

1 2 9 0



UNIVERSIDADE DE  
**COIMBRA**

Maria Eduarda Delfim Oliveira

**PREPARAÇÃO DE MATERIAIS COMPÓSITOS PARA  
FABRICO ADITIVO E AVALIAÇÃO DA SUA  
CAPACIDADE PARA IMPRESSÃO 4D**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Engenharia de Materiais orientada pela Professora Doutora Ana Paula da Fonseca Piedade e pela Doutora Ana Catarina da Silva Pinho e apresentada ao Departamento de Mecânica da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra

Outubro de 2021



1 2



9 0

FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

# **Preparação de materiais compósitos para fabrico aditivo e avaliação da sua capacidade para impressão 4D**

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de  
Materiais

## **Preparation of composite materials for additive manufacturing and assessment of their 4D printing capability**

**Autor**

**Maria Eduarda Delfim Oliveira**

**Orientadores**

**Ana Paula da Fonseca Piedade**

**Ana Catarina da Silva Pinho**

**Júri**

**Presidente**      **Doutora Patrícia Freitas Rodrigues**  
Investigadora da Universidade de Coimbra

**Vogais**          **Doutor Akel Ferreira Kanaan**  
Investigador da Universidade de Coimbra

**Orientador**     **Doutora Ana Catarina da Silva Pinho**  
Investigadora da Universidade de Coimbra

---

**Coimbra, outubro de 2021**

*It always seems impossible until it's done.*

Nelson Mandela

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha família por me ter proporcionado todas as condições para chegar até aqui. Agradeço-lhes também pelo apoio incondicional e por nunca me terem deixado desistir.

À Doutora Ana Catarina Pinho um enorme obrigada pela paciência, pela ajuda e por todos os conhecimentos transmitidos. Agradeço também à Professora Doutora Ana Paula Piedade pela oportunidade de fazer parte deste projeto e por me ter acolhido no DEM.

Quero agradecer à minha irmã de coração Vera por ter sido o meu pilar nesta cidade durante os últimos 5 anos e por ter estado sempre pronta a ajudar no que fosse preciso.

Por último, e não menos importante, agradeço a todos aqueles que fizeram parte do meu percurso académico na cidade de Coimbra.

A todos, um enorme obrigada!

## Resumo

O fabrico aditivo (FA) permite a obtenção de estruturas tridimensionais (3D) com geometrias complexas, através da deposição de materiais camada a camada. No entanto, a tecnologia é limitativa pois, uma vez impressas, as estruturas ficam com a forma definitiva e inalterável. Por este motivo, surgiu a “impressão 4D”, que corresponde à impressão de estruturas 3D que posteriormente são capazes de mudar de forma ao longo do tempo, mediante um estímulo externo. No ramo da impressão 4D, os materiais mais comumente utilizados incluem os polímeros termoplásticos e os metais. Todavia, é mais vantajosa a utilização de materiais biodegradáveis de origem natural ou sintética, uma vez que contribui para a diminuição da pegada ecológica e dos problemas ambientais associados aos plásticos derivados do petróleo. A celulose é o biopolímero mais abundante na natureza e é obtida a partir de fontes renováveis, tais como árvores, fungos e outros microrganismos. Contudo, a celulose produzida por bactérias é uma alternativa ecologicamente mais sustentável na medida em que não acarreta problemas relacionados com a sua extração e processamento. A celulose bacteriana (CB), por possuir excelentes propriedades mecânicas e elevada pureza química, tem vindo a ser integrada em compósitos como matriz ou reforço. Já a poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) é um polímero sintético biodegradável que apresenta algumas limitações a nível das suas propriedades mecânicas e, para aplicações que requerem um elevado desempenho mecânico, é sugerida a sua combinação com materiais que atuem como reforço.

Neste estudo, foi produzido um compósito constituído por materiais com molhabilidade díspares, de forma a obter uma estrutura com propriedades adaptativas e com capacidade de resposta a um estímulo externo. Assim, uma matriz PCL 6800 foi reforçada através da incorporação de 1% de CB produzida pela bactéria *Duganella sp. estirpe AI-17* (CB AI-17). O compósito foi caracterizado quanto à sua estrutura química, comportamento térmico e molhabilidade e, para além disso, foram realizados ensaios de sorção e degradação hidrolítica e estudado o efeito 4D do material.

Os ensaios de sorção em água e degradação hidrolítica demonstraram que houve, respetivamente, uma maior absorção de água e degradação nos compósitos PCL + CB do

que na PCL isolada, devido ao carácter hidrófilo da CB. Na avaliação da capacidade 4D, apenas os compósitos, por apresentarem materiais com comportamentos diferentes perante a água, mudaram de forma quando submersos em água. Assim, foi comprovada que a diferença de molhabilidade provocou um efeito 4D nos filamentos.

**Palavras-chave:** celulose bacteriana, poli( $\epsilon$ -caprolactona), impressão 4D.

## Abstract

Additive manufacturing makes it possible to obtain three-dimensional (3D) structures with complex geometries, through layer-by-layer deposition of materials. However, the technology is limited because, once printed, the structures have their final and unalterable shape. For this reason, “4D printing” was created, which is based on the printing of 3D structures that are later able to change shape over time by an external stimulus. The most common materials used in 4D printing include thermoplastic polymers and metals. However, the use of biodegradable natural or synthetic materials is more advantageous, as it contributes to reducing the ecological footprint and environmental problems associated with petroleum-based plastics. Cellulose is the most abundant biopolymer in nature and is obtained from renewable sources such as trees, fungi, and other microorganisms. Nevertheless, cellulose produced by bacteria is an ecologically more sustainable alternative that raises no problems related to its extraction and processing. Bacterial cellulose, due to its excellent mechanical properties and high chemical purity, has been integrated into composites as a matrix or reinforcement. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) is a synthetic biodegradable polymer that has some limitations concerning its mechanical properties and, for applications that require high mechanical performance, its combination with reinforcement materials is suggested.

In this study, a composite involving materials with different wettability was produced to obtain a structure with adaptive properties and responsiveness to an external stimulus. Thus, poly( $\epsilon$ -caprolactone) 6800 matrix was reinforced with 1% of bacterial cellulose produced by *Duganella sp. Strain Al-17*. The composite was characterized concerning its chemical structure, thermal behavior, and wettability. In addition, water sorption and hydrolytic degradation tests were carried out and the 4D effect of materials was studied.

The water sorption and hydrolytic degradation tests showed that there was, respectively, greater water absorption and degradation in PCL+CB composites than in isolated PCL, due to the hydrophilicity of CB. In the evaluation of the 4D capacity, only composites, changed shape when submerged in water, as they are made up of materials with



different wettability. Thus, it was proven that the difference in wettability led to distinct responses to humidity, leading to the 4D effect.

**Keywords** bacterial cellulose, poly( $\epsilon$ -caprolactone), 4D printing

## Índice

Índice De Figuras.....	viii
Índice De Tabelas .....	xi
Simbologia E Siglas.....	xii
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
1.1.    Fabrico Aditivo.....	3
1.1.1.    Materiais em FFF.....	5
1.1.2.    Impressão 4D.....	6
1.1.3.    Estímulos Externos .....	8
1.1.3.1.    Temperatura.....	8
1.1.3.2.    Humidade.....	8
1.1.3.3.    Radiação Ultravioleta .....	9
1.1.3.4.    Atividade Enzimática .....	10
1.2.    Compósitos de matriz polimérica .....	11
1.2.1.    Celulose Bacteriana .....	12
1.2.2.    Poli( $\epsilon$ -caprolactona).....	15
1.2.3.    Compósitos com reforço de celulose bacteriana .....	17
CAPÍTULO 2 – MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS .....	19
2.1.    Materiais .....	19
2.2.    Preparação do compósito.....	19
2.3.    Técnicas de Caracterização .....	20
2.3.1.    Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.....	20
2.3.2.    Calorimetria Diferencial de Varrimento.....	21
2.3.3.    Ângulo de Contacto Estático .....	21
2.3.4.    Sorção de água e degradação hidrolítica .....	23
2.3.5.    Ensaio 4D.....	24

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
3.1. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier .....	26
3.2. Calorimetria diferencial de varrimento.....	28
3.3. Ângulo de contacto estático.....	29
3.4. Sorção de água e degradação hidrolítica .....	30
3.5. Ensaio 4D.....	34
CONCLUSÕES FINAIS .....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
APÊNDICE A – FOTOGRAFIAS DA CB Al-17.....	49
APÊNDICE B – FOTOGRAFIAS DO COMPÓSITO DE PCL 6800 + 1% CB Al-17 .....	49
APÊNDICE C – CURVAS DSC DOS MATERIAIS EM ESTUDO .....	50
APÊNDICE D – FOTOGRAFIA DO ÂNGULO DE CONTACTO ENTRE A ÁGUA E A SUPERFÍCIE DOS MATERIAIS .....	51
APÊNDICE E – FOTOGRAFIAS DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS AO ENSAIO DE SORÇÃO EM ÁGUA/DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA.....	52

## Índice De Figuras

Figura 1.1 – Esquema representativo de um equipamento de FFF (adaptado) [5].....	4
Figura 1.2 – Princípio básico de funcionamento do FFF: a – modelo 3D virtual criado com recurso ao CAD; b – <i>slicing</i> do modelo 3D; c – impressão 3D [7].....	4
Figura 1.3 – Formação do complexo enzima-substrato – ajuste induzido (adaptado) [18] . .....	11
Figura 1.4 – Estrutura química da celulose [52].....	13
Figura 1.5 – Processo de biossíntese da celulose bacteriana.....	14
Figura 1.6 – Estrutura química da unidade estrutural da PCL [64] .....	15
Figura 1.7 – Materiais já utilizados para melhorar as propriedades da PCL (adaptado) [63]. .....	16
Figura 2.1 – Ilustração do sistema de medição do ângulo de contacto (adaptado [76]).....	22
Figura 2.2 – Caracterização de uma superfície através do ângulo de contacto (adaptado) [80]. .....	23
Figura 3.1 – Espectro FTIR da CB A1-17.....	26
Figura 3.2 – Espectro FTIR da PCL 6800.....	26
Figura 3.3 – Espectro FTIR do compósito de PCL 6800 + CB A1-17. ....	27
Figura 3.4 – Curva DSC da PCL 6800.....	28
Figura 3.5 – Curva DSC da CB A1-17 antes (a) e depois (b) do processo de secagem.....	28
Figura 3.6 – Curva DSC do compósito de PCL 6800 + 1% CB A1-17. ....	29
Figura 3.7– Variações percentuais da massa das amostras de matriz PCL 6800 submetidas aos ensaios de sorção durante 15 dias. ....	32
Figura 3.8 – Variações percentuais da massa das amostras de matriz PCL 8502 submetidas aos ensaios de sorção durante os 15 dias.....	32

Figura 3.9 – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos A constituídos pelo compósito de PCL 6800 + 1% CB Al-17 no início (t = 0h), na primeira alteração (t = 168h) e no fim do ensaio (t = 427,5h).....	35
Figura 3.10 – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos B constituídos pelo compósito de PCL 8502 + 1% CB Phyllo no início do ensaio (t = 0h), antes dos filamentos B2 e B3 partirem (t = 312h e t = 336h, respetivamente) e no fim do ensaio para o filamento B1 (t = 456h).....	35
Figura 3.11 – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos C constituídos por PCL 6800 e PCL 6800 + 1% CB Al-17 no início do ensaio (t = 0h), na primeira alteração (t = 192h, t = 24h e t = 48h para os filamentos C1, C2 e C3, respetivamente) e no fim do ensaio (t = 336h). ....	36
Figura 3.12 – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos D constituídos por PCL 8502 e PCL 8502 + 1% CB Phyllo no início do ensaio (t = 0h) e no fim do ensaio (t = 312h).....	36
Figura A1 – CB Al-17. ....	49
Figura A2 – CB Al-17 depois de moída. ....	49
Figura B1 – Compósito de PCL 6800 + 1 % CB Al-17. ....	49
Figura B2 – Compósito de PCL 6800 + 1 % CB Al-17 sob a forma de <i>pellets</i> . ....	50
Figura C1 – Curva DSC da PCL 6800 analisada com recurso ao software TA Instrument. ....	50
Figura C2 – Curva DSC do compósito de PCL 6800 + 1% CB Al-17 analisada com recurso ao software TA Instrument. ....	50
Figura D1 – Fotografia do ângulo de contacto entre a água e a PCL 6800.....	51
Figura D2 – Fotografia do ângulo de contacto entre a água e a CB Al-17. ....	52
Figura D3 – Fotografia do ângulo de contacto entre a água e o compósito PCL 6800 + 1% CB Al-17. ....	52

