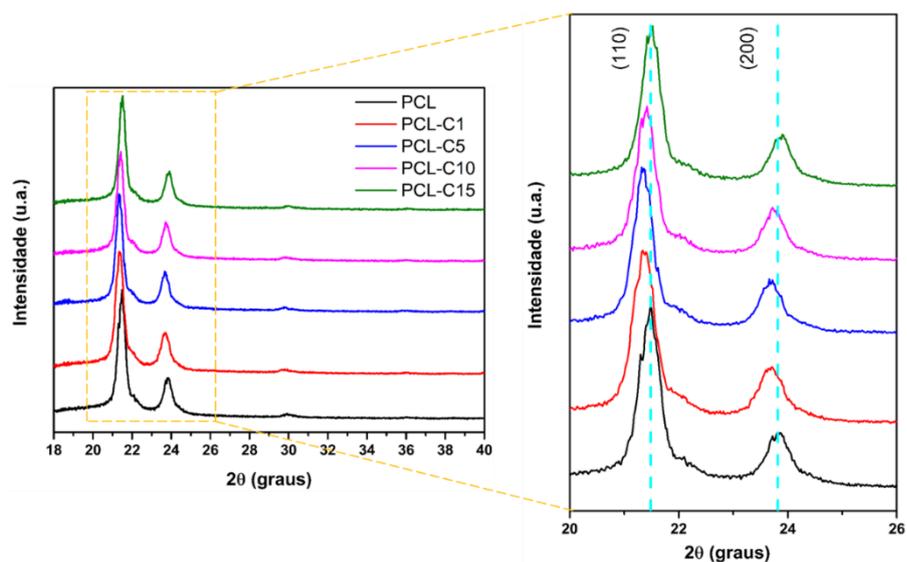


Figura 18. Padrão de Difração de Raios X das mantas contendo cera de própolis e sua faixa maximizada no intervalo de 20-26 °(2θ)

A análise de difração de raios X (DRX) revelou a presença de dois picos estreitos no perfil do PCL puro, situados em torno de 21,5 e 23,8 ° (2θ), que se referem aos planos (110) e (200), respectivamente. Esses resultados confirmam a natureza semicristalina desse polímero, que geralmente cristaliza no sistema ortorrômbico, tendo um grupo espacial ($P2_12_12_1-D_2^4$) que suporta duas cadeias poliméricas por célula unitária (CHATANI et al., 1970). Ao adicionar extrato ou cera de própolis vermelha na estrutura do PCL, foi observado um pequeno deslocamento dos picos (110) e (200) para ângulos mais baixos, sugerindo uma leve expansão

do espaçamento interplanar na célula unitária. Essas modificações podem ser causadas por interações originadas de ligações químicas secundárias, fazendo com que a estrutura do polímero se ajuste a essas influências. Além disso, não foi constatada a surgimento de novos picos, indicando que o sistema cristalino permanece inalterado (FLORES-CEDILLO et al., 2016; RAVICHANDRAN et al., 2019a).

De acordo com a porcentagem de cristalinidade (Figura 19), as mantas eletrofiadas apresentam uma diminuição conforme a quantidade de extrato ou cera de própolis é adicionada na composição de PCL. Esta redução na porcentagem de cristalinidade corrobora com os resultados obtidos nas análises térmicas, que também mostraram uma queda na cristalinidade com o aumento dos compostos de própolis. Tal como mencionado anteriormente, as substâncias da própolis podem influenciar na diminuição da nucleação da fase cristalina do PCL (KARLA et al., 2018).

Em geral, as mantas eletrofiadas tendem a apresentar uma cristalinidade menor em comparação aos filmes fundidos (RAMDHANIE et al., 2006). Essa cristalinidade pode ser afetada por diversos fatores, incluindo a taxa de evaporação dos solventes utilizados. A cristalinidade dos polímeros pode ter implicações significativas em várias propriedades, tais como propriedades mecânicas (PERUMAL et al., 2017), liberação de fármacos incorporados na matriz polimérica (LU; LIN, 2002) e adesão e proliferação celular quando utilizados na engenharia de tecidos (PERUMAL et al., 2017).

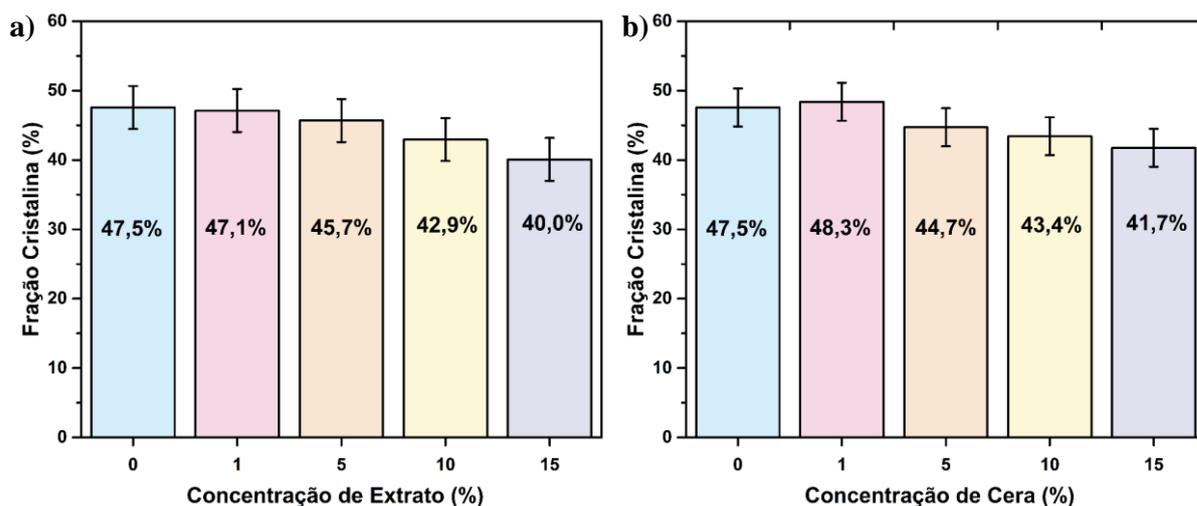


Figura 19. Fração cristalina das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha

5.6 Molhabilidade

5.6.1 Grau de Intumescimento

A análise do grau de intumescimento (GI) foi realizada para avaliar a capacidade de absorção de água por cada manta eletrofiada. A Figura 20 apresenta o grau de intumescimento de cada amostra ao longo do tempo de imersão em água destilada.

Analisando o gráfico (Figura 20), é evidente que as mantas eletrofiadas que contêm cera e as amostras PCL-E1 e PCL apresentam um GI menor, isto é, valores inferiores a 35%. Isso é devido à natureza hidrofóbica da cera e do PCL, que não favorecem uma elevada absorção de água por períodos prolongados. Ainda, a amostra PCL-E1 apresenta comportamento diferente das demais de seu grupo, devido à baixa concentração de extrato de própolis em sua composição, não mantendo o padrão observado nas mantas com elevadas concentrações de extrato.

