

Produção de Membranas no Sistema PVA - Hidroxiapatita por Eletrofição

Isabela S. Gonçalves, João H. Lopes & Ivone R. Oliveira

A produção de biomateriais com uma arquitetura que mimetiza a estrutura da matriz extracelular, que em sua maioria são estruturas fibrosas entrelaçadas na faixa de nanoescala, tem sido uma área de grande interesse em engenharia de tecidos. O álcool polivinílico (PVA) tem sido aplicado nessa área devido suas propriedades adequadas para aplicação como biomaterial, além de possuir menor custo quando comparado a outros materiais poliméricos. Porém, o PVA não induz a formação de um novo tecido devido a não interação entre o material e o tecido vizinho. Dentro deste contexto, o presente trabalho teve o objetivo de realizar a produção e avaliação de membranas à base de PVA contendo hidroxiapatita (HA). Inicialmente, foi realizado um estudo quanto à concentração ótima de PVA para que a eletrofição fosse possível. Por fim, partículas de HA foram incorporadas à solução. As membranas contendo HA foram caracterizadas quanto à morfologia, propriedades estruturais e grupos químicos comprovando a incorporação das partículas nas membranas.

Palavras-chave: *fibras; eletrofição; PVA; hidroxiapatita.*

The producing biomaterials with an architecture that simulates the structure of the extracellular matrix, which are mostly interwoven fibrous structures in the nanoscale range, has been an area of great interest in tissue engineering. Polyvinyl alcohol (PVA) is applied for its suitable biomaterial properties and cost-effectiveness. However, PVA does not induce the formation of a new tissue due to the non-interaction between the material and the neighboring tissue. This study aimed to produce and assess PVA-based membranes containing hydroxyapatite (HA). Initial investigations determined the optimal PVA concentration for electrospinning. Subsequently, HA particles were incorporated into the solution. The membranes, featuring HA, were characterized for morphology, structural properties, and chemical groups, confirming successful particle integration.

Keywords: *fiber; electrospinning; PVA; hydroxyapatite.*

Introdução

Ao longo dos anos tem ocorrido considerados esforços no desenvolvimento de materiais biomédicos para utilização no reparo de tecidos doentes e danificados. A engenharia de tecidos é o campo multidisciplinar que busca desenvolver técnicas e materiais que promovam a regeneração, reparo ou substituição de tecidos a fim de criar ambientes artificiais para facilitar a regeneração e o crescimento de tecidos e células naturais sem que haja resposta negativa ao organismo do receptor. Os biomateriais, portanto, devem reparar ou substituir tecidos de forma segura e fisiologicamente aceitável, ou seja, devem ser biocompatíveis, podendo ser bioinertes ou bioativos.¹

Dentre os materiais em destaque estão os nanoestruturados, como as nanofibras que promovem melhores propriedades em comparação a macroescala devido a sua alta área superficial específica, alta razão superfície/volume, grandes porosidades, grande razão de aspecto comprimento/diâmetro e morfologias mutáveis que podem simular a estrutura da matriz extracelular.² Os materiais nanofibrosos podem ser utilizados em diversas aplicações biomédicas, incluindo suportes de engenharia de tecidos, curativos para cicatrização de feridas, dispositivos biomédicos, biossensores e sistemas de liberação de drogas;³

Embora existam diferentes métodos para fabricação de fibras, a eletrofiação vem ganhando destaque pela sua simplicidade e economia. O processo funciona basicamente por meio da aplicação de alta tensão em uma solução polimérica que supera a tensão superficial do polímero e induz a formação de um jato contínuo em direção a um coletor. Este método pode ser controlado por meio de parâmetros ambientais (umidade e temperatura) e de processo (tensão, distância coletor/ponta, vazão e concentração da solução), influenciando na morfologia das nanofibras, resultando em fibras de diâmetros distintos.⁴⁻⁶

A escolha do polímero adequado é de grande importância e deve ser feita de acordo com o tipo de aplicação, ou seja, o tipo de tecido a ser regenerado ou a área a ser implantado. Os polímeros a serem utilizados podem ser naturais (alginato, colágeno, quitosana e gelatina) e sintéticos (álcool polivinílico, polilactídeo e policaprolactona)²

Entre os polímeros investigados, o álcool polivinílico (PVA) tem sido amplamente estudado para aplicações na área da saúde, visto que é um polímero hidrofílico, possui boa resistência mecânica, biocompatibilidade, degradação segura e possui baixo custo.⁷ O PVA pode ser utilizado em diversas aplicações, tais como, cicatrização, liberação de medicamentos, materiais dentários e engenharia de tecidos.⁸

Por outro lado, as propriedades biológicas do polímero podem ser potencializadas por meio da adição de biocerâmicas como fosfato de cálcio,⁹ vidro bioativo,¹⁰ e hidroxiapatita.¹¹ A hidroxiapatita (HA) possui excelentes propriedades, sendo um dos materiais de maior preferência para uso biomédico. A estrutura da hidroxiapatita é semelhante aos componentes minerais dos ossos e dentes, sendo biocompatível e bioativa com propriedade osteocondutora permitindo a ligação química aos tecidos duros.^{12, 13}

Dessa forma, a adição de HA na solução de PVA pode potencializar as propriedades das membranas, sendo de grande importância o estudo desse biomaterial para ser utilizado em aplicações biomédicas.