Figura E1 – Amostras secas submetidas ao ensaio de sorção em água/degradação hidrolítica. .....	52
Figura E2 – Amostras depois de submetidas ao ensaio de sorção em água/degradação hidrolítica.....	53

## Índice De Tabelas

Tabela 1.1 – Funções dos materiais inteligentes e a sua capacidade de transformação (adaptado) [20].	7
Tabela 1.2 – Propriedades físicas e químicas da celulose bacteriana e celulose vegetal (adaptado) [39].	12
Tabela 1.3 – Propriedades da celulose bacteriana produzida com culturas estáticas e agitadas (adaptado) [58].	15
Tabela 2.1 – Amostras submetidas aos ensaios de sorção e degradação hidrolítica e a sua constituição.	20
Tabela 2.2 – Composição dos filamentos produzidos e submetidos aos ensaios 4D.	25
Tabela 3.1 – Temperaturas de fusão e transição vítrea e entalpia de fusão da PCL 6800, da CB A1-17 (antes e depois do processo de secagem) e do compósito de PCL 6800 + CB A1-17.	29
Tabela 3.2 – Valor médio dos ângulos de contacto real e aparente entre a água e a superfície da PCL 6800 e do compósito, bem como o fator $r$ e a rugosidade.	30
Tabela 3.3 – Variações percentuais da massa das amostras submetidas ao ensaio de sorção durante 15 dias.	31
Tabela 3.4 – Massas iniciais e finais, em mg, e percentagem de perda de massa das amostras sujeitas à degradação hidrolítica.	33

## Simbologia E Siglas

### Simbologia

$m_f$  – massa final seca

$m_i$  – massa inicial seca

$m$  – massa após imersão em PBS

$M_w$  – peso moleuclar

$r$  – fator de rugosidade

$S_a$  – rugosidade média da superfície

$T_g$  – temperatura de transição vítrea

$T_m$  – temperatura de fusão

$\theta_w$  – ângulo de contacto de Wenzel/aparente

$\theta_Y$  – ângulo de contacto de Young/real

$\Delta H_m$  – entalpia de fusão

### Siglas

3D – Tridimensional

ABS – Acrilonitrilo Butadieno Estireno

ATR – Refletância Total Atenuada

CAD – Desenho Assistido por Computador

CB – Celulose Bacteriana

CS – Celulose Sintetase

CV – Celulose Vegetal

DESS – Solventes Eutéticos Profundos

DLP – Processamento Digital da Luz

DSC – Calorimetria Diferencial de Varrimento

EVA – Poli(etileno de acetato-vinilo)



FA – Fabrico Aditivo

FDA – *Food and Drug Administration*

FFF – Fabrico por Filamento Fundido

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

GK – Glucocinase (GK)

ILs – Líquidos iónicos

IV – Infravermelho

LOM – Fabricação de Objetos Laminados

NaOH – Hidróxido de Sódio

NMMO – N-óxido N-metilmorfolina

PBS – Tampão Fosfato Salina

PCL – Poli( $\epsilon$ -caprolactona)

PEG – Poli(etilenoglicol)

PEGDA – Poli(diacrilato de etilenoglicol)

PFTE – Politetrafluoretileno

PGM – Fosfoglucomutase (PGM)

PLA – Poli(ácido láctico)

SLA – Estereolitografia

SLS – Sinterização Seletiva por Laser

SME – Efeito de Memória de Forma

UDPGlc – Uridina di-fosfato-glucose

UGPase – UDPGlc-pirofosforilase

UV – Ultravioleta

## INTRODUÇÃO

O fabrico aditivo (FA) é um dos tópicos mais recentes no que diz respeito à ciência dos materiais e permite a obtenção de estruturas tridimensionais (3D) com geometrias complexas, através da deposição de materiais camada a camada. No entanto, uma das grandes desvantagens do FA é a falta de características adaptativas e de transformação das estruturas obtidas. Tal facto torna a tecnologia limitativa pois, uma vez impressas, as estruturas ficam com a forma definitiva e inalterável. Por este motivo, foi introduzida a noção de “impressão 4D”, que é sinónimo de impressão de estruturas 3D que posteriormente são capazes de mudar de forma ao longo do tempo, mediante um estímulo externo (temperatura, humidade, radiação, atividade enzimática, etc.). Os materiais resultantes da impressão 4D são comumente denominados de materiais “inteligentes”, visto ser possível prever o seu comportamento e transformação de forma através da sua programação prévia e do estímulo. Tais materiais abriram um campo de investigação inteiramente novo com uma ampla gama de possíveis aplicações, tais como *stents* vasculares, tecidos inteligentes e sistemas de libertação controlada de fármacos. Contudo, o sucesso das estruturas nestas aplicações depende dos materiais que integram a sua constituição, essencialmente as suas propriedades físico-químicas, mecânicas e biocompatibilidade. Uma alternativa para contornar esta limitação e melhorar as propriedades de alguns materiais consiste na produção de materiais compósitos. Um material compósito é constituído, essencialmente, pela matriz e pelo reforço. Este último é utilizado para incrementar as propriedades físico-químicas, biológicas e/ou mecânicas da matriz inicial, de modo que o compósito obtido apresente propriedades superiores a cada um dos componentes isolados.

No âmbito da impressão 4D, os materiais mais recorrentes incluem os polímeros termoplásticos e os metais, sendo mais vantajosa a utilização de materiais biodegradáveis de origem natural ou sintética, uma vez que contribui para a diminuição da pegada ecológica e dos problemas ambientais associados aos plásticos derivados do petróleo. A celulose é o biopolímero mais abundante na natureza e é obtida a partir de fontes renováveis, tais como árvores e algodão. Contudo, a celulose produzida por bactérias é uma alternativa

ecologicamente mais sustentável na medida em que não acarreta problemas relacionados com a sua extração e processamento. A celulose bacteriana (CB) é aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) e possui excelentes propriedades mecânicas, para além da sua elevada pureza química. Por esses motivos, a CB tem vindo a ser integrada em compósitos como matriz ou reforço. Neste sentido, há estudos que reportam a utilização do biopolímero na produção de dispositivos para o tratamento de queimaduras, bem como na reparação e substituição de tecidos cardiovasculares artificiais e ósseos. Já a poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) é um polímero sintético biodegradável, cujo uso em aplicações biomédicas também foi aprovado pela FDA. No entanto, o polímero apresenta limitações a nível das suas propriedades mecânicas e, para aplicações que requerem um elevado desempenho mecânico, é sugerida a sua combinação com materiais que atuem como reforço. Por esse motivo, neste estudo, o objetivo passou por reforçar uma matriz PCL com a incorporação de um reforço de CB, por forma a obter um compósito com propriedades adaptativas e com capacidade de resposta a um estímulo externo. Este fenómeno representa uma inovação no que concerne à fabricação de materiais compósitos

Esta dissertação está organizada em três capítulos. No Capítulo 1 é apresentada uma revisão bibliográfica sobre o fabrico aditivo de materiais compósitos poliméricos constituídos por celulose bacteriana e poli( $\epsilon$ -caprolactona). No Capítulo 2, são indicados os materiais e métodos experimentais, nomeadamente a produção e avaliação do compósito por diferentes técnicas de caracterização. Por último, no Capítulo 3, são apresentados e discutidos os resultados obtidos. No término da dissertação são enunciadas as principais conclusões e formuladas algumas sugestões que visam complementar este trabalho.

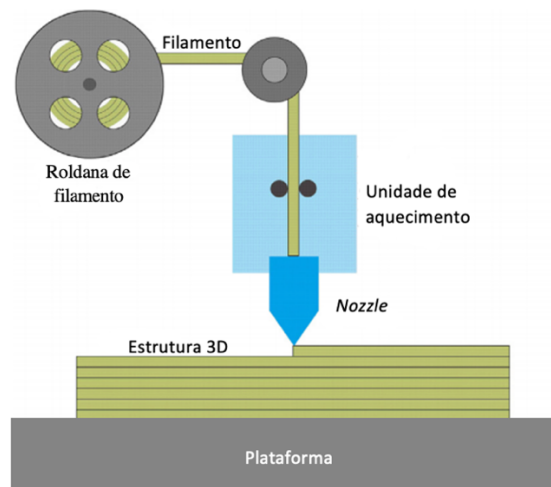
## CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Fabrico Aditivo

O fabrico aditivo (FA) é um termo que engloba um conjunto de técnicas que permitem a produção de materiais, através da sua deposição, geralmente camada a camada, a partir de modelos tridimensionais [1]. Deste modo, o FA permite a obtenção de estruturas totalmente personalizadas com elevado nível de complexidade geométrica e com tempo e custo de fabrico reduzidos, na maioria dos casos. De salientar ainda que o FA é considerado um meio de fabrico “verde”, uma vez que o desperdício produzido é praticamente nulo [2]. As técnicas de FA possuem aplicações em indústrias como a aeroespacial, para a criação de estruturas leves e complexas, a arquitetura, para a obtenção de modelos estruturais, e a biomédica, para a impressão de tecidos e órgãos [3].

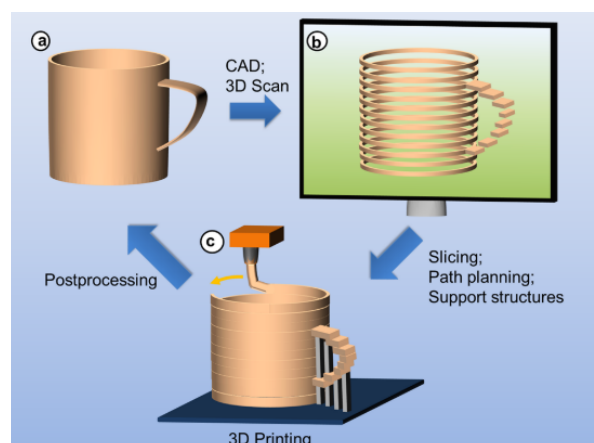
O FA inclui uma série de técnicas já completamente estabelecidas e uma infinidade de tecnologias experimentais em desenvolvimento. De entre as técnicas já estabelecidas podemos destacar a estereolitografia (SLA), a sinterização seletiva por laser (SLS), o fabrico por filamento fundido (FFF), a fabricação de objetos laminados (LOM), o processamento digital da luz (DLP) e as técnicas de impressão a jato [3].

De entre as técnicas mencionadas, o FFF, também conhecido como impressão 3D, é a mais popular no fabrico de estruturas poliméricas, tendo sido desenvolvida por Scott Crump no final dos anos 80 e comercializada a partir de 1990 [4]. A técnica envolve a extrusão de filamentos fundidos através do bico da extrusora (do inglês, *nozzle*) que são depositados, camada a camada, sob uma plataforma. Posteriormente, as camadas arrefecem e solidificam, formando uma estrutura 3D [5]. Na Figura 1.1 está representado um esquema ilustrativo do processo de FFF.