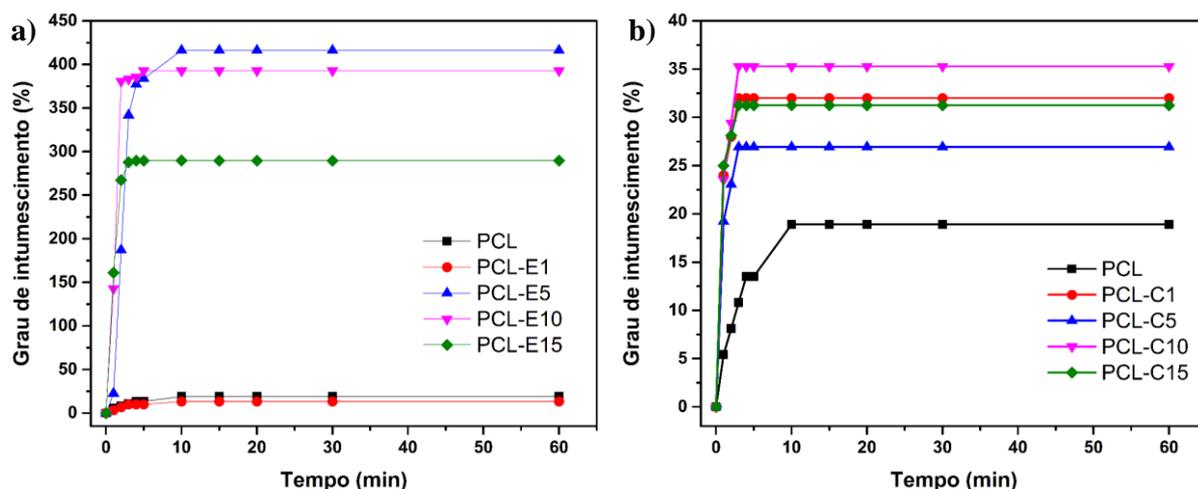


Figura 20. Grau de intumescimento para as mantas de PCL-Extrato (a) e PCL-Cera (b) em função do tempo de imersão em água

Contrariamente às amostras de cera, as amostras contendo extrato de própolis com concentração igual ou superior a 5% apresentam valores interessantes de capacidade de absorção de água. A amostra PCL-E10 e PCL-E15 alcançam a saturação em aproximadamente 5 minutos, com GI de $392 \pm 6\%$ e $289 \pm 13\%$, respectivamente. A amostra PCL-E5 foi a que apresentou o maior grau de intumescimento, com $416 \pm 7\%$ e estabilidade de absorção de água em cerca de 10 minutos. O motivo principal para essas amostras apresentarem elevados GI está relacionado à presença de grupos hidrofílicos, como

Liquiritigenina, Isoliquiritigenina e Formononetina, presentes de forma majoritária no extrato de própolis, o que facilita as interações polares com a água.

Além disso, a amostra contendo 5% de extrato de própolis foi a que apresentou o menor diâmetro de fibras em comparação com as amostras de 10 e 15%. Isso significa que, ao reduzir o diâmetro das fibras, a superfície de contato aumenta, e com ela, a quantidade de grupamentos polares na superfície da manta eletrofiada. Dessa maneira, um maior número de grupos polares favorece uma interação mais intensa com a água, resultando em um maior grau de intumescimento.

Além disso, o elevado teor de extrato de própolis nas amostras PCL-E10 e PCL-E15 resulta em uma saturação mais rápida da absorção de água, o que provoca o intumescimento das fibras de forma acelerada. Esse comportamento está também ligado à porosidade dessas amostras.

5.6.2 Ângulo de Contato

A técnica da gota séssil, que mede o ângulo de contato, foi aplicada para avaliar a molhabilidade das mantas eletrofiadas. O comportamento do ângulo de contato com o tempo pode ser visualizado na Figura 21. Já na Tabela 7, observamos o ângulo de contato das amostras após 120 segundos, juntamente com suas respectivas imagens neste período.

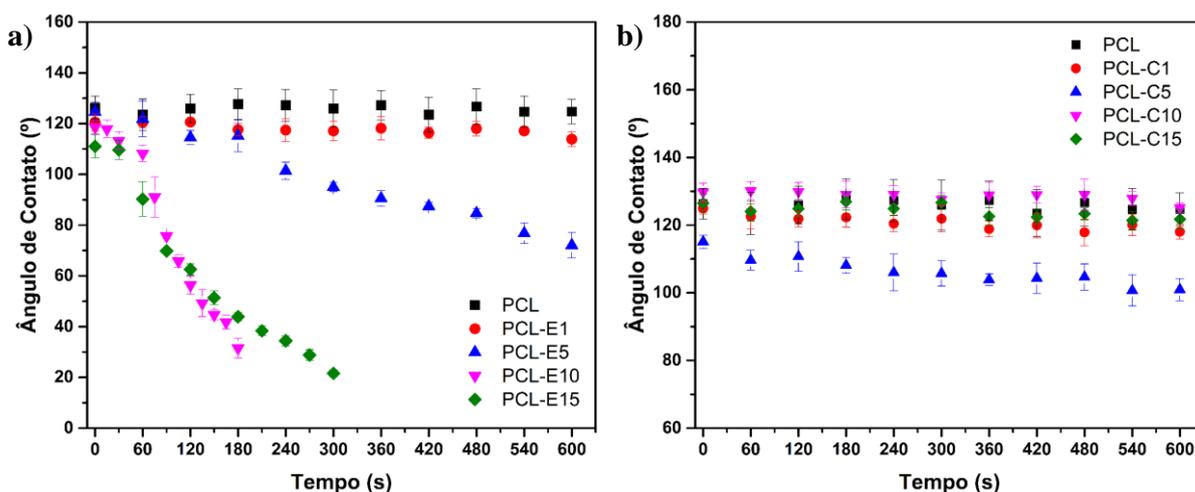


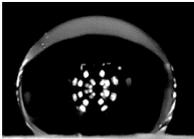
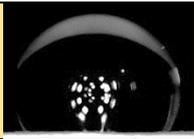
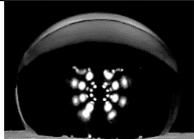
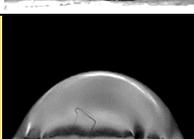
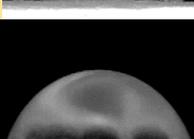
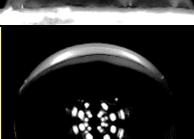
Figura 21. Ângulo de contato em função do tempo das mantas PCL-Extrato (a) e PCL-Cera (b)