Materiais e Métodos

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO (PVA)

Inicialmente foi realizado um estudo a fim de obter os melhores parâmetros de solução. A preparação das soluções poliméricas de álcool polivinílico (PVA, PM: 104500,00, GH: 87 a 89%, Neon) 8 ou 10 %-p foi realizada utilizando água ultrapura como sistema solvente. A solução foi agitada magneticamente por 1 hora a 90 °C. Posteriormente, a solução foi caracterizada quanto à viscosidade utilizando um reômetro (Viscotester iQ Air HAAKE, Therm Scientific) por meio de medidas rotacionais a temperatura de 23 °C e quanto à condutividade iônica utilizando condutivímetro (MA-521, Marconi).

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS À BASE DE PVA

Para a produção das membranas, foi utilizado um sistema de eletrofiação composto por uma fonte de alta tensão, bomba de infusão (NE-300, New Era Pump Systems), coletor de cobre revestido com folha de alumínio, seringa

(3 mL) e agulha (1,00 x 25 mm). O processo de eletrofição permite modificar as variáveis do sistema como, tensão, vazão e distância entre a agulha e coletor visando otimizar a síntese. Para a produção das membranas os parâmetros foram ajustados conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de eletrofição e ambiente utilizados para a produção das membranas.

Parâmetros de eletrofição e ambiente	
Tensão (kV)	15
Vazão (m.L ⁻¹)	0,5
Distância entre a ponta da agulha e o coletor (cm)	10
Temperatura (°C)	23
Umidade relativa do ar (%)	32-35

Para a caracterização quanto à morfologia, as membranas foram inicialmente metalizadas com uma camada fina de ouro. Posteriormente, as imagens foram obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV, EVO MA10 Zeiss) com aumento de 5000 X e diâmetro médio por meio de múltiplas medidas (N=50) realizadas no software ImageJ (programa de domínio público destinado ao processamento e análise de imagens).

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO DE PVA CONTENDO AGENTE RETICULANTE

A solução polimérica contendo 10 %-p foi escolhida após estudo realizado anteriormente. Por conseguinte, após a completa dissolução da solução de PVA, ácido cítrico (AC, 99,5%, Vetec) foi adicionado na concentração de 5 %-p (PVA-5AC) para atuar como agente reticulante e a agitação foi mantida por mais 30 minutos. Posteriormente, a solução foi caracterizada quanto ao pH (930 pH/Ion Meter) e quanto à condutividade iônica utilizando condutivímetro (MA-521, Marconi).

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS À BASE DE PVA CONTENDO AGENTE RETICULANTE

As membranas foram obtidas pela técnica de eletrofição utilizando os mesmos parâmetros citados na Tabela 1. A reticulação das membranas ocorreu após tratamento

térmico a 130 °C por 2 horas a fim de permitir a reação de esterificação que promove estabilidade em meio aquoso.

Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, PerkinElmer, Spectrum 400) foi realizada a fim de observar informações sobre as ligações químicas presentes nas amostras, para esse propósito foi utilizado o modo de Reflectância Total Atenuada (ATR) na região de 500-4000 cm⁻¹.

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE PVA CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE HA

Após o preparo da solução PVA-5AC, hidroxiapatita cedida pela empresa Inovações Ltda foi incorporada em diferentes concentrações 5, 10 e 15 %-p (PVA-5AC-5HA, PVA-5AC-10HA, PVA-5AC-15HA) e agitada durante a noite. As soluções foram caracterizadas quanto à viscosidade utilizando um reômetro (Viscotester iQ Air HAAKE, Therm Scientific) por meio de medidas rotacionais a temperatura de 23 °C e quanto à condutividade iônica utilizando condutivímetro (MA-521, Marconi).

A Tabela 2 apresenta as concentrações de hidroxiapatita adicionadas à solução.

Tabela 2. Especificações das concentrações de hidroxiapatita adicionadas à solução.

Identificação da amostra	Concentração de hidroxiapatita (%-p)
PVA-5AC	-
PVA-5AC-5HA	5
PVA-5AC-10HA	10
PVA-5AC-15HA	15

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS À BASE DE PVA RETICULADAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE HA

As membranas foram obtidas pela técnica de eletrofição utilizando os mesmos parâmetros citados na Tabela 1. A reticulação das membranas ocorreu após tratamento térmico a 130 °C por 2 horas a fim de permitir a reação de esterificação.