**Figura 1.1** – Esquema representativo de um equipamento de FFF (adaptado) [5].

Assim como muitas técnicas de FA, o processo de FFF começa com o desenvolvimento da ideia, que, posteriormente, é transformada num modelo 3D virtual por meio de um software de desenho assistido por computador (do inglês, *Computer Aided Design* – CAD). O modelo virtual criado é salvo num ficheiro com formato STL (do inglês, *Standard Triangle Language*), sendo de seguida transferido para um software de *slicing*, onde será dividido camada a camada, dando origem ao ficheiro final que será lido pela impressora 3D (*gcode*) [6]. Enquanto o ficheiro CAD apenas fornece o contorno das camadas, o *gcode* define qual será o preenchimento (do inglês, *infill*) de cada uma delas e o trajeto a percorrer pelo *nozzle*. Na Figura 1.2 está representado o princípio de funcionamento descrito.



**Figura 1.2** – Princípio básico de funcionamento do FFF: a – modelo 3D virtual criado com recurso ao CAD; b – *slicing* do modelo 3D; c – impressão 3D [7].

Existem vários parâmetros de impressão que podem ser manipulados de modo a controlar as características e propriedades finais da estrutura impressa. Tais parâmetros incluem o padrão e percentagem de *infill*, a velocidade de impressão, a temperatura do *nozzle* e da plataforma, o diâmetro do *nozzle*, a espessura da camada, entre outros [8]. Também é importante salientar que a viscosidade do material fundido deve ser tal que permita a sua extrusão e a manutenção da sua estrutura após impressão [3].

Em comparação com outras técnicas de FA, o FFF não requer a utilização de solventes e oferece diversas vantagens, tais como a facilidade no manuseio e processamento dos materiais, o baixo investimento inicial, a rapidez do processo e a possibilidade de personalização do processo e equipamento [9,10].

### **1.1.1. Materiais em FFF**

Os materiais mais utilizados no FFF são os polímeros, que desempenham um papel importante no avanço da impressão 3D de materiais multifuncionais e compósitos [11].

Geralmente, os materiais poliméricos podem ser divididos em 3 grupos distintos: os termoplásticos, os termoendurecíveis e os elastómeros [12]. Contudo, neste trabalho, é mais relevante distinguir os dois primeiros, de modo a verificar qual o mais apropriado para ser empregue no processo de FFF.

A principal diferença entre os dois polímeros reside no facto de os termoendurecíveis solidificarem de forma irreversível quando são aquecidos [13]. Durante o processo, as moléculas são ligadas quimicamente umas às outras, dando origem a redes complexas reticuladas, que dão origem a uma estrutura rígida e de forma inalterável [14]. Por outro lado, os termoplásticos podem ser reaquecidos, remodelados e arrefecidos conforme necessário, sem sofrerem degradação e/ou perda total das suas propriedades [13]. Por esse motivo, no âmbito da impressão 3D, são utilizados polímeros termoplásticos, acabando por limitar esta técnica a este tipo de materiais [10].

No que diz respeito à sua estrutura, os polímeros termoplásticos podem ser classificados como amorfos ou semicristalinos [13]. Os primeiros não têm qualquer tipo de organização estrutural na sua rede polimérica, enquanto os semicristalinos apresentam uma parte amorfa e outra onde as redes poliméricas estão dispostas com alguma ordem estrutural. Qualquer material amorfo exhibe apenas temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ). A partir dessa

temperatura, há mobilidade das cadeias amorfas, fazendo com que o material fique mais maleável. Por outro lado, os materiais semicristalinos, para além de  $T_g$ , apresentam temperatura de fusão ( $T_m$ ). Neste caso, acima da  $T_m$ , a parte cristalina do polímero funde, fazendo com que o material fique, não só maleável, mas também mais líquido [13].

Os materiais mais comumente utilizados na impressão 3D são o poli(ácido láctico) (PLA) e o acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), sendo que também é possível imprimir materiais compósitos com recurso a esta técnica [15]. Wendelll Coltro *et al.* [16] fabricaram, através do FFF, dispositivos microfluídicos de ABS para espectrometria de massa por ionização de spray assistida por papel. Os autores validaram o método para a análise qualitativa de tintas de caneta esferográfica, cafeína, xilose e lisozima. O mesmo grupo de investigadores descreveu a fabricação de plataformas microfluídicas integradas, contendo microcanais e elétrodos de deteção incorporados [17]. Estes últimos eram constituídos por PLA reforçado com nanotubos de carbono e, de seguida, foram integrados em canais microfluídicos compostos por ABS.

### 1.1.2. Impressão 4D

A falta de características adaptativas posteriormente à conformação por impressão é uma das grandes desvantagens da impressão 3D [18]. Deste modo, surgiu o conceito de impressão 4D, que abriu um campo de investigação inteiramente novo com uma ampla gama de possíveis aplicações, tais como *stents* vasculares, tecidos inteligentes e sistemas de libertação de fármacos [15]

A impressão 4D envolve a impressão de estruturas 3D que posteriormente são capazes de mudar de forma ao longo do tempo, mediante um estímulo externo [15]. A mudança deve ser reversível para que o termo 4D seja corretamente empregue.

Os materiais resultantes da impressão 4D são comumente denominados de materiais “inteligentes” visto ser possível prever o seu comportamento e transformação de forma através da sua programação prévia e do estímulo [15]. A Tabela 1.1 apresenta um resumo de alguns dos materiais considerados inteligentes utilizados na impressão 4D.

O efeito de memória de forma (do inglês, *Shape Memory Effect* – SME), tipicamente exibido por ligas metálicas e muitos polímeros, é definido como a capacidade

de permitir a mudança de forma programada e recuperar a forma inicial através da exposição a um determinado estímulo [19]. Os estímulos mais comuns incluem o aquecimento/arrefecimento (termo-responsivo), a luz (foto-responsivo), a água/humidade, solvente, enzimas e mudança de pH (químico-responsivos); a tensão/pressão (mecânico-responsivo); a corrente elétrica/voltagem (eletro-responsivos); entre outros [19].

**Tabela 1.1** – Funções dos materiais inteligentes e a sua capacidade de transformação (adaptado) [20].

Função	Descrição
Memória de forma ( <i>shape memory</i> )	Muda de forma mediante um estímulo externo
Automontagem ( <i>self-assembly</i> )	Permite a conformação automatizada em resposta a um estímulo
Auto-atuante ( <i>self-actuating</i> )	Atua de modo automatizado em resposta a um estímulo
Auto-detetor ( <i>self-sensing</i> )	Permite a deteção automática e, por vezes, a quantificação de estímulos externos

Os materiais com SME podem ser divididos em ligas metálicas (SMA), polímeros (SMP), híbridos (SMH), cerâmicos (SMC) e géis (SMG) [19]. Relativamente aos SMPs, estes possuem algumas vantagens em comparação aos restantes, nomeadamente a sua baixa densidade, elevada recuperação de forma, baixo custo, simplicidade na programação de forma e bom controlo da temperatura de recuperação. Além disso, os SMPs podem ser modificados quimicamente, de modo a atingir a biocompatibilidade e biodegradabilidade [21]. Como consequência, estes materiais revelam ser os de maior interesse no âmbito da impressão 4D, sendo o PLA o mais reportado na literatura [18].

Zhang *et al.* [22] relataram que, durante a impressão 3D de polímeros termoplásticos, como o PLA e o ABS, o aquecimento e os ciclos rápidos de arrefecimento acumulam tensões internas no material. Estas tensões podem ser libertadas acima da  $T_g$  do mesmo, desencadeando uma transformação espontânea de forma do objeto impresso. Por exemplo, os anéis de PLA impressos, inicialmente dispostos num padrão hexagonal ou quadrado, são transformados, respetivamente, em hexágonos ou quadriláteros quando aquecidos até 90°C. Os autores demonstraram também que a tensão interna pode ser



manipulada pelos parâmetros de impressão, nomeadamente a temperatura do *nozzle* e da plataforma e velocidade de construção.

### **1.1.3. Estímulos Externos**

Neste subcapítulo será feita uma breve apresentação dos estímulos externos mais comumente reportados na literatura para a impressão 4D.

#### **1.1.3.1. Temperatura**

No âmbito da impressão 4D, um dos eventos térmicos chave a ser tomado em consideração é a  $T_g$ . Abaixo desta temperatura, as cadeias poliméricas não se conseguem mover livremente devido à baixa energia interna da matriz polimérica. Por outro lado, acima da  $T_g$ , a energia fornecida pode desencadear a mobilidade das cadeias, tornando o material fácil de manipular e de sofrer grandes deformações. Estes comportamentos são de particular interesse na impressão 4D, na medida em que alguns polímeros podem ser programados para mudar a sua forma a partir da  $T_g$  [18].

Os polímeros termo-responsivos mais comumente reportados incluem o poli(ácido láctico) (PLA), o politetrafluoretileno (PTFE) e o poli(etileno de acetato vinilo) (EVA) [23].

Alguns polímeros, nomeadamente os elastómeros, sofrem apenas deformação elástica, retornando à sua forma inicial depois de um determinado estímulo. Por outro lado, noutros materiais, mais especificamente nos viscoelásticos, existe um limite elástico acima do qual o material sofre deformação plástica. Este fenómeno é irreversível, implicando a recuperação de forma do material [24]. Assim, apesar da reversibilidade do processo baseado na  $T_g$ , alguns polímeros podem não recuperar totalmente a sua forma inicial ao longo dos ciclos de mudança de forma, devido ao seu comportamento viscoelástico [18].

#### **1.1.3.2. Humidade**

Os polímeros hidrófilos são materiais muito responsivos à humidade, pois apresentam na sua estrutura química grupos funcionais que estabelecem ligações secundárias

com as moléculas de água, permitindo a sua absorção na rede polimérica [18]. Como consequência, o polímero incha, alterando assim o seu volume.

Os grupos funcionais que possuem afinidade com a água incluem os grupos carboxilo ( $-\text{COOH}$ ), hidroxilo ( $-\text{OH}$ ) e amina ( $-\text{NH}_2$ ) [25]. Por outro lado, grupos funcionais como o metil ( $-\text{CH}_3$ ) aumentam a hidrofobicidade de uma rede polimérica, uma vez que repelem as moléculas de água, evitando a sua absorção [26].

Os materiais responsivos à água ou à humidade são de grande interesse, devido à sua ampla gama de aplicações, tais como em sistemas de libertação de fármacos e na engenharia dos tecidos [27].

Hidrogéis baseados em acrilamidas e derivados de poli(etilenoglicol) (PEG) são exemplos de redes poliméricas hidrófilas capazes de responder a este estímulo de mudança de forma [18].

Zhao *et al.* [28] desenvolveram estruturas de poli(diacrilato de etilenoglicol) (PEGDA) capazes de se auto-dobram ao entrarem em contacto com diferentes solventes (água e acetona). O principal objetivo deste estudo foi obter dispositivos 3D a partir de folhas poliméricas 2D. As folhas foram impressas por DLP e, de seguida, fotopolimerizadas com radiação ultravioleta (UV). Os resultados demonstraram que as folhas de PEGDA encolheram e recuperaram a sua forma sucessivamente.

### **1.1.3.3. Radiação Ultravioleta**

Dentre os estímulos capazes de desencadear mudanças de forma, a radiação UV tem atraído muita atenção, uma vez que pode ser localizada no tempo e no espaço. Para além disso, os fotoprocessos não requerem reagentes específicos [29].

Os materiais foto-responsivos podem mudar reversivelmente a sua estrutura molecular, ou seja, podem contrair ou dobrar ao serem expostos à radiação, mas retornam à sua forma original quando a fonte de radiação é removida [30]. Estas mudanças induzem alterações nas suas propriedades físicas, como por exemplo na polaridade, na fluorescência, no índice de refração e nas propriedades magnéticas. Para serem responsivos à radiação, os materiais devem possuir grupos funcionais fotossensíveis, tais como os azobenzenos, os espiropiranos e os cinamatos [31].

Ao contrário da temperatura e da humidade, a radiação é um estímulo indireto. Neste caso, a área exposta de um material foto-responsivo absorve a radiação sob a forma de calor [32]. Parâmetros como a intensidade e o comprimento de onda da radiação podem ser ajustados durante o tempo de reação, o que permite o controlo da reação [29]. Deste modo, podem ser criados diferentes perfis e gradientes de reticulação ao longo da espessura do material. Esta anisotropia permite a previsão e programação da mudança de forma [32].