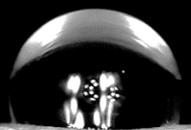
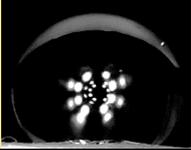
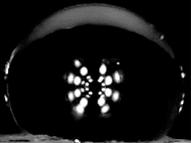
O ângulo de contato da manta formada por PCL foi de $126,2 \pm 4,5^\circ$ no início da análise, mantendo-se dentro do intervalo de $127-124^\circ$ durante todo o período, indicando sua natureza hidrofóbica. Da mesma forma, a amostra PCL-E1 e aquelas que continham cera

apresentaram ângulos de contato entre 100-130°, o que está relacionado às propriedades hidrofóbicas da cera e à baixa concentração de extrato na amostra PCL-E1. Essas características indicam que essas fibras são predominantemente não-molhantes, como reportado por Yuan e Lee (2013), já que possuem ângulo de contato acima de 90°.

Por outro lado, as amostras com concentrações de extrato superiores a 5% são classificadas como predominantemente molháveis, pois possuem ângulos de contato abaixo de 90°, como observado após 75 segundos (Figura 21), onde os ângulos variam de 90 a 21° durante todo o período de análise. Vale destacar que, após esse período, a gota foi completamente absorvida pelas fibras. Em comparação com o PCL, o ângulo foi drasticamente reduzido devido à presença de extrato de própolis nas mantas, o que demonstra claramente que a elevada concentração dos componentes ativos presentes no extrato de própolis aumenta a molhabilidade das amostras, como confirmado pela análise de intumescimento (RAVICHANDRAN et al., 2019b). Esse comportamento semelhante também foi observado no estudo de Salles et al. (2020).

Tabela 7. Ângulo de contato das mantas eletrofiadas no intervalo de tempo igual a 120 s

Amostra	Ângulo de Contato (°)	Imagem
PCL	125,9 ± 5,5	
PCL-E1	120,6 ± 1,4	
PCL-E5	114,5 ± 2,8	
PCL-E10	56,3 ± 3,5	
PCL-E15	62,5 ± 2,1	
PCL-C1	121,8 ± 2,3	

PCL-C5	$110,7 \pm 4,3$	
PCL-C10	$129,8 \pm 2,7$	
PCL-C15	$124,9 \pm 2,6$	

Além disso, é importante destacar que a amostra PCL-E5 apresentou uma redução progressiva no ângulo de contato, chegando a valores inferiores a 90° em aproximadamente 360 segundos. Isso indica que a amostra se tornou predominantemente molhável. A lentidão na diminuição do ângulo pode ser explicada pela presença de porosidade e pela geometria e área superficial do material, conforme discutido anteriormente (HUANG et al., 2010).

5.7 Propriedades Mecânicas

Os ensaios de tração uniaxial foram realizados para determinar as propriedades mecânicas das mantas, as quais são fundamentais para fornecer suporte mecânico adequado durante a proliferação celular e regeneração de tecidos (JOSHI et al., 2015). As curvas de tensão versus deformação das mantas podem ser visualizadas na Figura 22. Além disso, os dados relativos à resistência à tração, alongação na ruptura e módulo de elasticidade podem ser encontrados na Tabela 8, os quais foram calculados a partir das curvas obtidas nos ensaios de tração.

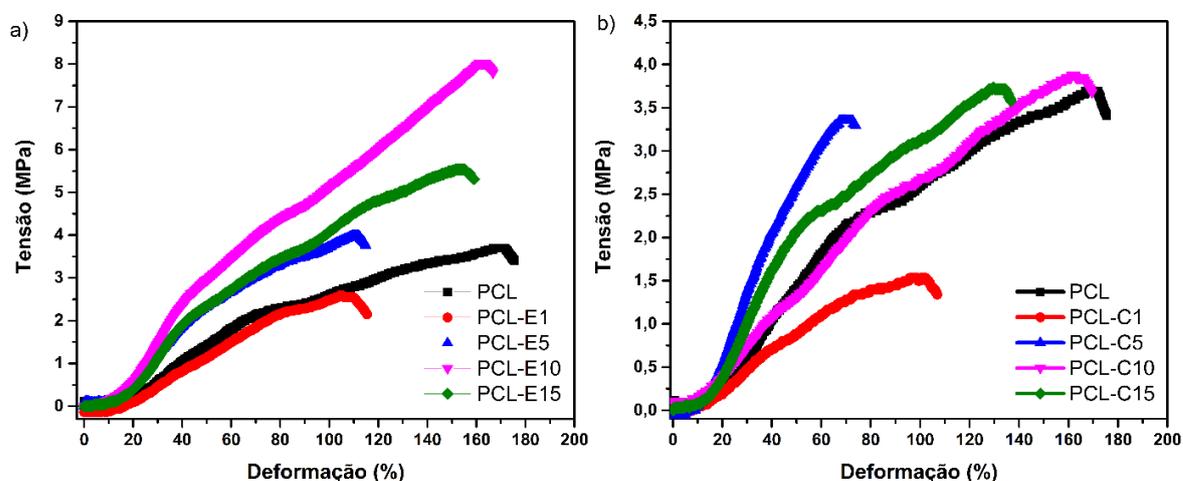


Figura 22. Curvas representativas do comportamento tensão x deformação das mantas contendo extrato (a) e cera (b) de própolis vermelha, juntamente com o PCL puro

As amostras que contêm extrato de própolis e cera na concentração de 1% apresentam valores de propriedades mecânicas inferiores em comparação ao PCL puro, como menores valores de tensão máxima, alongação na ruptura e módulo elástico. Isso pode ser atribuído à quantidade insuficiente de aditivos de própolis adicionados na matriz, o que resulta em pequenos pontos de tensão ou deformações na matriz, inferiores ao seu limite de percolação. Estes pontos de tensão afetam negativamente as propriedades mecânicas da amostra em comparação com a matriz pura, como já foi descrito em estudos da literatura (FERREIRA et al., 2022; RAVICHANDRAN et al., 2019a).