Para avaliar a influência da incorporação de HA as membranas foram caracterizadas quanto à morfologia por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV, EVO MA10 Zeiss) com aumentos de 1000, 5000 e 10000 X,

quanto à composição química por meio de análise de raios X por dispersão de energia (EDS) e diâmetro médio por meio de múltiplas medidas (N=50) realizadas no software ImageJ (programa de domínio público destinado ao processamento e análise de imagens). As fases foram caracterizadas por meio da técnica de difração de raios-x (DRX, XRD-6000 da Shimadzu) com varredura 2θ de 10 a 60° utilizando fenda 0,3. A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, PerkinElmer, Spectrum 400) foi realizada a fim de observar informações sobre as ligações químicas presentes nas amostras, para esse propósito foi utilizado o modo de Reflectância Total Atenuada (ATR) na região de 500-4000 cm^{-1} .

Resultados e Discussão

CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO E MEMBRANA À BASE DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO (PVA)

Para chegar à condição de eletrofiação adequada foi realizado um estudo da influência da concentração da solução. Por meio da análise dos resultados (Tabela 3) foi possível observar que o aumento da concentração de PVA promoveu aumento da viscosidade e condutividade iônica da solução, bem como aumento no diâmetro médio. Além disso, por meio das imagens de MEV (Figura 1) foi possível comprovar o aumento no diâmetro médio em função da concentração, bem como alteração no aspecto das fibras produzidas.

Tabela 3. Viscosidade e condutividade iônica das soluções de PVA 8 ou 10 %-p.

Concentração de PVA (%p)	Viscosidade (mPa.s)	Condutividade iônica ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$)	Diâmetro médio (nm)
8	200	592,4	$221,3 \pm 29,3$
10	640	695,6	$365,8 \pm 31,4$

Os resultados apresentados comprovaram que de fato o aumento da concentração de PVA resulta no aumento da viscosidade da solução. Essa propriedade possui grande importância no que se refere a produção de membranas por eletrofiação, visto que pode interferir na morfologia. A viscosidade da solução é um dos principais parâmetros para

se obter jatos uniformes, pois influencia na estabilidade dos jatos que, por sua vez, colabora com a formação de fibras contínuas.¹⁴ Se a solução polimérica possuir viscosidade não adequada, a morfologia uniforme das fibras será interrompida, formando, desta forma, *beads*, ou seja, formação de contas causada pela instabilidade de Rayleigh.¹⁵ Por outro lado, o aumento da viscosidade da solução eleva o diâmetro das fibras e compromete a morfologia, que provavelmente é causado pela secagem do polímero na ponta da agulha, colaborando com a instabilidade do fluxo.¹⁶ O aumento da concentração de PVA na preparação da solução colaborou com o aumento da viscosidade, o que foi previsto no início do estudo.

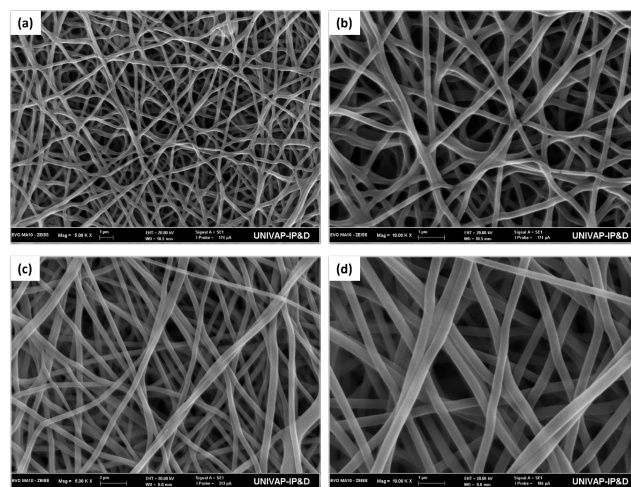


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das membranas (a e b) 8 %-p e (c e d) 10 %-p de PVA com aumentos de 5000 X e 10000 X, respectivamente.

Outro parâmetro de grande importância no processo de eletrofiação é a condutividade da solução. Polímero com boa condutividade leva a formação de jatos contínuos e fibras uniformes. O processo de eletrofiação é conduzido por diversas forças que atuam na solução a fim de formar as fibras, sendo elas, forças de Coulomb entre as partículas de carga da superfície do jato, a tensão superficial, as forças viscoelásticas devido à viscosidade da solução e a força resultante da diferença de potencial entre a solução e o coletor.¹⁴ A formação das fibras é causada pelo estiramento da solução devido a repulsão eletrostática

entre as cargas na superfície do jato de eletrofiação. Logo o aumento da condutividade colabora com a queda do diâmetro das fibras produzidas, visto que a repulsão entre as cargas transportadas é responsável pelo estiramento do jato. Porém, a condutividade em um limite inferior não favorece o estiramento da solução ocorrendo o processo de eletropulverização, que consiste na formação de gotículas e não de fibras contínuas.¹⁷ Apesar do aumento de condutividade a amostra preparada com 10 %-p apresentou maior diâmetro médio quando comparada à solução contendo 8 %-p, levando a constatar que o efeito do aumento de viscosidade superou o efeito do aumento de condutividade.