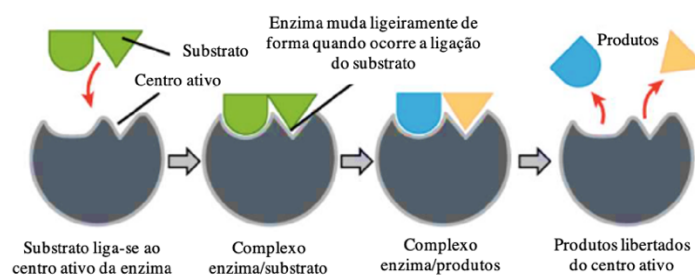
Recentemente foi reportada a preparação de polímeros foto-responsivos com memória de forma contendo grupos cinâmicos [33]. Estes polímeros podem deformar e adquirir formas predeterminadas e complexas quando expostos à radiação UV. As suas formas originais podem ser recuperadas, à temperatura ambiente, mediante a exposição à radiação UV com comprimentos de onda diferentes dos que os usados anteriormente.

#### **1.1.3.4. Atividade Enzimática**

As enzimas são catalisadores bioquímicos que conferem às células a capacidade de ativar e controlar uma enorme variedade de reações indispensáveis ao funcionamento do ser biológico. A sua função é diminuir a energia de ativação necessária de uma dada reação e permitir que esta decorra a uma velocidade muito mais elevada.

Estes catalisadores possuem um intervalo de pH onde a sua atividade é máxima e a temperaturas extremamente elevadas podem sofrer desnaturação, dado que estruturalmente são proteínas. Para além disso, existem outros fatores externos que influenciam a atividade enzimática, tais como a força iónica e a concentração da enzima e do respetivo substrato [18].

O centro ativo de uma enzima corresponde ao local na sua estrutura onde o substrato se liga através de diferentes tipos de atrações fracas. Logo que ocorre esta ligação, a enzima muda ligeiramente de forma, dando origem a um ajuste quase perfeito – ajuste induzido. Após a obtenção do complexo enzima-substrato, os produtos são formados e, de seguida, libertados (Figura 1.3).



**Figura 1.3** – Formação do complexo enzima-substrato – ajuste induzido (adaptado) [18].

Existem estudos que relatam a utilização de enzimas em materiais poliméricos que, depois de impressos, possuem a capacidade de mudar de forma. Neste caso, as enzimas são capazes de catalisar reações dentro do polímero, alterando a forma do material inicial [18].

Mandon *et al.* [34] propuseram duas abordagens possíveis para sistemas biossensíveis e biomimétricos com recurso a enzimas impressas 3D. A primeira é baseada na impressão de um par enzimático de glicose oxidase/peroxidase para a deteção quimioluminescente de glicose. Por outro lado, a segunda utiliza a fosfatase alcalina impressa para gerar calcificação programada e localizada *in situ* do objeto impresso. Assim sendo, foi demonstrado que as enzimas sequenciais podem ficar retidas na estrutura 3D e trabalhar sequencialmente para produzir luz na presença de glicose. Por outro lado, a calcificação programada de um objeto 4D resultou da impressão 3D de tinta modificada com fosfatase alcalina.

## 1.2. Compósitos de matriz polimérica

Uma alternativa para contornar algumas limitações existentes e melhorar as propriedades de alguns materiais consiste na produção de materiais compósitos. Um material compósito é constituído, essencialmente, por dois componentes: a matriz e o reforço. Este último é utilizado para incrementar as propriedades físico-químicas, biológicas e/ou mecânicas da matriz inicial, de modo a que o compósito obtido apresente propriedades superiores a cada um dos componentes isolados [35]. Este tipo de materiais pode conter uma matriz metálica, cerâmica ou polimérica, sendo que neste projeto a última desperta maior interesse.

### 1.2.1. Celulose Bacteriana

A celulose é o componente estrutural básico da parede celular das plantas e é o polímero mais abundante na natureza, sendo obtida a partir de fontes renováveis [36]. Embora as árvores sejam a fonte mais explorada comercialmente, também é possível extrair celulose vegetal (CV) de uma grande variedade de plantas, como por exemplo do linho e do algodão [36]. Contudo, a celulose obtida a partir destas fontes não é quimicamente pura. Apenas a celulose produzida por microrganismos, nomeadamente bactérias, algas e fungos tem a maior pureza [37]. Quando obtida por bactérias é designada por celulose bacteriana (CB), sendo esta uma alternativa ecologicamente mais sustentável na medida em que não acarreta problemas relacionados com a sua extração e processamento [38]. Consoante a fonte de obtenção da celulose, esta apresenta diferentes propriedades físico-químicas, como demonstrado na Tabela 1.2.

**Tabela 1.2** – Propriedades físicas e químicas da celulose bacteriana e celulose vegetal (adaptado) [39].

Propriedade	Celulose Bacteriana	Celulose Vegetal	Ref.
Área de superfície (m <sup>2</sup> /g)	> 150	< 10	[40,41]
Capacidade de retenção de água (%)	> 95	25 – 35	[42,43]
Cristalinidade (%)	74 – 96	40 – 85	[44]
Grau de Polimerização	14 000 – 16 000	300 – 10 000	[45]
Módulo de Young (MPa)	15 000 – 35 000	0,17 – 2,5	[46,47]
Porosidade (%)	> 85	< 75	[48]
Pureza (%)	> 99	> 80	[49]
Resistência à tração (MPa)	20 - 300	25 - 200	[50,51]
Tamanho das fibras (nm)	3 – 4 por 70 – 80	100x sup. à CB	[46]

Relativamente à sua estrutura, representada na Figura 1.4, a celulose é constituída por uma cadeia linear de glucose, cuja unidade de repetição inclui anéis de anidroglicose, em que o carbono 1 (C1) está ligado covalentemente ao carbono 4 (C4) do outro anel, originando ligações glicosídicas  $\beta$ -(1-4) [52].

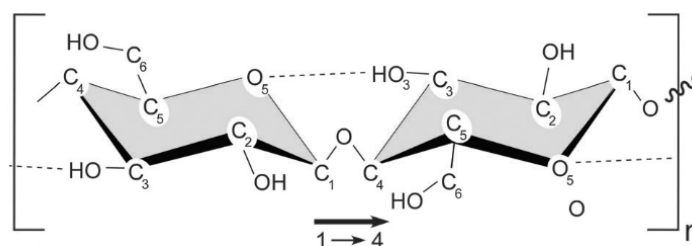


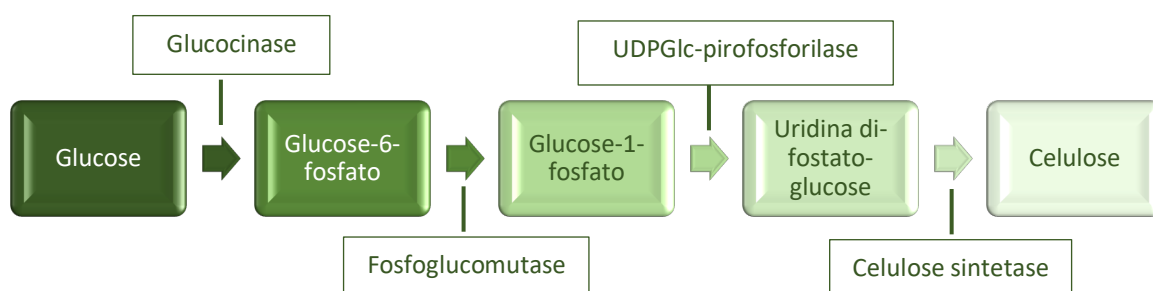
Figura 1.4 – Estrutura química da celulose [52]

A celulose é considerada um polímero semicristalino, uma vez que possui domínios cristalinos e amorfos [52]. O polímero apresenta diversas formas cristalinas (celulose I – celulose IV), sendo as mais comuns a celulose I e a celulose II. A celulose I é caracterizada por uma deposição paralela das cadeias de celulose, sem pontes de hidrogénio entre si, e apresenta dois tipos de polimorfos, a celulose I<sub>α</sub> e a celulose I<sub>β</sub> com grupos espaciais triclinico e monoclinico, respetivamente [46]. A celulose produzida por bactérias possui uma elevada fração mássica de celulose I<sub>α</sub> (cerca de 0,63), enquanto na celulose proveniente da madeira e algodão é predominante a celulose I<sub>β</sub> (cerca de 0,80) [53]. A celulose II, termodinamicamente mais estável, pode ser obtida por tratamento da celulose I com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) ou por dissolução da celulose e subsequente regeneração/precipitação [49].

A CB é sintetizada no meio extracelular com recurso a bactérias dos géneros *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Agrobacterium*, *Acetobacter* e *Pseudomonas* [37]. Contudo, a bactéria mais utilizada na obtenção da CB é a *Acetobacter xylinum*, uma bactéria aeróbia e não patogénica, encontrada tipicamente em frutas em decomposição, legumes, vinagre, sumos de frutas e bebidas alcoólicas [54]. A CB foi descoberta por A.J. Brown em 1886, que identificou o aparecimento de películas extracelulares externamente resistentes e de estrutura equivalente à CV após a *Acetobacter xylinum* ser introduzida num meio de cultura enriquecido em frutose [55].

A biossíntese da CB, representada na Figura 1.5, é um processo metabólico bastante complexo, que envolve a metabolização de glucose através de múltiplas etapas, e requer a ação de enzimas específicas e proteínas reguladoras [56]. A processo decorre no espaço periplasmático, entre a membrana externa e a membrana citoplasmática, onde um complexo enzimático está em contacto com poros na superfície da bactéria [57]. Numa primeira fase, ocorre fosforilação de um monómero de glucose pela enzima glucocinase

(GK), dando origem à glucose-6-fosfato. No passo seguinte, dá-se a isomeração da glucose-6-fosfato a glucose-1-fosfato pela enzima fosfoglucomutase (PGM). De seguida, a enzima UDPGlc-pirofosforilase (UGPase) sintetiza a uridina di-fosfato-glucose (UDPGlc) e, por fim, a celulose sintetase (CS) transfere os resíduos de UDPGlc para formar a estrutura polimérica [56]. Os processos de biossíntese de CB podem ocorrer em condições estáticas ou com agitação, sendo que cada uma destas condições resulta numa celulose com características diferentes, como é demonstrado na Tabela 1.3 [58]. As culturas estáticas envolvem a formação de uma película na interface ar-líquido que aumenta de espessura, a medida que o oxigénio é fornecido. O crescimento da película é interrompido quando as células presas à mesma se tornam inativas ou morrem devido ao défice de oxigénio. Contudo, este processo é lento e possui baixo rendimento. Como alternativa, surgiu o cultivo com agitação, que permite diminuir o tempo de incubação, dando origem a pequenos *pellets* ou grânulos de massas irregulares. No entanto, a CB resultante deste processo apresenta menor grau de polimerização, resistência mecânica e cristalinidade [35]. Para além disso, as condições de agitação promovem o surgimento de mutações, que diminuem o rendimento do processo. Assim sendo, dentre os processos de cultivo disponíveis, o estático é o mais utilizado [59]. Este mecanismo resulta na produção de cerca de 12 a 15 cadeias de celulose, que posteriormente são extrudidas através de poros na superfície da parede celular sob a forma de fibras finas, que se agregam formando microfibrilas no meio de cultura. A subsequente junção destas microfibrilas resulta na formação de uma película/membrana [60].