Tabela 8. Propriedades mecânicas das mantas eletrofiadas

Amostra	Tensão Máxima (Mpa)	Deformação Máxima (%)	Módulo Elástico (Mpa)
PCL	3,6 ± 0,9	167 ± 20	3,8 ± 0,1
PCL-E1	2,5 ± 0,6	105 ± 12	3,4 ± 0,2
PCL-E5	3,9 ± 0,7	109 ± 19	6,5 ± 0,6
PCL-E10	8,0 ± 0,7	161 ± 14	8,9 ± 0,3
PCL-E15	5,5 ± 0,4	151 ± 29	7,9 ± 0,4
PCL-C1	1,5 ± 0,5	102 ± 22	2,3 ± 0,1
PCL-C5	3,3 ± 0,4	72 ± 22	7,7 ± 0,3
PCL-C10	3,8 ± 0,3	162 ± 7	3,3 ± 0,1
PCL-C15	3,7 ± 0,5	129 ± 21	5,9 ± 0,6

Os resultados indicam que a amostra PCL-E10 apresenta as melhores propriedades mecânicas, com uma tensão máxima de 8,0 ± 0,7 MPa, alongação na ruptura de 161 ± 14 % e módulo elástico de 8,9 ± 0,3 MPa. Por outro lado, a amostra PCL-E5 apresenta valores mais baixos, com uma tensão máxima de 3,9 ± 0,7 MPa, alongação na ruptura de 109 ± 19 % e módulo elástico de 6,5 ± 0,6 MPa. Finalmente, a amostra PCL-E15 apresenta uma tensão máxima de 5,5 ± 0,4 MPa, alongação na ruptura de 151 ± 29 % e módulo elástico de 7,9 ± 0,4 MPa.

Assim, quanto às amostras que contêm o extrato de própolis, algumas hipóteses podem ser levantadas: 1) o menor tamanho médio das fibras permite que as amostras se alonguem de forma mais eficiente, resultando em maior deformação e sendo necessária uma tensão maior para sua ruptura; 2) a adição do extrato de própolis pode resultar em menos defeitos e maior elasticidade; 3) as ligações secundárias podem ter melhorado a eficiência

dessas propriedades; 4) a variação do grau de cristalinidade e porosidade não foi o fator preponderante para influenciar as propriedades mecânicas dessas amostras, considerando o erro percentual existente.

As amostras com adição de cera apresentam uma redução nas suas propriedades mecânicas em comparação com as amostras contendo extrato. Os valores obtidos para PCL-C10 apresentaram tensão máxima de $8,0 \pm 0,7$ MPa, alongação na ruptura de $161 \pm 14\%$ e módulo elástico de $8,9 \pm 0,3$ MPa, que são mais próximos dos valores do PCL puro. Embora o PCL e a cera tenham uma boa compatibilidade, os baixos valores para as propriedades mecânicas podem estar relacionados a fatores intrínsecos da cera, pois ela contém substâncias que causam uma baixa resistência mecânica, como já foi observado por Robert et al. (ROBERT et al., 2009).

5.8 Citotoxicidade

A avaliação da citotoxicidade foi realizada para determinar a viabilidade celular das mantas em organismos vivos. A viabilidade celular é proporcionada pelo grau médio de absorção gerado pela presença de formas produzidas pela reação do MTT com as células viáveis. Duas mantas foram selecionadas para o teste, PCL-E10 e PCL-C10, que contêm 10% de extrato e cera de própolis vermelha. Os resultados da avaliação de citotoxicidade dessas mantas são ilustrados na Figura 23.

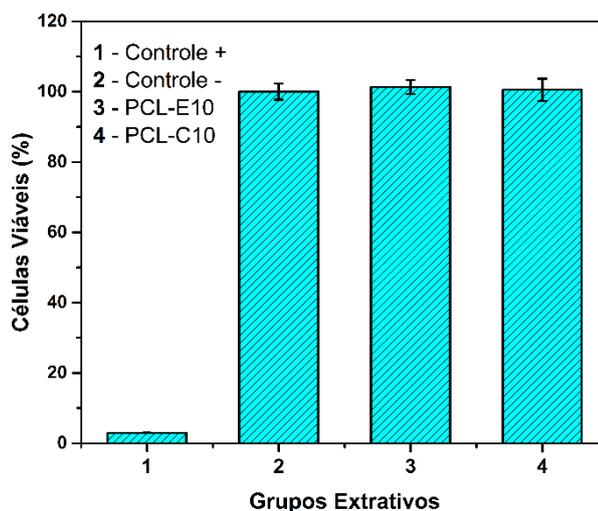


Figura 23. Viabilidade celular das mantas eletrofiadas de PCL, PCL-E10 e PCL-C10 avaliada em células L929, que são semelhantes a fibroblastos.

O resultado para o controle positivo foi inferior a 10%, como era previsto, devido à ausência de células viáveis. Ao examinar o gráfico (Figura 23), observou-se 100% de viabilidade celular para as amostras PCL-E10 e PCL-C10. De acordo com os padrões ISO 10.993-5/2009, isso significa que as mantas são consideradas inativas, isto é, não possuem nenhuma reatividade, pois as culturas celulares apresentam uma aparência discreta de grânulos intracitoplasmáticos, sem sinais de lise celular ou redução no crescimento. Em outras palavras, as mantas não apresentam citotoxicidade.

6 CONCLUSÃO

As mantas eletrofiadas incorporadas com cera e extrato de própolis vermelha foram produzidas com sucesso, tendo diâmetro médio de fibras menor ou igual a 1,2 μm . A própolis vermelha é uma fonte rica em metabólitos secundários, superando a cera nesta categoria.

A elevada porosidade das mantas, superior a 44%, cria um ambiente propício para o crescimento celular. O comportamento vibracional das fibras indica uma interação principalmente física, o que ajuda a estabilizar as mantas termicamente. No entanto, a adição de cera e própolis vermelha resultou na redução da cristalinidade das mantas, devido à natureza amorfa da própolis.

O aspecto hidrofóbico das amostras que contêm cera e PCL afetou a molhabilidade das mantas, caracterizadas como material não-molhável. Por outro lado, as fibras com concentração de extrato de própolis igual ou superior a 5% apresentaram melhores resultados em termos de absorção de água, com ângulo de contato menor que 90°. A combinação dos valores de módulo de elasticidade, tensão e deformação máxima é otimizada na amostra que contém 10% de extrato de própolis.

As mantas que possuem percentual de 10% de Cera e Extrato de própolis vermelha são atóxicas. Ainda, é evidenciado que a concentração máxima de extrato e cera de própolis é 15%, pois acima dessa porcentagem ocorre saturação da fibra.

Considerando esses aspectos, as mantas eletrofiadas apresentam características notáveis que as tornam uma opção viável como curativo dérmico bioativo. Com base nos argumentos expostos anteriormente, a amostra que contém 10% de extrato e cera de própolis vermelha tem as melhores propriedades para essa aplicação.