Os parâmetros de solução e processo afetam significativamente a morfologia das fibras obtidas por eletrofiação. O aumento da concentração e, por consequência, aumento da viscosidade favorece a formação de fibras com maior diâmetro. Em contrapartida, o aumento da condutividade diminui o diâmetro da fibra, porém em alguns casos a concentração anula o efeito da variação da condutividade. A amostra contendo 8 %-p apresentou pontos de aglomeração entre as fibras e quebra de continuidade, provavelmente causada pela evaporação incompleta do solvente e instabilidade do jato por conta da menor concentração, porém foi observado menor diâmetro médio quando comparadas as fibras preparadas com 10 %-p. O diâmetro da fibra pode afetar a adesão e proliferação celular.¹⁸ Em síntese, apesar de apresentarem maior diâmetro médio, as fibras com 10 %-p resultaram em fibras mais uniformes, lisas e contínuas.

CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES E MEMBRANA DE PVA CONTENDO AGENTE RETICULANTE

A reticulação da membrana é um importante processo que pode influenciar na permeabilidade da célula, de forma que, altas concentrações de agente reticulante pode afetar negativamente na atividade celular, sendo necessário utilizar uma concentração adequada. Desta forma, foi adicionado ácido cítrico a fim de avaliar o processo de reticulação. Foram realizadas medidas de pH e condutividade iônica como apresentadas na Tabela 4. Em suma, foi possível observar redução nos valores de pH e aumento de condutividade iônica.

Tabela 4. Medidas de pH e condutividade iônica das soluções de PVA e PVA 5 %-p de ácido cítrico.

	pH	Condutividade iônica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
PVA	5,489	695,0
PVA-5AC	3,077	802,4

A morfologia das fibras está diretamente relacionada com os parâmetros de solução. Como esperado, o pH das soluções diminuiu com a adição de AC devido à natureza ácida dos ácidos policarboxílicos. Em contrapartida, houve aumento da condutividade iônica, que provavelmente ocorreu por conta do aumento da densidade de carga média disponível na solução. De acordo com estudos, a adição de sais ou outros aditivos (NaCl , CaCl_2 , CuCl_2 , AgNPs, AuNPs) permite a melhora na condutividade iônica solução.¹⁹

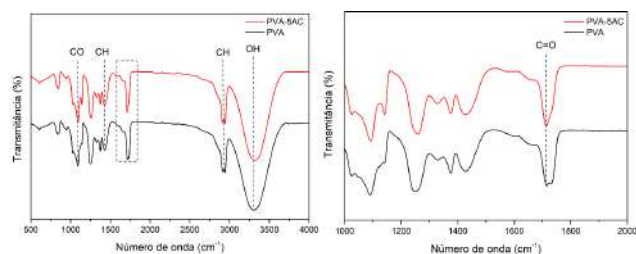


Figura 2. Espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier das membranas das membranas de PVA e PVA contendo 5 %-p de ácido cítrico nas regiões espectrais de 500 a 4000 cm^{-1} e 1000 a 2000 cm^{-1} .

Os espectros de FTIR (Figura 2) foram realizados para confirmar a reação de reticulação ocasionada pela adição de ácido cítrico. A banda característica de PVA pode ser observada em torno de 3300 cm^{-1} e é associada a ligações de hidrogênio intermoleculares do estiramento O-H.²⁰ A banda com picos em 2941 e 2909 cm^{-1} podem corresponder as vibrações de estiramento C-H. A banda em aproximadamente 1425 cm^{-1} deve estar associada a vibração de flexão C-H.²¹ Em 1092 cm^{-1} alongamento C-O.²² Finalmente, um indicativo de reticulação pode ser observado pelo deslocamento da banda C=O em torno de 1700 cm^{-1} , bem como pelo aumento da intensidade que ocorreu devido à exposição das membranas a alta temperatura que possibilitou a reação de esterificação.^{20,23}

CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO E MEMBRANA À BASE DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO (PVA) CONTENDO HIDROXIAPATITA (HA)

Considerando que a adição de partículas de HA pode interferir nas propriedades da solução, um novo estudo foi realizado a fim de verificar os efeitos causados nos parâmetros de pH, condutividade iônica e viscosidade e os resultados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Medidas de pH, condutividade iônica e viscosidade das soluções de PVA contendo 5, 10 e 15 %-p de hidroxiapatita.

	pH	Condutividade iônica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Viscosidade (mPa.s)
PVA-5AC-5HA	3,952	1632,0	820,7
PVA-5AC-10HA	4,006	1687,0	1025,3
PVA-5AC-15HA	4,197	1774,0	1047,6

Por meio da análise dos resultados apresentados na Tabela 5 é possível observar que houve aumento em todos os parâmetros, ou seja, pH, condutividade iônica e viscosidade. Como dito anteriormente, os parâmetros de solução estão diretamente ligados a morfologia das fibras, podendo alterar sua aparência. Estudos relatam que a condutividade da solução depende fortemente do pH podendo ser alterado tanto pela adição de sais ou ácidos quanto pela adição de partículas para potencializar o efeito do material.²⁴

Tabela 6. Medidas de diâmetro médio das membranas à base PVA contendo 5, 10 e 15 %-p de hidroxiapatita.