**Figura 1.5** – Processo de biossíntese da celulose bacteriana.

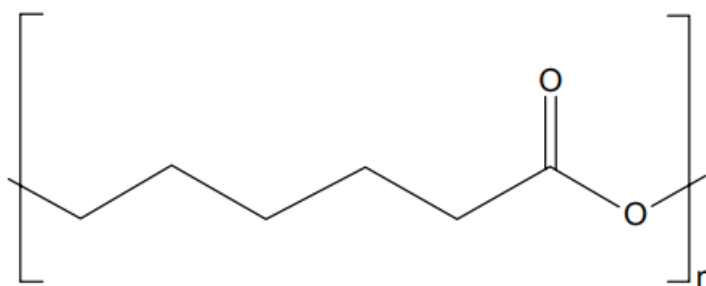
**Tabela 1.3** – Propriedades da celulose bacteriana produzida com culturas estáticas e agitadas (adaptado) [58].

Propriedade	Cultura estática	Cultura agitada
Capacidade de retenção de água (g <sub>água</sub> /g <sub>CB</sub> )	170	45
Módulo de Young (GPa)	28,3	33.3
Viscosidade (Pa.s)	0,52	0,04

A CB é um polímero biocompatível aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), que possui propriedades físicas e químicas que a distingue de outros polímeros naturais, tais como, a elevada resistência à tração e módulo de Young [61]. Neste sentido, há estudos que reportam a utilização do biopolímero na produção de dispositivos para o tratamento de feridas crónicas, queimaduras, bem como na reparação e substituição de tecidos cardiovasculares artificiais, ósseos, cartilagosos e nervosos [54].

### 1.2.2. Poli( $\epsilon$ -caprolactona)

A poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) é um poliéster sintético alifático, semicristalino e biodegradável, cujo uso em aplicações biomédicas foi aprovado pela FDA devido à sua comprovada compatibilidade com sistemas vivos [62]. Para além disso, a PCL também é reconhecida pelo seu perfil hidrófobo e pela sua elevada solubilidade na maior parte dos solventes orgânicos, como é o caso da acetona e do diclorometano [62]. A PCL é geralmente sintetizada com recurso à polimerização de abertura de anel do monómero de  $\epsilon$ -caprolactona, embora existam outros métodos [63]. A sua estrutura química está representada na Figura 1.6.



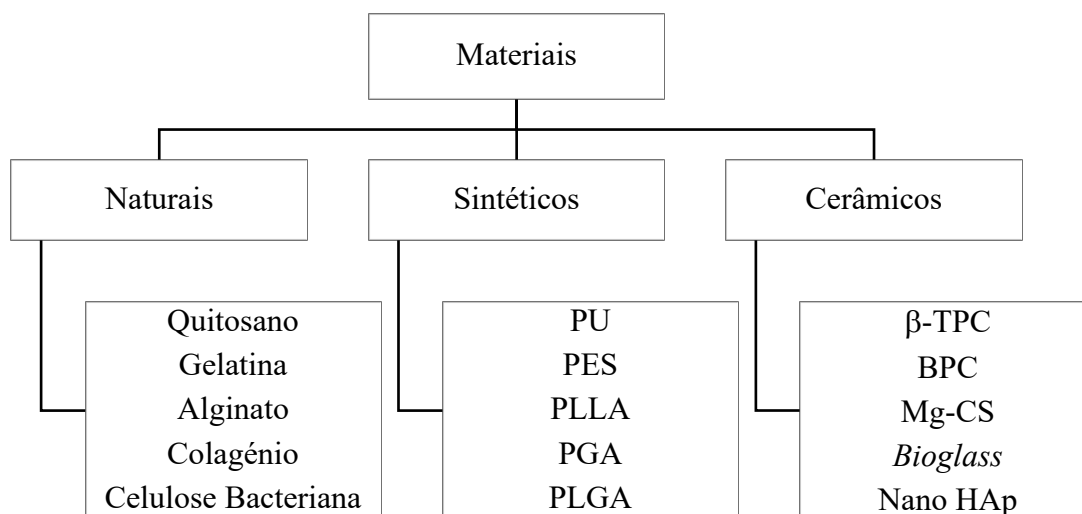
**Figura 1.6** – Estrutura química da unidade estrutural da PCL [64].



O polímero é considerado um material termoplástico com propriedades viscoelásticas, possuindo uma  $T_g$  de  $-60^\circ\text{C}$  e uma  $T_m$  que varia entre  $59 - 64^\circ\text{C}$  [65]. Dado o intervalo de  $T_m$  da PCL, o seu processamento pode ser feito com recurso a diversas técnicas de FA, incluindo o FFF [66].

Devido à presença de ligações ésteres alifáticas na sua estrutura, a PCL possui uma taxa de degradação hidrolítica muito lenta, que varia entre 2 – 4 anos em meio aquoso ou em condições fisiológicas, dependendo do peso molecular ( $M_w$ ) médio inicial [65,66]. Este facto pode ser alterado ou atenuado com recurso a técnicas de modificação de superfície, embora existam estudos que reportam a produção de copolímeros de base PCL para acelerar o processo de degradação [62,65].

A PCL apresenta limitações a nível das suas propriedades mecânicas, principalmente o seu módulo de elasticidade, que é inferior quando comparado com outros polímeros biodegradáveis, como por exemplo PLA [67]. Assim sendo, para aplicações que requerem um elevado desempenho mecânico, é sugerida a sua combinação com materiais que atuem como reforço. Efetivamente, é possível incrementar as propriedades físicas, químicas e mecânicas da PCL através da copolimerização com outros polímeros ou junção com outro tipo de materiais [67]. Atualmente é relatado que é possível combinar a PCL não só com diversos polímeros naturais, mas também com muitos polímeros sintéticos e materiais cerâmicos, como demonstrado na Figura 1.7 [63].



**Figura 1.7** – Materiais já utilizados para melhorar as propriedades da PCL (adaptado) [63].

A PCL tem atraído uma considerável atenção nos últimos anos, nomeadamente na área biomédica especializada em sistemas de libertação controlada de fármacos, em suturas cirúrgicas absorvíveis e em *scaffolds* para aplicação na engenharia dos tecidos [66].

### **1.2.3. Compósitos com reforço de celulose bacteriana**

A CB pode ser utilizada como matriz de um compósito, uma vez que possui uma elevada porosidade e área superficial. Contudo, devido às suas propriedades mecânicas, nomeadamente o módulo de elasticidade e resistência à tração, este polímero tem vindo a ser muito utilizado como reforço em materiais poliméricos e não poliméricos [35]. A síntese de materiais compósitos reforçados com CB engloba a utilização de solventes com propriedades intermédias com à água e solventes orgânicos, como é o caso do N-óxido N-metilmorfolina (NMMO), dos líquidos iónicos (ILs) e dos solventes eutécticos profundos (do inglês, *deep eutectic solvents* – DESs) [68,69]. Tais solventes garantem uma dispersão homogénea dos materiais adicionados. Esta técnica permite a obtenção de uma maior variedade de compósitos, bem como um bom controlo da concentração dos materiais da matriz e do reforço [70].

Neste sentido, nos últimos anos têm sido reportados alguns estudos relacionados com a produção de compósitos reforçados com CB, como por exemplo, o trabalho proposto por Saharman Gea e seus colaboradores em que é descrita a produção de material compósito de matriz PCL e reforço de CB sob a forma de partículas e fibras [71]. Nesse estudo foi demonstrado que a adição do biopolímero contribuiu para o incremento do módulo de Young da PCL. O uso da CB sob a forma de fibras, em particular, deu origem a dispersões mais homogéneas, o que resultou em valores de tensão de limite elástico e deformação à rutura superiores. Num estudo realizado por Martins *et al.* [72], a CB e a CV foram utilizadas individualmente como reforço em materiais compósitos com matriz termoplástica de amido com o intuito de comparar o efeito de cada uma nas propriedades da matriz. As misturas matriz/reforço apresentaram uma boa dispersão e houve uma forte adesão das fibras na matriz. No entanto, os compósitos reforçados com CB apresentaram melhores propriedades mecânicas comparativamente aos reforçados com CV. No caso da CB, o módulo de Young (com 5% de fibras) aumentou 30 vezes, enquanto a deformação à rutura reduziu de 144%

para 24%, com o aumento do teor de fibra na matriz. Wardhono e seus colaboradores reforçaram uma matriz de PLA com nanocristais de CB e os resultados demonstraram que a incorporação do reforço em diferentes concentrações pode melhorar as propriedades mecânicas do filme [72].

A PCL é um polímero muito estudado e reportado na literatura e, como já foi mencionado, apresenta diversas vantagens, entre elas ser aprovada pela FDA. No entanto, o polímero apresenta algumas limitações em termos de propriedades mecânicas. Por esse motivo, neste projeto, o objetivo passa por reforçar uma matriz PCL com a incorporação de um reforço de CB, por ser um biopolímero com ótimas propriedades mecânicas, além de ser ecologicamente sustentável e aprovado pela FDA. Para além disso, é desejado obter uma estrutura capaz de responder a um estímulo externo, em virtude da diferença de molhabilidade entre os materiais utilizados, provocando um efeito 4D. Este fenómeno representa uma inovação no que concerne à fabricação de materiais compósitos.

## CAPÍTULO 2 – MATERIAIS E MÉTODOS

### EXPERIMENTAIS

#### 2.1. Materiais

A celulose bacteriana (CB), produzida pela *Duganella sp. estirpe AI-17* (CB AI-17), foi disponibilizada pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade de Coimbra sob a forma de películas. A poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) (CAPA<sup>®</sup> 6800;  $M_w = 80000$  g/mol; CAS: 24980-41-4) (PCL 6800) foi fornecida pela Perstorp<sup>®</sup>, Malmo (Suécia), sob a forma de granulado. A CB foi submetida a um processo de secagem no forno a 80 °C durante 5 horas antes da sua utilização. Posteriormente, foi moída com recurso a um almofariz e pilão até que atingisse a morfologia de um pó fino (imagens em Apêndice A). Os discos de tampão fosfato salina (do inglês, *Phosphate Buffered Saline* – PBS) 0,01M de pH 7,4 foram fornecidos pela Fisher BioReagents<sup>™</sup>, Pittsburgh, Pennsylvania (EUA).

#### 2.2. Preparação do compósito

O compósito de PCL 6800 com 1% de CB AI-17 foi obtido através de mistura manual dos seus constituintes. Primeiramente, a PCL foi amolecida no forno a 90 °C e, de seguida, foi acrescentado o pó de CB AI-17. Por fim, o compósito foi cortado em pequenos *pellets* (imagens em Apêndice B).

Com o intuito de complementar os ensaios de sorção e degradação hidrolítica, para além da PCL 6800 e da CB AI-17, foram utilizados outros materiais já preparados, nomeadamente a PCL CAPA<sup>®</sup> 8502A ( $M_w = 50000$  g/mol) (PCL 8502) e a CB produzida pela bactéria *Phyllobacterium myrsinacearum* 20M4 (CB Phyllo). Na Tabela 2.1 está registada a constituição de cada amostra e a sua designação.

**Tabela 2.4** – Amostras submetidas aos ensaios de sorção e degradação hidrolítica e a sua constituição.

Amostra	Constituição	
	PCL	CB
PCL 6800	100% PCL 6800	-
PCL 6800 + 1% CB Al-17	99% PCL 6800	1% CB Al-17
PCL 6800 + 1% CB Phyllo		1% CB Phyllo
PCL 6800 + 2% CB Phyllo	98% PCL 6800	2% CB Phyllo
PCL 6800 + 5% CB Phyllo	95% PCL 6800	5% CB Phyllo
PCL 8502	100% PCL 8502	-
PCL 8502 + 1% CB Phyllo	99% PCL 8502	1% CB Phyllo

## 2.3. Técnicas de Caracterização

### 2.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês, *Fourier-Transformed Infrared Spectroscopy* – FTIR) é uma técnica de espectroscopia vibracional não destrutiva e não invasiva. A técnica permite a obtenção de um espectro de infravermelho (IV), através da absorção ou transmissão de radiação IV pelo material em análise, em função do seu número de onda ou frequência [73]. Os picos no espectro IV representam a excitação dos modos vibracionais das moléculas do material e, portanto, estão associados às várias ligações químicas e grupos funcionais presentes no material analisado. Dado que a vibração das ligações químicas tem comprimentos de onda específicos, é possível proceder à sua identificação por comparação com espectros de referência [73].