7 REFERÊNCIAS

1. ABDULLAH, M.; SCIENCES, N. A Simple Method for Determining Surface Porosity Based on SEM Images Using OriginPro Software. **Indonesian Journal of Physics**, v. 20, n. 2, p. 37–40, 2009.
2. AHMED, J. et al. Anti-fungal bandages containing cinnamon extract. **International Wound Journal**, v. 16, n. 3, p. 730–736, 2019.
3. ALBREKTSSON, T.; JOHANSSON, C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. **European Spine Journal**, v. 10, p. S96–S101, 2001.
4. AL-KAABI, W. J. et al. Development of Inula graveolens (L.) plant extract electrospun/polycaprolactone nanofibers: A novel material for biomedical application. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 2, p. 1–10, 2021.
5. ALTUN, E. et al. Bioinspired scaffold induced regeneration of neural tissue. **European Polymer Journal**, v. 114, n. December 2018, p. 98–108, 2019.
6. AMASH, A.; ZUGENMAIER, P. Thermal and Dynamic Mechanical Investigations on Fiber-Reinforced Polypropylene Composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, n. 9, p. 1143–1154, 1997.
7. ANDRIOLO, J. M. et al. Electrospun Fibers for Controlled Release of Nanoparticle-Assisted Phage Therapy Treatment of Topical Wounds. **MRS Advances**, v. 3, n. 50, p. 3019–3025, 2018.
8. ANJUM, S. I. et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1695–1703, 2019.
9. ANSARI, M.; ESHGHANMALEK, M. Biomaterials for repair and regeneration of the cartilage tissue. **Bio-Design and Manufacturing**, v. 2, n. 1, p. 41–49, 2019.
10. ARBADE, G. K. et al. Emblica officinalis loaded poly (ϵ -caprolactone) electrospun nanofiber scaffold as potential antibacterial and anticancer deployable patch . **New Journal of Chemistry**, 2019.
11. AZEVEDO, L. F. et al. Polymeric nanoparticle systems loaded with red propolis extract : a comparative study of the encapsulating systems , PCL-Pluronic versus Eudragit E100-Pluronic. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 2, p. 255–270, 2018.
12. BAGLIONI, M. et al. A Triton X-100-Based Microemulsion for the Removal of Hydrophobic Materials from Works of Art : SAXS Characterization and Application. **Materials**, v. 11, p. 1144, 2018.
13. BANZATO, T. P. et al. Antiproliferative Flavanoid Dimers Isolated from Brazilian Red Propolis. **Journal of Natural Products**, v. 7, 11 jun. 2020.

14. BECKER, A. et al. A novel coaxial nozzle for in-process adjustment of electrospun scaffolds fiber diameter. **Current Directions in Biomedical Engineering**, v. 1, n. 1, p. 104–107, 2015.
15. BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning : A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 325–347, 2010.
16. BOHOLM, M.; ARVIDSSON, R. A Definition Framework for the Terms Nanomaterial and Nanoparticle. **NanoEthics**, v. 10, n. 1, p. 25–40, 2016.
17. BOWMAN, D. M. More than a Decade On: Mapping Today’s Regulatory and Policy Landscapes Following the Publication of Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties. **NanoEthics**, v. 11, n. 2, p. 169–186, 2017.
18. CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523–1527, 2009.
19. CARTER, P.; RAHMAN, S. M.; BHATTARAI, N. Facile fabrication of aloe vera containing PCL nanofibers for barrier membrane application. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 27, n. 7, p. 692–708, 2016.
20. ÇAY, A.; MIRAFTAB, M.; KUMBASAR, E. P. A. Characterization and swelling performance of physically stabilized electrospun poly (vinyl alcohol)/ chitosan nanofibres. **EUROPEAN POLYMER JOURNAL**, v. 61, p. 253–262, 2014.
21. CHATANI, Y. et al. Structural Studies of Polyesters . III . Crystal Structure of Poly-ε-caprolactone. **Polymer Journal**, v. 1, n. 5, p. 555–562, 1970.
22. CHEM, J. M.; DI, J.; YU, J. Fabrication of molecular sieve fibers by electrospinning. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, p. 8511–8520, 2011.
23. CIPITRIA, A. et al. Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds - A review. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 26, p. 9419–9453, 2011.
24. COLEMAN, M. M.; ZARIAN, J.; SECTION, P. S. Fourier-Transform Infrared Studies of Polymer Blends. **Journal of Polymer Science**, v. 17, p. 837–850, 1979.
25. CRUBÉZY, E. et al. False teeth of the Roman world. **Nature**, v. 391, p. 29, 1998.
26. DE MENDONÇA, I. C. G. et al. Brazilian red propolis: Phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015.
27. DE VRIEZE, S. et al. The effect of temperature and humidity on electrospinning. **Journal of materials science**, v. 44, n. 5, p. 1357–1362, 2009.
28. DENG, H. et al. Injectable thermosensitive hydrogel systems based on functional PEG/PCL block polymer for local drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 297, n. January, p. 60–70, 2019.

29. DO NASCIMENTO, T. G. et al. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, p. 301, 2016.
30. DO NASCIMENTO, T. G. et al. Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–16, 2019.
31. DURÁN, N. et al. Poly(ϵ -caprolactone)/propolis extract: Microencapsulation and antibacterial activity evaluation. **Pharmazie**, v. 62, n. 4, p. 287–290, 2007.
32. ELZEIN, T. et al. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 273, p. 381–387, 2004.
33. ENGELMANN, W.; VON HOHENDORFF, R. Current scenario of nanotechnology in Brazil. **Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste**, v. 20, n. 1, p. 1–5, 2016.
34. FADAIE, M. et al. Incorporation of nanofibrillated chitosan into electrospun PCL nanofibers makes scaffolds with enhanced mechanical and biological properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, n. July, p. 628–640, 2018.
35. FERREIRA, E. F. et al. Sustainable Packaging Material Based on PCL Nanofibers and Lavandula luisieri Essential Oil, to Preserve Museological Textiles. **Polymers**, v. 14, n. 3, 2022.
36. FEYNMAN, R. There's plenty of room at the bottom. **Engineering and Science**, v. 23, p. 22–36, 1960.
37. FLORES-CEDILLO, M. L. et al. Multiwall carbon nanotubes/polycaprolactone scaffolds seeded with human dental pulp stem cells for bone tissue regeneration. **J Mater Sci: Mater Med**, v. 27, n. 35, p. 12, 2016.
38. FONG, E. L. S. et al. Building bridges: Leveraging interdisciplinary collaborations in the development of biomaterials to meet clinical needs. **Advanced Materials**, v. 24, n. 36, p. 4995–5013, 2012.
39. FONG, H.; CHUN, I.; RENEKER, D. H. Beaded nanofibers formed during electrospinning. **Polymer**, v. 40, p. 4585–4592, 1999.
40. GAUT, C.; SUGAYA, K. Critical review on the physical and mechanical factors involved in tissue engineering of cartilage. **Regenerative Medicine**, v. 10, n. 5, p. 665–679, 2015.
41. GHOSAL, K. et al. Electrospinning over Solvent Casting : Tuning of Mechanical Properties of Membranes. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.
42. GIRIJA, B. G.; SAILAJA, R. R. N.; MADRAS, G. Thermal degradation and mechanical properties of PET blends. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, p. 147–153, 2005.