	Diâmetro médio (nm)
PVA-5AC-5HA	262,7 \pm 30,6
PVA-5AC-10HA	288,4 \pm 37,6
PVA-5AC-15HA	299,3 \pm 33,7

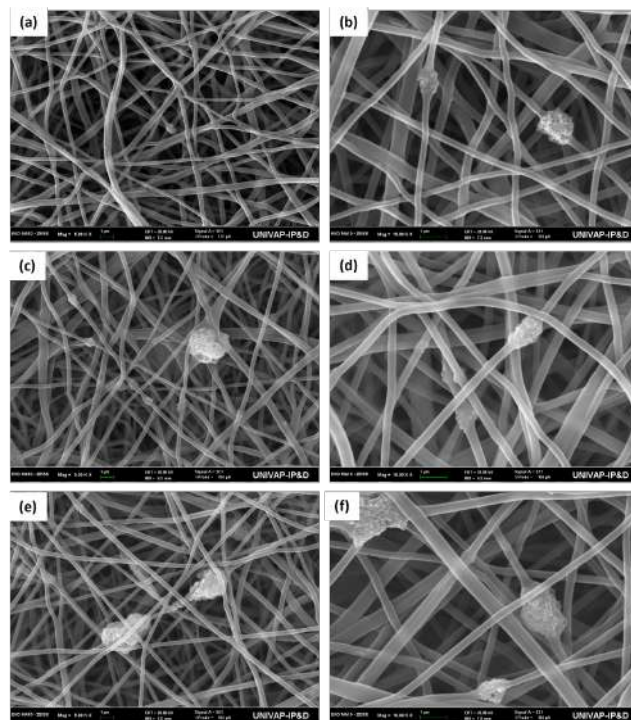


Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de (a,b) PVA-5AC-5HA, (c,d) PVA-5AC-10HA (e,f) PVA-5AC-15HA com aumento de 5000 X e 10000 X, respectivamente.

Tabela 6. Medidas de diâmetro médio das membranas à base PVA contendo 5, 10 e 15 %-p de hidroxiapatita.

	Diâmetro médio (nm)
PVA-5AC-5HA	262,7 \pm 30,6
PVA-5AC-10HA	288,4 \pm 37,6
PVA-5AC-15HA	299,3 \pm 33,7

A microscopia eletrônica de varredura confirmou a formação de fibras com média de diâmetro variando de 299 a 262 nm, sendo que, a presença de HA promoveu aumento na faixa de tamanho. Todas as amostras apresentaram morfologia sem a presença de “beads”, logo, é possível afirmar que os parâmetros de solução, como concentração

e viscosidade e parâmetros de eletrofição, como tensão e vazão foram adequados para a produção das fibras. Porém após a adição de HA foi possível observar que por conta do maior tamanho das partículas causado pela aglomeração entre elas, não houve incorporação dentro das fibras, entre elas. Além disso, foi possível observar também que a membrana PVA-5AC-5HA apresentou menor diâmetro médio quando comparada as outras, possivelmente por conta do aumento de condutividade. Embora as membranas PVA-5AC-10HA e PVA-5AC-15HA apresentaram maior diâmetro médio e apesar do aumento da condutividade, provavelmente causado pelo aumento da viscosidade da solução, a presença de HA influencia nas propriedades morfológicas das fibras. Anteriormente, Wuriatika et al.²⁵ apresentou resultados similares, de forma que, a incorporação de HA aumentou o diâmetro médio das nanofibras quando comparado a nanofibras produzidas com PVA puro.

A Tabela 7 apresenta os resultados da análise de EDS das membranas contendo 5, 10 e 15 %-p de HA, nos quais é possível confirmar que de fato houve aumento da concentração HA.

Tabela 7. Análises de EDS das membranas contendo 5, 10 e 15 %-p de hidroxiapatita.

Composição química (%-p)	C	O	Ca	P
PVA-5AC-5HA	51,68	44,54	2,52	1,26
PVA-5AC-10HA	55,85	38,50	3,60	2,04
PVA-5AC-15HA	47,54	41,93	6,89	3,65

A Figura 4 apresenta os difratogramas de raios X das membranas de PVA e PVA contendo 5, 10 e 15 %-p de HA.

Os difratogramas de raios X foram obtidos a fim de investigar a presença de HA nas nanofibras. A análise de DRX das membranas preparadas com PVA puro revela um pico em $2\theta = 19,5^\circ$ indicando que a natureza semicristalina do material eletrofiado foi preservada e nenhum outro pico foi observado.²⁶ Por outro lado, após a incorporação de HA

foi possível observar a formação de picos característicos do componente. As membranas PVA-5AC-10HA e PVA-5AC-15HA apresentaram picos característicos de HA ($2\theta = 25,90^\circ, 31,77^\circ$ e $32,90^\circ$)²⁷ mais definidos quando comparados a membrana preparada com menor concentração de HA. A intensidade dos picos aumentou conforme aumento da concentração de HA.