Neste projeto, os espectros FTIR da PCL 6800, da CB Al-17 e do compósito foram obtidos com recurso a um espectrofotómetro Alpha II da marca Brunner, recorrendo à técnica de amostragem não destrutiva de refletância total atenuada (do inglês, *Attenuated*

*Total Reflection – ATR*). Os espectros foram analisados com recurso ao software Spectrum 10 STD.

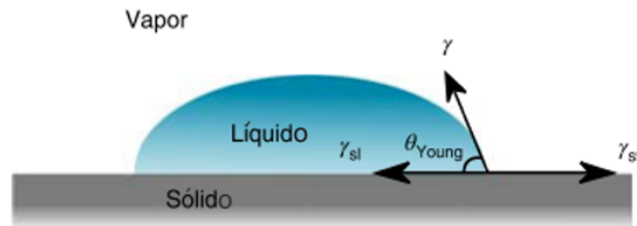
### **2.3.2. Calorimetria Diferencial de Varrimento**

A Calorimetria Diferencial de Varrimento (do inglês, *Differential Scanning Calorimetry – DSC*) é uma técnica termoanalítica através da qual a diferença no fluxo de calor entre uma amostra e um material de referência (recipiente de alumínio vazio ou material inerte) é monitorizada durante um programa de temperatura. Desta forma, são detetadas as reações endotérmicas e exotérmicas resultantes das alterações físicas ou químicas da amostra [74]. Através desta técnica é possível determinar a temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, temperatura de cristalização, capacidades caloríficas, entalpias de transição, graus de cristalinidade e condutividades térmicas [75].

As análises térmicas da PCL 6800 e do compósito foram efetuadas num equipamento DSC Q100 Versão 9.9 da TA Instruments. Os ensaios foram realizados com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min entre –80 e 200 °C, numa atmosfera de azoto com um fluxo constante de 50 mL/min. Os resultados foram, posteriormente, analisados com recurso ao programa Universal Analysis 2000, fornecido pela TA Instruments. Os gráficos analisados podem ser consultados no Apêndice C.

### **2.3.3. Ângulo de Contacto Estático**

A molhabilidade de uma superfície possui um papel importante em muitos processos biológicos, químicos e físicos e é definida como a capacidade de um líquido molhar uma determinada superfície. Este parâmetro é determinado através da medição do ângulo de contacto gerado entre a interface tangente à superfície sólida e a tangente líquido-vapor (Figura 2.1) [76]. A equação de Young (Equação 2.1) descreve o comportamento das tensões responsáveis pelo equilíbrio numa superfície ideal.



**Figura 2.1** – Ilustração do sistema de medição do ângulo de contacto (adaptado [76]).

$$\cos \theta_Y = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma} \quad \text{Equação 2.1}$$

onde  $\gamma$ ,  $\gamma_{sv}$ ,  $\gamma_{sl}$  representam as tensões interfaciais líquido – vapor, sólido – vapor, sólido – líquido, respetivamente, e o  $\theta_Y$  o ângulo de contacto de Young [76].

Para além da composição química, a rugosidade de uma superfície é um dos fatores que mais influenciam o ângulo de contacto [77]. Deste modo, é necessário corrigir os ângulos de contacto tendo em consideração o fator de rugosidade ( $r$ ), que pode ser definido como a razão entre a área da superfície real e a área de uma superfície lisa com a mesma geometria e dimensões [78].

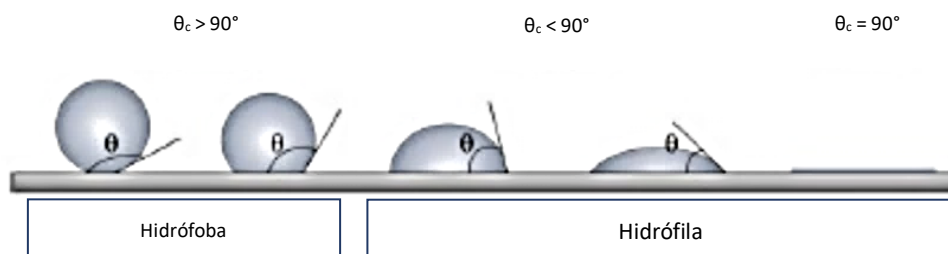
A equação de Wenzel (Equação 2.2) traduz a relação entre o fator  $r$  e o ângulo de contacto aparente e real, pelo que é importante salientar que tal equação assume que o líquido penetra completamente nas ranhuras da rugosidade [78].

$$\cos \theta_w = r \cos \theta_Y \quad \text{Equação 2.2}$$

onde  $\theta_w$  e  $\theta_Y$  correspondem aos ângulos de contacto de Wenzel (ângulo de contacto aparente numa superfície rugosa) e Young (ângulo de contacto real numa superfície lisa), respetivamente, e  $r$  ao fator de rugosidade ( $r \geq 1$  por definição).

Existem diversas classificações não consensuais que consideram diferentes valores do ângulo de contacto. Geralmente, uma superfície é considerada hidrófoba se o ângulo de contacto for superior a  $90^\circ$ . Por outro lado, se o ângulo de contacto for inferior a  $90^\circ$ , a superfície é considerada hidrófila (Figura 2.2). No entanto, alguns autores consideram que o ângulo que define o limite entre hidrofobicidade e hidrofobicidade de superfícies é de

65°, sobretudo para aplicações biológicas, em que se deve ter em consideração o papel biofísico da água [79].



**Figura 2.2** – Caracterização de uma superfície através do ângulo de contacto (adaptado) [80].

A medição dos ângulos de contacto entre a superfície da PCL 6800, da CB Al-17 e do compósito e a água foi realizada através do método da Gota Sessil (do inglês, *Sessile drop*), tendo em conta o fator  $r$ . O método foi executado através da deposição de gotas de água com 5  $\mu\text{L}$  de volume na superfície dos materiais, com recurso ao equipamento Attension Theta Flex, Biolin Scientific. O ângulo de contacto foi medido ao longo de 5 segundos e as gotas foram fotografadas com recurso ao programa One Attension Versão 4.0.6. Foram realizadas 5 medições para a PCL e o compósito. Para a CB apenas foram realizadas 2 medições, devido às más condições da amostra. As fotografias podem ser consultadas no Apêndice D.

#### **2.3.4. Sorção de água e degradação hidrolítica**

Todos os materiais naturais ou sintéticos a serem utilizados em aplicações biomédicas que envolvam o contacto com fluidos fisiológicos humanos devem ser investigados e caracterizados pelas suas interações com meios aquosos [81]. Os ensaios de sorção/degradação ajudam a determinar a capacidade dos materiais de reterem água ou de nela se degradarem após períodos de tempo específicos.

Amostras de PCL 6800 + 1% CB Al-17, PCL 6800 + 2% CB Phyllo, PCL 6800 + 5% CB Phyllo, PCL 6800, PCL 6800 + 1% CB Phyllo, PCL 8502 e PCL 8502 + 1% CB Phyllo foram submetidas a ensaios de sorção em água/degradação hidrolítica (imagens em Apêndice E). Primeiramente, antes de serem pesadas, todas as amostras (preparadas em triplicado) foram secas num forno a 50 °C, durante 2 horas. Depois de obtida a massa inicial ( $m_i$ ) de cada amostra, estas foram colocadas em tubos Falcon® com 2 ml de PBS. A solução



de PBS foi preparada através da dissolução de um disco de PBS em 200 mL de água desionizada. As soluções salinas fornecem um ambiente que ajuda a manter a integridade estrutural e fisiológica das células *in vitro*.

As amostras foram pesadas sucessivamente em intervalos de tempo específicos e pré-determinados, num período de 15 dias. Para obtenção dos perfis de sorção das amostras, as percentagens de aumento de massa foram calculadas com recurso à Equação 2.3:

$$\% \text{absorção} = \left( \frac{m - m_i}{m_i} \right) \times 100 \quad \text{Equação 2.3}$$

onde  $m_i$  é a massa inicial e  $m$  corresponde à massa após imersão em PBS.

Ao fim dos 15 dias, as amostras foram colocadas a secar no forno a 50 °C durante 9h, de forma a obter a massa final seca ( $m_f$ ). Relativamente aos perfis de degradação das amostras, a percentagem de perda de massa foi calculada através da Equação 2.4.

$$\% \text{degradação} = \left( \frac{|m_i - m_f|}{m_i} \right) \times 100 \quad \text{Equação 2.4}$$

onde  $m_i$  é a massa inicial e  $m_f$  corresponde à massa final seca das amostras.

### 2.3.5. Ensaio 4D

Com o intuito de avaliar a capacidade de mudança de forma dos materiais em estudo foram produzidos, manualmente e em triplicado, filamentos cuja composição se encontra na Tabela 2.2. Os filamentos foram submersos em caixas de Petri contendo água destilada e monitorizados ao longo do tempo. O registo de eventuais alterações foi efetuado através de fotografias com recurso a um papel milimétrico para facilitar a visualização.

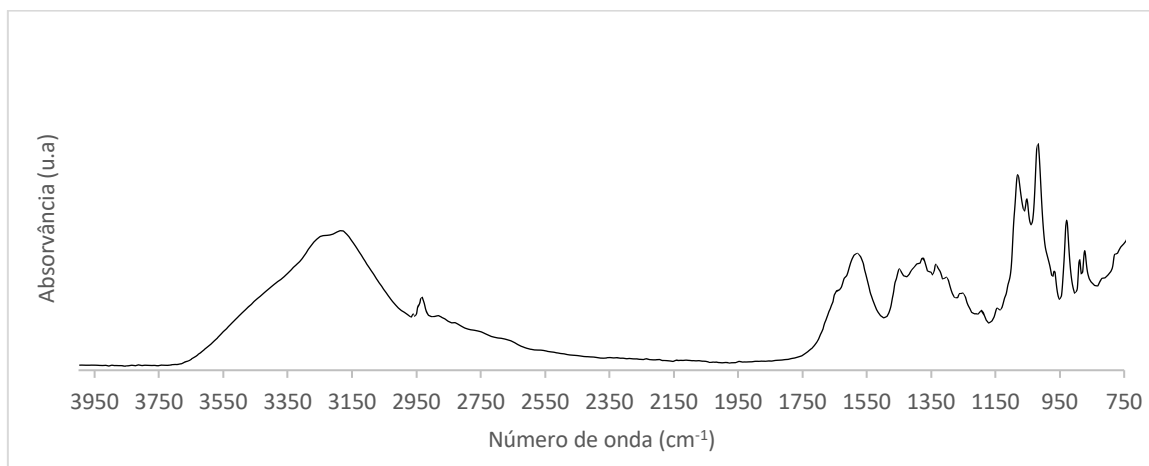
**Tabela 2.5** – Composição dos filamentos produzidos e submetidos aos ensaios 4D.