43. GOLUBEV, S. S. et al. Nanotechnology market research: Development and prospects. **Espacios**, v. 39, n. 36, 2018.
44. GOMES, T. et al. Caseinates loaded with Brazilian red propolis extract: preparation, protein-flavonoids interaction, antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1–5, 2021.
45. GONÇALVES, R. P. et al. Morphology and Thermal Properties of Core-Shell PVA / PLA Ultrafine Fibers Produced by Coaxial Electrospinning. **Materials Sciences and Applications**, v. 6, p. 189–199, 2015.
46. HE, W. et al. Fabrication of collagen-coated biodegradable polymer nanofiber mesh and its potential for endothelial cells growth. **Biomaterials**, v. 26, p. 7606–7615, 2005.
47. HERNÁNDEZ, A. R. et al. Poly (ϵ -caprolactone) Degradation Under Acidic and Alkaline Conditions. **American Journal of Polymer Science**, v. 3, n. 4, p. 70–75, 2013.
48. HOSKINS, J. N.; GRAYSON, S. M. Synthesis and Degradation Behavior of Cyclic Poly (ϵ -caprolactone). **Macromolecules**, v. 42, p. 6406–6413, 2009.
49. HUANG, F. L. et al. Dynamic wettability and contact angles of poly(vinylidene fluoride) nanofiber membranes grafted with acrylic acid. **Express Polymer Letters**, v. 4, n. 9, p. 551–558, 2010.
50. HUANG, M. et al. Degradation and cell culture studies on block copolymers prepared by ring opening polymerization of ϵ -caprolactone in the presence of poly (ethylene glycol). **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 69, n. 3, p. 417–427, 2004.
51. HUTMACHER, D. W.; COOL, S. Concepts of scaffold-based tissue engineering - The rationale to use solid free-form fabrication techniques. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 11, n. 4, p. 654–669, 2007.
52. IAN FREESTONE, NIGEL MEEKS, MARGARET SAX, C. H. The Lycurgus Cup - A Roman nanotechnology. **Gold Bulletin**, v. 40, n. 4, p. 270–277, 2007.
53. JANARTHANAN, G. et al. Comparative studies on thin polycaprolactone-tricalcium phosphate composite scaffolds and its interaction with mesenchymal stem cells. **Biomaterials Research**, v. 23, n. 1, p. 1–12, 2019.
54. JIN, G. et al. Biomaterials Tissue engineered plant extracts as nano fibrous wound dressing. **Biomaterials**, v. 34, n. 3, p. 724–734, 2013.
55. JIN, M. et al. Polysaccharide-Based Biomaterials in Tissue Engineering: A Review. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, 26 fev. 2021.

56. JOSHI, M. K. et al. In Situ Generation of Cellulose Nanocrystals in Polycaprolactone Nano fibers : Effects on Crystallinity , Mechanical Strength , Biocompatibility , and Biomimetic Mineralization. 2015.

57. KARLA, J. et al. Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown , green and red propolis. **Food Research International**, v. 109, n. January, p. 278–287, 2018.

58. KEUN, W. et al. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly (ethylene oxide) fibers. **Polymer**, v. 45, n. 9, p. 2959–2966, 2004.

59. KIRAN, A. S. K. et al. Antibacterial and bioactive surface modifications of titanium implants by PCL/TiO₂ nanocomposite coatings. **Nanomaterials**, v. 8, n. 10, 2018.

60. KOWALCZYK, P. et al. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Production of 3D printed polylactide scaffolds with surface grafted hydrogel coatings. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 179, p. 136–142, 2019.

61. LAÍS, L. F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of red propolis embedded mesoporous silica nanoparticles. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 46, n. 7, p. 1199–1208, 2020.

62. LI, B. D.; XIA, Y. Electrospinning of Nanofibers : Reinventing the Wheel ?**. **Advanced Materials**, v. 16, n. 14, p. 1151–1170, 2004.

63. LIN, J. et al. Cell-material interactions in tendon tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 70, p. 1–11, 2018.

64. LIU, C.; XIA, Z.; CZERNUSZKA, J. T. Design and Development of Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 85, n. 7, p. 1051–1064, 2007.

65. LOWERY, J. L.; DATTA, N.; RUTLEDGE, G. C. Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly(3-caprolactone) fibrous mats. **Biomaterials**, v. 31, p. 491–504, 2010.

66. LU, C.; LIN, W. Permeation of Protein from Porous Poly (ε-caprolactone) Films. v. 2001, n. June 2001, p. 220–225, 2002.

67. LURAGHI, A.; PERI, F.; MORONI, L. Electrospinning for drug delivery applications : A review. **Journal of Controlled Release**, v. 334, p. 463–484, 2021.

68. LYU, J. S.; LEE, J.; HAN, J. Development of a biodegradable polycaprolactone film incorporated with an antimicrobial agent via an extrusion process. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

69. MA, P. X. Biomimetic materials for tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 2, p. 184–198, 2008.

70. MARIA, L. et al. Effect of Solution Concentration on the Electrospray / Electrospinning Transition and on the Crystalline Phase of PVDF. **Materials Sciences and Applications**, v. 1, p. 247–252, 2010.
71. NASCIMENTO, T. G. et al. Modified release microcapsules loaded with red propolis extract obtained by spray-dryer technique. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, n. 138, p. 3559–3569, 2019.
72. NEGRI, G. et al. Hydrocarbons and monoesters of propolis waxes from Brazil. **Apidologie**, v. 29, n. 4, p. 305–314, 1998.
73. PAPPENBURG, B. J. et al. Designing porosity and topography of poly (1,3-trimethylene carbonate) scaffolds. **Acta Biomaterialia**, v. 5, p. 3281–3294, 2009.
74. PARK, J.; LAKES, R. **Biomaterials: an Introduction**. 3. ed. New York: Springer Science & Business Media, 2010a.
75. PARK, J.; LAKES, R. **Biomaterials: an Introduction**. 3. ed. New York: Springer Science & Business Media, 2010b.
76. PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502–2506, 2002.
77. PERSENAIRE, O.; DEGE, P. Mechanisms and Kinetics of Thermal Degradation of Poly (ϵ -caprolactone). **Biomacromolecules**, v. 2, p. 288–294, 2001.
78. PERUMAL, G. et al. Synthesis and characterization of curcumin loaded PLA — Hyperbranched polyglycerol electrospun blend for wound dressing applications. **Materials Science & Engineering C**, v. 76, p. 1196–1204, 2017.
79. PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomaterials: Types, Applications, and Market. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.
80. PISANI, S. et al. Design of copolymer PLA-PCL electrospun matrix for biomedical applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 124, p. 77–89, 2018.
81. QIN, X.; WU, D. Effect of different solvents on poly (caprolactone) (PCL) electrospun nonwoven membranes. **J Therm Anal Calorim**, v. 107, p. 1007–1013, 2012.
82. QIU, Z. et al. Miscibility and crystallization behavior of biodegradable blends of two aliphatic polyesters. Poly (3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate). **Polymer**, v. 46, p. 11814–11819, 2005.
83. RABIEJ, S. A comparison of two X-ray diffraction procedures for crystallinity determination. **European Polymer Journal**, v. 27, n. 9, p. 947–954, 1991.
84. RAMAKRISHNA, S. et al. **An introduction to electrospinning and nanofibers**. [s.l.] World Scientific, 2005.