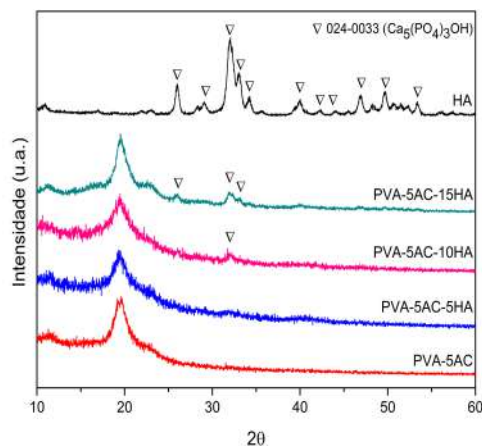


Figura 4. Difratogramas de raios X das membranas de PVA e PVA contendo 5, 10 e 15 %-p de HA.

A Figura 5 apresenta os espectros FTIR das membranas de PVA e PVA contendo 5, 10 e 15 %-p de HA.

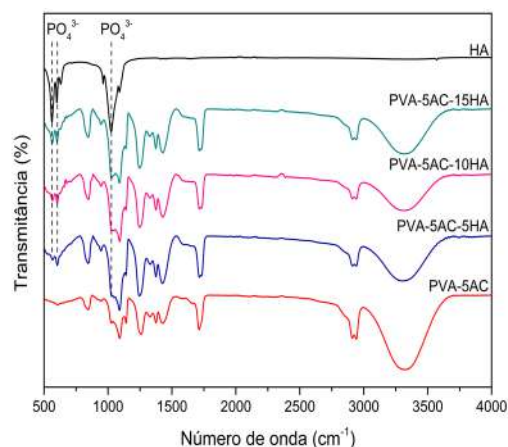


Figura 5. Espectros FTIR das membranas das membranas de PVA-AC e PVA-AC contendo 5, 10 e 15 %-p de HA.

A análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de *Fourier* foi realizada para verificar as mudanças na ligação química de PVA com HA durante a produção das membranas. Os espectros apresentaram bandas características correspondentes ao PVA como discutido anteriormente, mas após a adição de HA houve alterações na conformação das bandas. A diminuição da banda de absorção obtida em aproximadamente 3500 e 3000 cm^{-1} corresponde à interação do grupo -OH presente tanto no PVA quanto na HA, colaborando com a formação de fortes ligações entre os componentes.^{27, 28} O aumento da intensidade do pico em aproximadamente 1030 cm^{-1} em função do aumento da concentração de HA pode ser devido à vibração de estiramento do íon fosfato (PO_4^{3-}) presente no componente. Outros picos característicos de HA também foram identificados na matriz PVA-HA em aproximadamente 560 cm^{-1} e 601 cm^{-1} , confirmando a presença de HA nas membranas.²⁹

Conclusão

O interesse em produzir biomateriais que imitam as propriedades funcionais da matriz extracelular tem aumentado significativamente e a eletrofiação surgiu como uma técnica atraente devido à sua capacidade de produzir fibras. Vários componentes funcionais podem ser adicionados de forma conveniente nas membranas, e através da complementação e correlação das propriedades do polímero utilizado e o componente, biomateriais com propriedades superiores são obtidos.

A concentração é um dos parâmetros que pode ser alterado para a produção de membranas com características distintas. As membranas preparadas com 8 %-p apresentaram menor diâmetro médio quando comparadas as contendo 10 %-p, porém foram observados pontos de aglomeração entre as fibras, causados provavelmente pela não evaporação completa do solvente. Em contrapartida, as membranas preparadas com 10 %-p apresentaram morfologia mais contínua e lisa.

A membrana à base de PVA contendo ácido cítrico adquiriu estabilidade em água, como apresentado na análise de FTIR comprovando a eficiência do ácido policarboxílico

como agente reticulante. Além disso, o tratamento térmico realizado após a produção das membranas, não afetou a morfologia das membranas, embora tenha promovido a diminuição do diâmetro médio.

A adição de HA na solução polimérica foi confirmada por meio das análises realizadas. As membranas preparadas com HA não apresentaram a formação de “beads”, dessa forma, os parâmetros de solução e eletrofiação foram adequados, além disso, as fibras apresentaram menor diâmetro quando comparadas as fibras de PVA puro.

Concluindo, estudos acerca da dispersão de HA e ensaios físicos e biológicos posteriores, ainda precisam ser realizados a fim de verificar as propriedades mecânicas e biológicas do biomaterial produzido, para que, desta forma, possa se comprovar a sua eficiência.