Filamento	Composição	
A	Compósito de PCL 6800 + 1% CB Al-17	
B	Compósito de PCL 8502 + 1% CB Phyllo	
C	PCL 6800	Compósito de PCL 6800 + 1% CB Al-17
D	PCL 8502	Compósito de PCL 8502 + 1% CB Phyllo

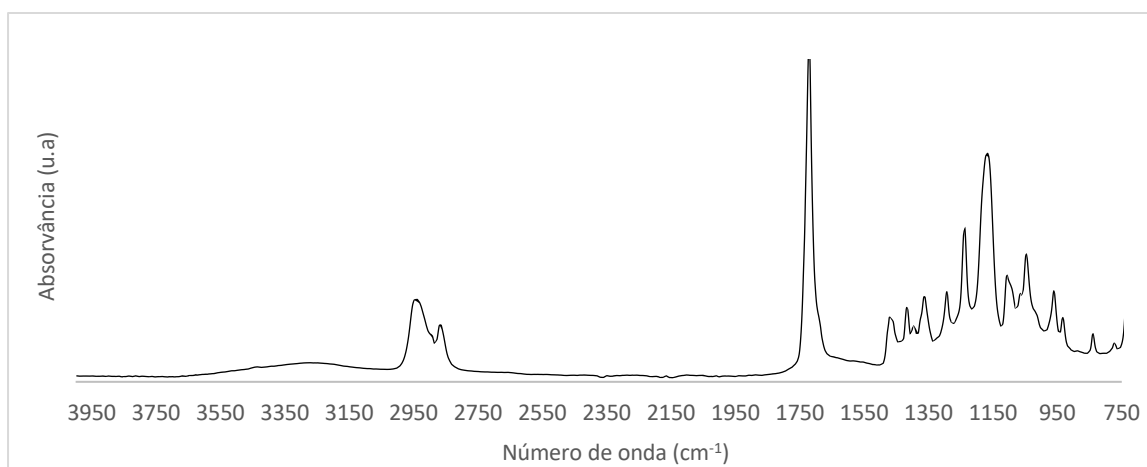
## CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

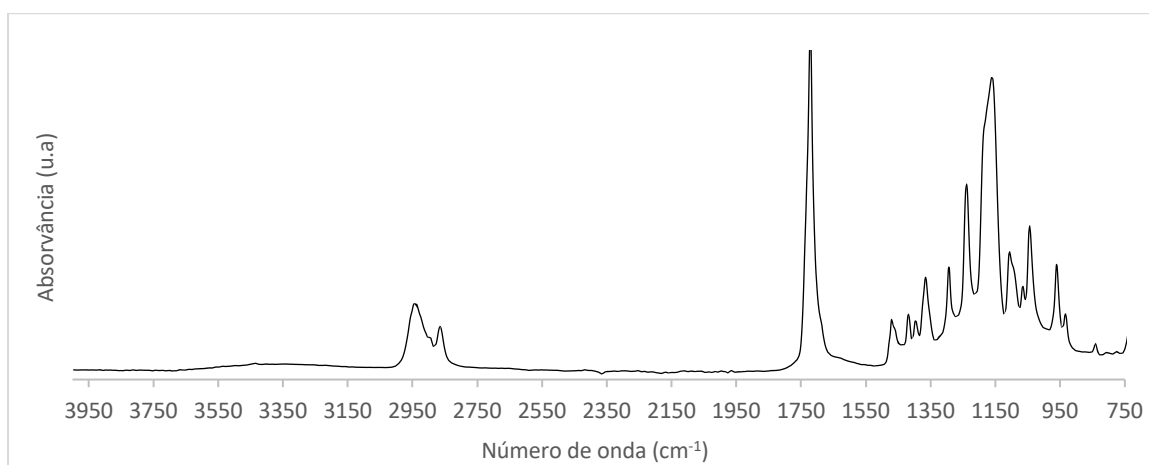
A identificação dos grupos funcionais da CB A1-17, da PCL 6800 e do compósito foi realizada por FTIR–ATR, pelo que os respetivos espectros estão ilustrados nas Figuras 3.1., 3.2. e 3.3., respetivamente.



**Figura 3.1** – Espectro FTIR da CB A1-17.



**Figura 3.2** – Espectro FTIR da PCL 6800.



**Figura 3.3** – Espectro FTIR do compósito de PCL 6800 + 1% CB A1-17.

As ligações químicas presentes no espectro da CB comprovam que se trata de um material polimérico celulósico [82]. Os picos observados na banda de absorção de  $3400 - 3200 \text{ cm}^{-1}$  são característicos da vibração de alongação e flexão das ligações  $-\text{OH}$  [83]. As bandas de absorção a  $2900 - 2880$  e a  $1460 - 1250 \text{ cm}^{-1}$  são correspondentes à vibração de alongação e flexão das ligações  $-\text{CH}$  e  $-\text{CH}_2$ , respetivamente [83]. As bandas típicas atribuídas à celulose foram observadas na gama dos  $900 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ , onde se pode observar a banda  $1650 - 1560 \text{ cm}^{-1}$  correspondente à vibração das moléculas de água absorvidas pelo polímero, que incluem, também, as vibrações das ligações inter e intramoleculares de hidrogénio na celulose [84,85]. A banda a  $1566 \text{ cm}^{-1}$  diz respeito à vibração de alongação de  $\text{C}-\text{C}$  em anel [86]. Os picos na região do  $850 - 930 \text{ cm}^{-1}$  são caracterizados pela presença das vibrações das ligações glicosídicas  $\beta-1,4$  [87].

Nos espectros FTIR representados nas Figuras 2 e 3 estão presentes bandas associadas à PCL. A semelhança entre os espectros pode ser justificada pelo baixo teor e pela heterogeneidade da CB na matriz do compósito. As bandas de absorção a  $2946 - 2940 \text{ cm}^{-1}$  e  $2867 - 2863 \text{ cm}^{-1}$  correspondem às vibrações de alongação assimétricas e simétricas de grupos  $\text{CH}_2$ , respetivamente [88,89]. A vibração de alongação do grupo carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ) está presente entre  $1723 - 1719 \text{ cm}^{-1}$  [90]. As vibrações de alongação de  $\text{C}-\text{O}$  e  $\text{C}-\text{C}$  da fase cristalina são identificadas na gama de  $1296 - 1290 \text{ cm}^{-1}$ , enquanto as vibrações da fase amorfa são evidentes na gama de  $1163 - 1157 \text{ cm}^{-1}$  [88,89,91]. O pico presente entre  $1241 - 1238 \text{ cm}^{-1}$  corresponde à alongação assimétrica do grupo  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  [91]. Por outro lado, a presença de bandas na região compreendida entre  $1465 - 1370 \text{ cm}^{-1}$  está associada a vibrações de flexão dos grupos  $\text{C}-\text{H}$  [92]. Por fim, as bandas entre  $1106 - 1044 \text{ cm}^{-1}$  dizem

respeito à vibração de elongação simétrica do grupo C–O–O [89]. A ausência de novos picos no espectro do compósito confirma que não foram estabelecidas novas interações químicas entre a PCL e a CB, o que sugere que apenas ocorreram interações físicas [83].

### 3.2. Calorimetria diferencial de varrimento

As caracterizações por DSC permitiram avaliar as propriedades térmicas dos materiais em estudo. Nas Figuras 3.4,3.5 e 3.6 estão representadas as curvas DCS da PCL 6800, da CB A1-17 e do compósito, respetivamente. Após análise das curvas DSC foram obtidas as temperaturas de fusão ( $T_m$ ) e transição vítrea ( $T_g$ ), assim como a entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) dos materiais. Os resultados foram registados na Tabela 3.1.

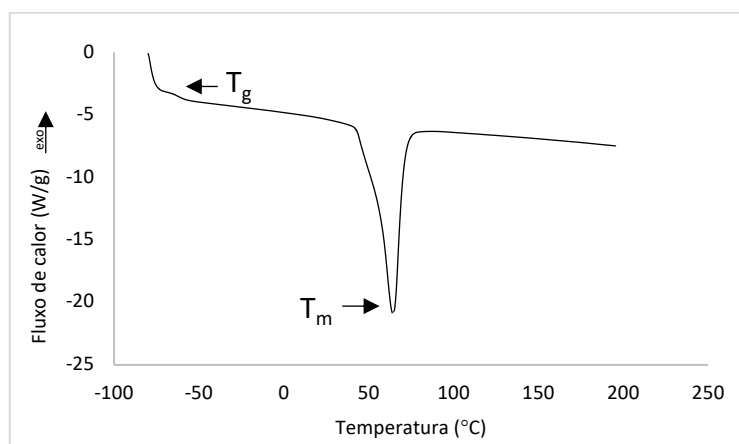


Figura 3.4 – Curva DSC da PCL 6800.

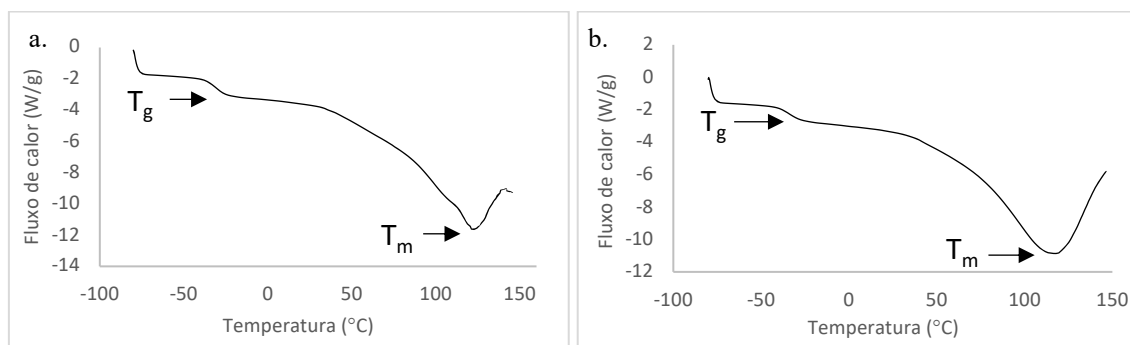
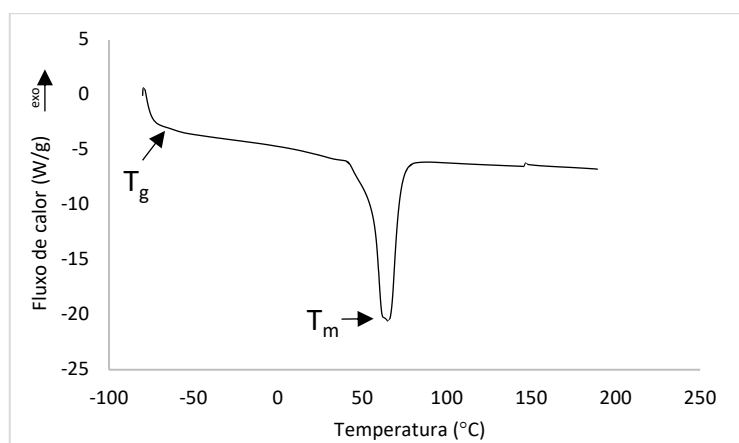


Figura 3.5 – Curva DSC da CB A1-17 antes (a) e depois (b) do processo de secagem.



**Figura 3.6** – Curva DSC do compósito de PCL 6800 + 1% CB A1-17.

**Tabela 3.6** – Temperaturas de fusão e transição vítrea e entalpia de fusão da PCL 6800, da CB A1-17 (antes e depois do processo de secagem) e do compósito de PCL 6800 + CB A1-17.

Amostra	$T_m$ (°C)	$\Delta H_m$ (J/g)	$T_g$ (°C)
PCL 6800	64,3	81,9	- 73,9
CB A1-17	121,6	61,32	- 31,2
CB A1-17 (seca)	116,9	114,0	- 34,6
PCL 6800 + 1% CB A1-17	65,5	69,6	- 70,5

Nas curvas DSC é possível observar dois eventos térmicos, sendo que o primeiro corresponde à  $T_g$  e o segundo à  $T_m$  dos materiais. A  $T_m$  da PCL pode variar entre 59 e 64 °C, dependendo de fatores como o peso molecular [65]. Deste modo, o resultado está de acordo com a literatura. As curvas DSC da CB A1-17 seguem o comportamento semicristalino da CB de acordo com o que é apresentado na literatura [93,94]. Para além disso, por não ter sido observada qualquer alteração na curva DSC da CB depois do processo de secagem, é possível afirmar o método não comprometeu a sua funcionalidade. Por fim, na curva DSC do compósito é evidente, como expectável, o comportamento termoplástico da PCL 6800, devido ao baixo teor de CB na matriz.

### 3.3. Ângulo de contacto estático

A medição do ângulo de contacto com a água permitiu aferir acerca da molhabilidade da superfície dos materiais. Na Tabela 3.2 estão apresentados os valores

médios dos ângulos de contacto real ( $\theta_Y$ ) e aparente ( $\theta_w$ ), tendo em conta a rugosidade média da superfície ( $S_a$ ) e o fator  $r$  de cada material.