85. RAMDHANIE, L. I. et al. Thermal and Mechanical Characterization of Electrospun Blends of Poly (lactic acid) and Poly (glycolic acid). **Polymer Journal**, v. 38, n. 11, p. 1137–1145, 2006.
86. RATNER, B. D. et al. Biomaterials Science : A Multidisciplinary Endeavor. **Biomaterials Science**, p. 1–20, 2004a.
87. RATNER, B. D. et al. Biomaterials Science : A Multidisciplinary Endeavor. **Biomaterials Science**, p. 1–20, 2004b.
88. RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 3. ed. Canada: Elsevier Inc., 2013a.
89. RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 3. ed. Canada: Elsevier Inc., 2013b.
90. RAVICHANDRAN, S. et al. Antibacterial screening studies of electrospun Polycaprolactone nano fi brous mat containing Clerodendrum phlomidis leaves extract. **Applied Surface Science**, v. 484, n. April, p. 676–687, 2019a.
91. RAVICHANDRAN, S. et al. Applied Surface Science Antibacterial screening studies of electrospun Polycaprolactone nano fibrous mat containing Clerodendrum phlomidis leaves extract. **Applied Surface Science**, v. 484, n. January, p. 676–687, 2019b.
92. REGUEIRA, M. S. et al. Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. **Food and Chemical Toxicology**, v. 107, p. 572–580, 2017.
93. RENEKER, D. H.; YARIN, A. L. Electrospinning jets and polymer nanofibers. **Polymers with aligned carbon nanotubes: Active composite materials**, v. 49, n. 10, p. 2387–2425, 2008.
94. RESHMI, C. R. et al. Fabrication of superhydrophobic polycaprolactone/beeswax electrospun membranes for high-efficiency oil/water separation. **RSC Advances**, v. 7, p. 2092–2102, 2017.
95. ROBERT, B. et al. Original article The role of fatty acids in the mechanical properties of beeswax. **Apidologie**, v. 40, p. 585–594, 2009.
96. RODRIGUES, L. S. et al. An eco-friendly green and facile synthesis of carbon dots from red propolis wax with photoluminescence dependent of reaction time and thermal treatment in solid state. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 23, n. 12, p. 262, 2021.
97. RODRIGUES, S. C. et al. Preparation and characterization of collagen-nanohydroxyapatite biocomposite scaffolds by cryogelation method for bone tissue engineering applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 101A, n. 4, p. 1080–1094, abr. 2013.

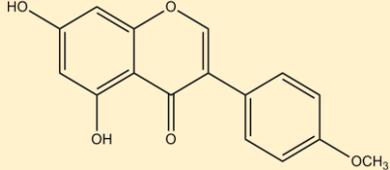
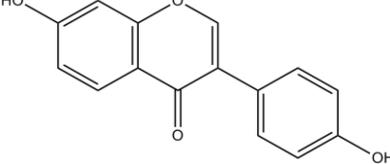
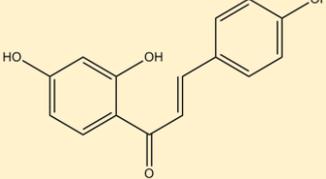
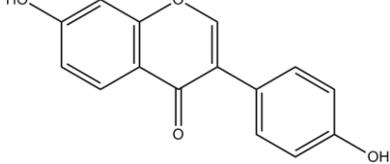
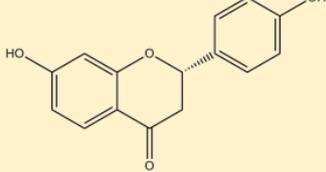
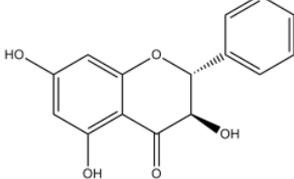
98. RODUNER, E. Size matters: Why nanomaterials are different. **Chemical Society Reviews**, v. 35, n. 7, p. 583–592, 2006.
99. ROJCZYK, E.; KLAMA-BARY, A.; WOJCIECH, Ł. Historical and modern research on propolis and its application in wound healing and other fields of medicine and contributions by Polish studies. **Journal of Ethnopharmacology journal**, v. 262, p. 113159, 2020.
100. ROSA, V. et al. Tissue engineering: From research to dental clinics. **Dental Materials**, v. 28, n. 4, p. 341–348, 2012.
101. RUCKH, T. T. et al. Osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells on poly(ϵ -caprolactone) nanofiber scaffolds. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 8, p. 2949–2959, 2010.
102. RUFATTO, L. C. et al. Red propolis: Chemical composition and pharmacological activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 7, p. 591–598, 2017.
103. SALERNO, A.; SAURINA, J.; DOMINGO, C. Supercritical CO₂ foamed polycaprolactone scaffolds for controlled delivery of 5-fluorouracil, nicotinamide and triflusal. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 496, p. 654–663, 2015.
104. SALLES, T. H. C. et al. Electrospun PCL-based nanofibers *Arrabidaea chica* Verlot – *Pterodon pubescens* Benth loaded: synergic effect in fibroblast formation. **Biomedical Materials**, v. 15, n. 6, p. 065001, 1 nov. 2020.
105. SAMADIAN, H. et al. Natural polymers-based light-induced hydrogels: Promising biomaterials for biomedical applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 420, p. 213432, 2020.
106. SHARIFI, M. et al. Electrospun PCL and PLA hybrid nanofibrous scaffolds containing *Nigella sativa* herbal extract for effective wound healing. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 46, p. 9–11, 2020.
107. SILVA, C. et al. Determination of Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Ethanolic Extracts of Propolis Using ATR – FT-IR Spectroscopy and Chemometrics. **Food Analytical Methods**, n. 11, p. 2013–2021, 2018a.
108. SILVA, F. R. G. et al. Phytochemical screening and in vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and antitumor activities of the red propolis Alagoas. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 3, p. 452–459, 2018b.
109. SOLA, A. et al. Materials Science & Engineering C Development of solvent-casting particulate leaching (SCPL) polymer scaffolds as improved three-dimensional supports to mimic the bone marrow niche. **Materials Science & Engineering C**, v. 96, p. 153–165, 2019.