Referências

1. UYAR, T.; KNY, E. *Electrospun materials for tissue engineering and biomedical applications: research, design and commercialization*. 1. Ed. Woodhead Publishing, **2017**. 420 p.
2. AGARWAL, S.; WENDORFF, J. H.; INER, A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer*, v. 49, n. 26, p. 5603-5621, **2008**.
3. AL-ENIZI, A. M.; ZAGHO, M. M.; ELZATAHRY, A. A. Polymer-based electrospun nanofibers for biomedical applications. *Nanomaterials*, v. 8, n. 4, p. 259, **2018**.
4. PETER, M. X.; ZHANG, R. Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 46, n.1, p. 60-72, **1999**.
5. ZHANG, X. et al. The design and biomedical applications of self-assembled two-dimensional organic biomaterials. *Chemical Society Reviews*, v. 48, n. 23, p. 5564-5595, **2019**.
6. ROGINA, A. Processo de eletrofiação: Método de preparação versátil para polímeros biodegradáveis e naturais e sistemas biocompósitos aplicados em engenharia de tecidos e liberação de drogas. *Applied Surface Science*, v. 296, p.221-230, **2014**.
7. SHANKHWAR, N. et al. Novel polyvinyl alcohol-bioglass 45S5 based composite nanofibrous membranes as bone scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, v. 69, p. 1167-1174, **2016**.
8. HUSAIN, M. S. B. et al. Synthesis of PVA/PVP based hydrogel for biomedical applications: a review. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, v. 40, n. 20, p. 2388-2393, **2018**.

9. ISLOOR, A. M. et al. Calcium phosphate bioceramics with polyvinyl alcohol hydrogels for biomedical applications. *Materials Research Express*, v. 6, n. 12, p. 125404, **2019**.
10. CHEN, Q. et al. Electrospun chitosan/PVA/bioglass Nanofibrous membrane with spatially designed structure for accelerating chronic wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, v. 105, p. 110083, **2019**.
11. MAWUNTU, V. J.; YUSUF, Y. Porous structure engineering of bioceramic hydroxyapatite-based scaffolds using PVA, PVP, and PEO as polymeric porogens. *Journal of Asian Ceramic Societies*, v. 7, n. 2, p. 161-169, **2019**.
12. SALIM, S. A. et al. Influência da incorporação de quitosana e hidroxiapatita nas propriedades de mantas nanofibras de PVA/HA eletrofiadas para regeneração do tecido ósseo: otimização de nanofibras e avaliação in vitro. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 62, p.102417, **2021**.
13. PIRES, L. C. A. et al. Evaluation of osteoconduction of a synthetic hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate block fixed in rabbit mandibles. *Materials*, v. 13, n. 21, p. 4902, **2020**.
14. MARINS, N. H. Membranas Nanofibras Obtidas por Electrospinning Contendo Nanopartículas de Pentóxido de Níbio e suas Aplicações em Biomateriais. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Pelotas, **2019**.
15. BELLANI, C. F. Biocompósitos eletrofiados e microfabricação 3D em engenharia do tecido ósseo. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, **2018**.
16. BHATTARAI, D. P. et al. A review on properties of natural and synthetic based electrospun fibrous materials for bone tissue engineering. *Membranes*, v. 8, n. 3, p. 62, **2018**.
17. CORREIA, G. S. Fabricação de nanofibras de poli (álcool vinílico)/hidroxiapatita-alginato por eletrofição para aplicação na engenharia de tecido ósseo. **2022**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Pernambuco, **2022**.
18. BARBIST, L. L. S. Princípios biológicos e procedimentos da regeneração tecidual na odontologia: Uma revisão de literatura. Monografia (Trabalho de conclusão de curso), Universidade Cesumar, **2021**.
19. FÉLIX, F. T. Síntese e caracterização de compósitos de fosfato de cálcio e nanofibras de celulose visando aplicação no reparo de tecidos ósseos. Monografia (Trabalho de conclusão de curso), Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, **2017**.
20. LIMBERGER, J. R. Nanofibras de PVA/PAA com incorporação de hidroxiapatita e sua aplicação em sistemas osteocondutores. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2015**.
21. SOUZA, S. O. L. Desenvolvimento e Caracterização de Nanofibras Obtidas pela Técnica de Eletrofição Coaxial Visando a Liberação de Bevacizumabe para o Tratamento de Degeneração Macular Relacionada a Idade. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Minas Gerais, **2016**.
22. CUI, Z. et al. Electrospinning and crosslinking of polyvinyl alcohol/chitosan composite nanofiber for transdermal drug delivery. *Advances in Polymer Technology*, v. 37, n. 6, p. 1917-1928, **2018**.
23. TEIXEIRA, M. A.; AMORIM, M. T. P.; FELGUEIRAS, H. P. Poly (vinyl alcohol)-based nanofibrous electrospun scaffolds for tissue engineering applications. *Polymers*, v. 12, n. 1, p. 7, **2019**.
24. DO NASCIMENTO, F. C. et al. Formulation and characterization of crosslinked polyvinyl alcohol (PVA) membranes: effects of the crosslinking agents. *Polymer Bulletin*, v. 78, n. 2, p. 917-929, **2021**.
25. GAUTAM, L. et al. A review on carboxylic acid cross-linked polyvinyl alcohol: Properties and applications. *Polymer Engineering & Science*, v. 62, n. 2, p. 225-246, **2022**.
26. LIM, DONG-JIN. Cross-Linking Agents for Electrospinning-Based Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 10, p. 5444, **2022**.
27. JEONG, S.; OH, S. Antiacne effects of PVA/ZnO composite nanofibers crosslinked by citric acid for facial sheet masks. *International Journal of Polymer Science*, v. 2022, **2022**.
28. GHORPADE, V. S. et al. Citric acid crosslinked carboxymethylcellulose-polyvinyl alcohol hydrogel films for extended release of water-soluble basic drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 52, p. 421-430, **2019**.
29. MOSAAD, Kareem E. et al. New prospects in nano phased co-substituted hydroxyapatite enrolled in polymeric nanofiber mats for bone tissue engineering applications. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 49, n. 9, p. 2006-2029, **2021**.
30. BARATA, T. R. A. S. N. Conceção e Otimização de um Sistema de Eletrofiagem para a Produção de Nanofibras de Poliamida. Tese (Doutorado), Universidade Beira Interior, **2020**.
31. BOMBIN, A. D., DUNNE, N. J., MCCARTHY H. O. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. *Materials Science & Engineering C*, v. 114, p. 110994, **2020**.
32. ROGINA, A. Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. *Applied Surface Science*, v. 296, p. 221-230, **2014**.
33. ANGAMMANA, C. J., JAYARAM, S. H. Analysis of the effects of solution conductivity on electrospinning process and fiber morphology. *IEEE Transactions on industry applications*, v. 47, n. 3, p. 1109-1117, **2011**.