110. SONG, J. E. et al. A BMSCs-laden quercetin/duck's feet collagen/hydroxyapatite sponge for enhanced bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 108, n. 3, p. 784–794, 2020.
111. SONG, W. et al. Electrostatic field-assisted alignment of electrospun nanofibres. **Nanotechnology**, v. 12, n. 3, p. 384, 2001.
112. STALDER, A. F. et al. A snake-based approach to accurate determination of both contact points and contact angles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 286, p. 92–103, 2006.
113. STANOJCIC, N.; HULL, C.; O'BRART, D. P. S. Clinical and material degradations of intraocular lenses: A review. **European Journal of Ophthalmology**, v. 30, n. 5, p. 823–839, 2020.
114. SULTANKULOV, B. et al. Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 470, 2019.
115. SURYAMATHI, M. et al. Tridax Procumbens Extract Loaded Electrospun PCL Nanofibers: A Novel Wound Dressing Material. **Macromolecular Research**, v. 27, n. 1, p. 55–60, 2019.
116. SVEČNJAK, L. et al. An approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using FTIR-ATR spectroscopy. **Journal of apicultural science**, v. 59, n. 2, p. 37–49, 2015.
117. TAYLOR, F. R. S. Disintegration of water drops in an electric field. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences**, v. 280, n. 1382, p. 383–397, 1964.
118. TORETI, V. C. et al. Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 13, 2013.
119. TRAN, P. A.; HOCKING, D. M.; O'CONNOR, A. J. In situ formation of antimicrobial silver nanoparticles and the impregnation of hydrophobic polycaprolactone matrix for antimicrobial medical device applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 47, p. 63–69, 2015.
120. TUCKER, N. et al. The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995. **Journal of engineered fibers and fabrics**, v. 7, n. 2, p. 63–73, 2012.
121. VENKATESAN, J.; KIM, S.-K.; WONG, T. W. **Nanotechnology Applications for Tissue Engineering**. 1. ed. United States: Elsevier Inc., 2015.
122. VIDAL, F. Potencial da produção de própolis no nordeste. **Caderno Setorial ETENE**, v. 6, n. 153, p. 1–9, 2021.

123. WANG, X. et al. Crystalline Morphology of Electrospun Poly (ϵ -caprolactone) (PCL) Nanofibers. **Ind. Eng. Chem. Res.**, n. 52, p. 4939–4949, 2013.
124. XU, H. H. K. et al. Strong and macroporous calcium phosphate cement: Effects of porosity and fiber reinforcement on mechanical properties. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 57, n. 3, p. 457–466, 2001.
125. YALCINKAYA, F.; YALCINKAYA, B.; JIRSAK, O. Influence of Salts on Electrospinning of Aqueous and Nonaqueous Polymer Solutions. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, p. 12, 2015.
126. YOON, J. et al. Recent Progress in Coaxial Electrospinning : New Parameters , Various Structures , and Wide Applications. **Advanced Materials**, v. 30, n. 42, p. 1704765, 2018.
127. YOON, Y. et al. 3D bioprinted complex constructs reinforced by hybrid multilayers of electrospun nanofiber sheets. **Biofabrication**, v. 11, n. 2, p. 025015, 28 mar. 2019.
128. YUAN, Y.; LEE, T. R. **Surface science techniques - Contact Angle and Wetting Properties**. [s.l: s.n.]. v. 51
129. ZARBIN, A. J. G. QUÍMICA DE (NANO)MATERIAIS. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1469–1479, 2007.

ANEXO I

A estrutura química dos flavonoides presentes no extrato e na cera de própolis vermelha pode ser visualizada abaixo.

Estrutura	Nome
	Biochanina A
	Daidzeína
	Isoliquiritigenina
	Formononetina
	Liquiritigenina
	Pinobanksina
	Pinocembrina

ANEXO II

Trabalho publicado

J Nanopart Res (2021) 23:262
<https://doi.org/10.1007/s11051-021-05362-7>

RESEARCH PAPER



An eco-friendly green and facile synthesis of carbon dots from red propolis wax with photoluminescence dependent of reaction time and thermal treatment in solid state

Leonardo Sobreira Rodrigues · Artur Falqueto Sonsin · Cintya D' Angeles do Espirito Santo Barbosa · Daniela Martins Fernandes de Oliveira · Eduardo Jorge da Silva Fonseca · Camila Braga Dornelas · Adriana Santos Ribeiro · Ligia Maria Manzine Costa

Received: 5 July 2021 / Accepted: 5 November 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

Abstract Although the luminescent properties of carbon dots (CDs) already have been modulated by changing different synthetic parameters, the effect of the reaction time and temperature is still rarely explored. In this work, a facile and eco-friendly synthesis of CDs by hydrothermal method using red propolis wax as a source of carbon was performed in times of 6 (CD6) and 24 h (CD24) and thermally treated. The produced CDs exhibit a size around 2–5 nm, a uniform morphology, and an intense blue light photoluminescence emission under UV irradiation. The photoluminescent properties of CDs display both excitation-dependent/independent emission that are

affected by the different reaction times tested in the synthesis. The results showed that the degree of oxidation/defects decreases as the particle size increases providing an unusual emission behavior independent of the excitation with the time increase from 6 to 24 h. In addition, the heat treatment makes the CD6 sample emit independent of the excitation. Moreover, it is noteworthy that to the best of our knowledge, red propolis wax has not been used as a precursor in the synthesis of CDs and no study has reported changes in dependent/independent emission of CDs by using different reaction times and thermal treatments.

Graphic Abstract

Keywords Carbon dots · Luminescence · Red propolis · Wax · Dependent/independent emission · Temperature dependence

L. S. Rodrigues (✉) · L. M. M. Costa
CTEC, Universidade Federal de Alagoas, Maceió,
Alagoas, Brazil
e-mail: sobreira.leon@gmail.com

A. F. Sonsin · E. J. S. Fonseca
IF, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas,
Brazil

C. D. E. S. Barbosa · A. S. Ribeiro
IQB, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas,
Brazil

D. M. F. Oliveira
PQU, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná,
Brazil

C. B. Dornelas
ICF, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas,
Brazil

Introduction

Carbon dots (CDs) are an allotropic class of carbon nanomaterials that show biocompatibility, solubility in water, low toxicity, photostability, and low cost (Chen et al. 2018a; Zhou et al. 2017). The search for environmentally friendly synthesis methods and lower cost, abundant, and renewable carbon precursors has attracted the interest of the scientific community to produce carbon dots with efficiency from a variety of carbon wastes (Meng et al. 2019; Sharma et al. 2017; Arumugam and Kim 2018).

Published online: 29 November 2021

Springer