34. PELIPENKO, Jan; KOCBEK, Petra; KRISTL, Julijana. Nanofiber diameter as a critical parameter affecting skin cell response. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 66, p. 29-35, **2015**.
35. BARAKAT, N. A. M. et al. Spider-net within the N6, PVA and PU electrospun nanofiber mats using salt addition: Novel strategy in the electrospinning process. *Polymer*, v. 50, n. 18, p. 4389-4396, **2009**.
36. NATARAJ, D.; REDDY, R.; REDDY, N. Crosslinking electrospun poly (vinyl) alcohol fibers with citric acid to impart aqueous stability for medical applications. *European Polymer Journal*, v. 124, p. 109484, **2020**.
37. FRAGA, G. N. Curativos produzidos a partir de nanofibras de PVA contendo cloranfenicol. Dissertação (Mestrado em química), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, **2022**.
38. YU, D. et al. Fabrication, characterization, and antibacterial properties of citric acid crosslinked PVA electrospun microfibre mats for active food packaging. *Packaging Technology and Science*, v. 34, n. 6, p. 361-370, **2021**.
39. SHI, J. J.; YANG, E. L. Green electrospinning and crosslinking of polyvinyl alcohol/citric acid. *Journal of Nano Research*, v. 32, p. 32-42, **2015**.
40. SON, W. K. et al. Effect of pH on electrospinning of poly (vinyl alcohol). *Materials letters*, v. 59, n. 12, p. 1571-1575, **2005**.
41. WURIANTIKA, M. I. et al. Nanostructure, porosity and tensile strength of PVA/Hydroxyapatite composite nanofiber for bone tissue engineering. *Materials Today: Proceedings*, v. 44, p. 3203-3206, **2021**.
42. KIM, G. Fabrication of bio-nanocomposite nanofibers mimicking the mineralized hard tissues via electrospinning process. *Nanofibers*, p. 69-88, **2010**.
43. KAUR, T.; THIRUGNANAM, A.; PRAMANIK, K. Tailoring the in vitro characteristics of poly (vinyl alcohol)-nanohydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Polymer Engineering*, v. 36, n. 8, p. 771-784, **2016**.
44. ANJANEYULU, U. et al. Fabrication and characterization of Ag doped hydroxyapatite-polyvinyl alcohol composite nanofibers and in vitro biological evaluations for bone tissue engineering applications. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 81, n. 3, p. 750-761, **2017**.
45. KESMEZ, Ö. Preparation of anti-bacterial biocomposite nanofibers fabricated by electrospinning method. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, v. 7, n. 1, p. 125-142, **2020**.

Isabela S. Gonçalves¹, João H. Lopes² & Ivone R. Oliveira^{1*}

¹Laboratório de Processamento e Caracterização de Materiais, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Av. Shishima Hifumi, 2911, CEP 12244-000, Brasil.

²Departamento de Química, Divisão de Ciências Fundamentais (IEF), Instituto Tecnológico de Aeronáutica - ITA, São José dos Campos. Praça Marechal Eduardo Gomes, 50, CEP 12228-900, Brasil.

*E-mail: ivonero@univap.br