**Tabela 3.7** – Valor médio dos ângulos de contacto real e aparente entre a água e a superfície da PCL 6800 e do compósito, bem como o fator  $r$  e a rugosidade.

Amostra	$\theta_Y$ (°)	$\theta_w$ (°)	$r$	$S_a$ ( $\mu\text{m}$ )
PCL 6800	$75,7 \pm 3,7$	$88,6 \pm 0,3$	$11,6 \pm 3,2$	$14,4 \pm 4,4$
CB A1-17	$14,5 \pm 2,6$	–	–	–
PCL 6800 + 1% CB A1-17	$70,3 \pm 3,0$	$81,7 \pm 1,5$	$2,2 \pm 0,8$	$2,9 \pm 1,4$

Com exceção da CB A1-17 e tendo em consideração o papel biofísico da água em aplicações biológicas, todas as superfícies analisadas demonstraram um carácter hidrófobo ( $\theta \geq 65^\circ$ ). A PCL apresenta na sua estrutura grupos  $-\text{CH}_2$ , que não são compatíveis com as moléculas de água, tornando o material hidrófobo [13]. Para além disso, de acordo com o que é descrito na literatura, o ângulo de contacto da PCL 6800 com  $M_w = 80000$  g/mol é  $71^\circ$  [95]. Deste modo, o resultado vem ao encontro do que é reportado. Por outro lado, a CB é classificada como um material hidrófilo, devido à presença de grupos hidroxilos ( $-\text{OH}$ ) na sua estrutura e, por isso, possui uma elevada afinidade com as moléculas de água [37]. Assim, o ângulo de contacto obtido está de acordo com essa afirmação. Não obstante o teor de CB A1-17 adicionado à matriz ser reduzido, o compósito apresentou uma menor hidrofobicidade, devido à presença de novos grupos  $-\text{OH}$  provenientes da CB. Contudo, é importante salientar que, durante a medição do ângulo de contacto do compósito, foi evidente a heterogeneidade da distribuição da CB na matriz.

### 3.4. Sorção de água e degradação hidrolítica

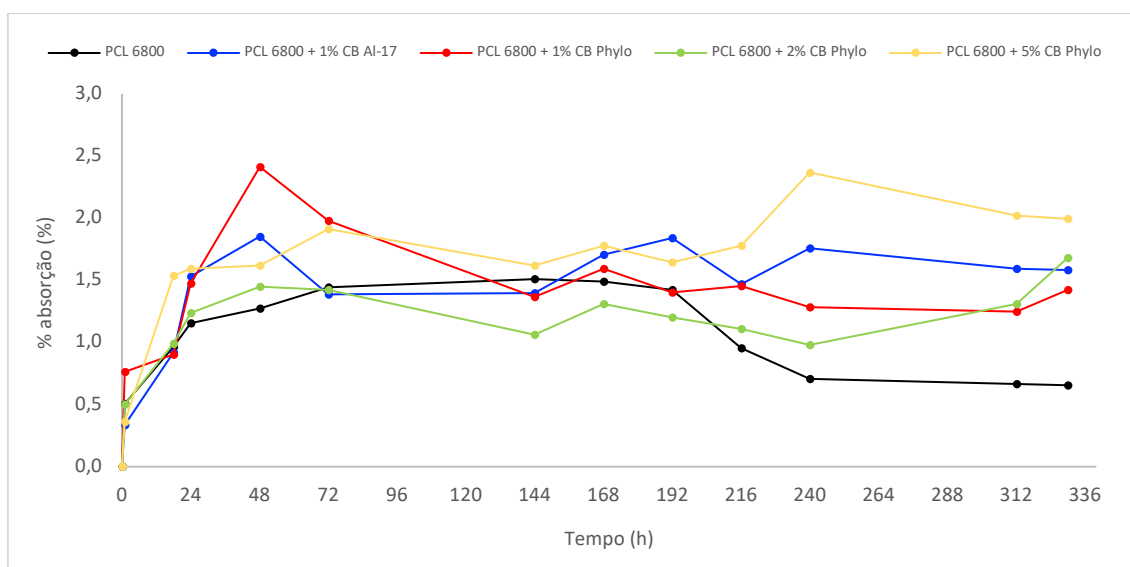
Os ensaios de sorção em água e degradação hidrolítica ao longo de 2 semanas permitiram aferir acerca do comportamento da PCL 6800 e 8502 e de compósito de PCL + CB em meio fisiológico. A variação da massa de cada material em PBS durante o ensaio de sorção foi registada na Tabela 3.3 e a sua cinética de sorção foi representada nas Figuras 3.7 e 3.8. Os ensaios foram realizados em triplicado e os valores das massas iniciais eram

discrepantes entre si, o que resultou em valores elevados de desvio padrão, como se pode verificar na Tabela 3.3. Por este motivo, para representar a cinética de sorção de cada material, foi utilizado apenas um dos triplicados como referência, em vez de um valor médio.

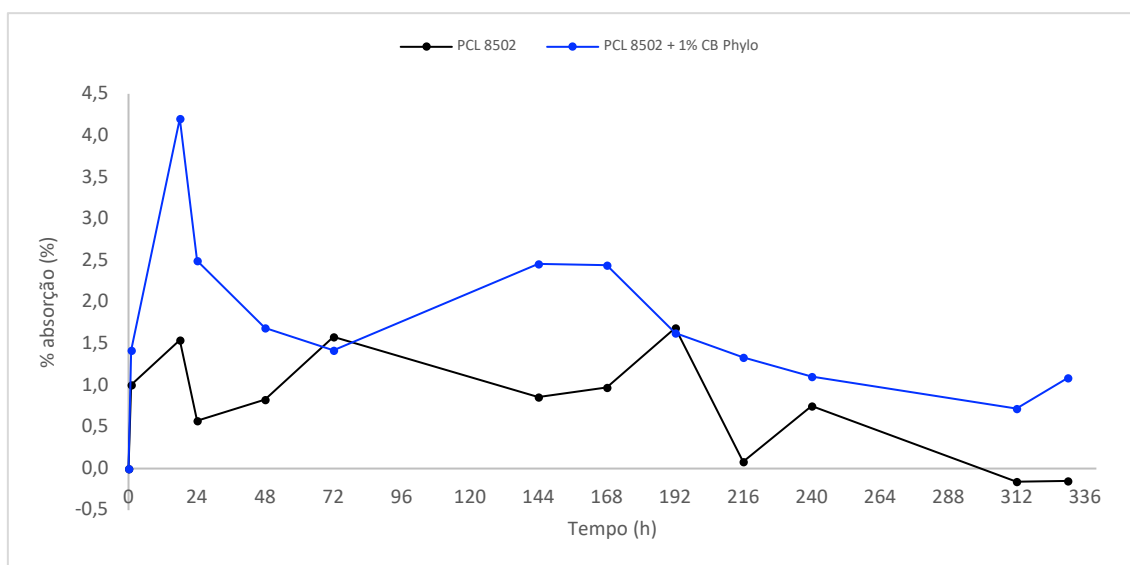
**Tabela 8.3** – Variações percentuais da massa das amostras submetidas ao ensaio de sorção durante 15 dias.

Tempo (h) Amostra	Variação da massa (%)											
	1	18	24	48	72	144	168	192	216	240	312	330
PCL 6800	1,99 ± 1,04	2,99 ± 2,49	3,79 ± 1,83	1,63 ± 1,38	2,30 ± 2,09	2,44 ± 0,62	2,32 ± 0,76	1,42 ± 1,09	1,39 ± 0,34	1,01 ± 0,42	0,89 ± 0,21	1,21 ± 0,80
PCL 6800 + 1% CB Al-17	0,33 ± 0,23	1,01 ± 0,14	1,55 ± 0,51	1,68 ± 0,27	1,38 ± 0,09	1,49 ± 0,26	1,71 ± 0,41	1,84 ± 0,28	1,88 ± 0,25	1,76 ± 0,21	1,59 ± 0,27	1,97 ± 0,32
PCL 6800 + 1% CB Phyllo	0,74 ± 0,31	1,26 ± 0,56	1,17 ± 0,59	1,19 ± 0,76	1,98 ± 2,28	1,37 ± 0,48	1,42 ± 0,34	1,40 ± 0,56	1,45 ± 0,62	1,28 ± 0,41	1,25 ± 0,32	1,35 ± 0,41
PCL 6800 + 2% CB Phyllo	0,96 ± 0,27	2,33 ± 0,81	1,24 ± 0,53	1,45 ± 0,33	1,42 ± 0,13	1,49 ± 0,40	1,37 ± 1,49	1,49 ± 0,19	1,46 ± 0,32	1,02 ± 0,27	1,31 ± 0,14	1,95 ± 0,22
PCL 6800 + 5% CB Phyllo	0,38 ± 0,68	1,54 ± 0,67	1,59 ± 1,16	1,62 ± 1,25	2,27 ± 0,22	1,62 ± 1,41	1,97 ± 0,42	1,78 ± 1,07	2,00 ± 0,67	2,37 ± 0,82	2,08 ± 0,55	1,99 ± 0,39
PCL 8502	1,75 ± 0,50	3,11 ± 0,97	3,03 ± 1,44	0,84 ± 0,46	4,29 ± 2,35	0,25 ± 0,94	0,97 ± 1,11	2,33 ± 2,05	1,29 ± 1,12	-1,96 ± 12,07	-0,78 ± 12,41	-0,46 ± 12,81
PCL 8502 + 1% CB Phyllo	3,44 ± 2,63	4,20 ± 1,51	2,55 ± 0,22	1,74 ± 1,05	1,68 ± 1,51	2,46 ± 3,34	2,44 ± 8,73	1,34 ± 7,72	1,34 ± 8,72	1,08 ± 8,40	0,72 ± 8,07	0,65 ± 7,96





**Figura 3.7** – Variações percentuais da massa das amostras de matriz PCL 6800 submetidas aos ensaios de sorção durante 15 dias.



**Figura 3.8** – Variações percentuais da massa das amostras de matriz PCL 8502 submetidas aos ensaios de sorção durante os 15 dias.

A PCL, por ser um poliéster semicristalino, permite, em meio aquoso e numa fase inicial, a entrada de moléculas de água nas regiões amorfas da sua estrutura. De seguida, a água prossegue em direção aos domínios cristalinos do polímero [96]. Por esse motivo, durante as primeiras 48h, é possível observar que os compósitos de PCL 6800 sofreram um aumento de massa, em virtude da captação de água do meio, seguido de um decréscimo e estabilização gradual. Em relação à PCL 8502, o aumento significativo de massa sucedeu

nas primeiras 18h, seguido de um decréscimo progressivo até valores próximos da massa inicial. A PCL 8502 apresenta um ângulo de contacto ( $\theta = 76^\circ$ ) inferior ao da PCL 6800, na medida em que é uma PCL diol e, por isso, possui um grupo –OH nos dois terminais das suas cadeias [97]. Por conseguinte, a capacidade de absorção desse polímero foi superior à da PCL 6800.

Após análise das cinéticas de sorção, foi verificada uma maior absorção nos compósitos do que nos homopolímeros. Assim, é possível afirmar que a CB, sendo ela hidrófila, facilitou a entrada de água no compósito. Isto, porque a CB perde a suas ligações de hidrogénio e compensa através da formação de novas ligações de hidrogénio com as moléculas de água [98]. Consequentemente, aumenta a percentagem de absorção de água.

Relativamente à degradação hidrolítica, as massas iniciais e finais após secagem das amostras, assim como a percentagem de perda de massa, foram registadas na Tabela 3.4. Na maior parte dos casos, a degradação das amostras foi evidenciada pela deposição de resíduos no fundo dos tubos (material degradado).

**Tabela 3.9** – Massas iniciais e finais, em mg, e percentagem de perda de massa das amostras sujeitas à degradação hidrolítica.

Amostra	$m_i$ (mg)	$m_f$ (mg)	Perda de massa (%)
PCL 6800	122,23 ± 25,40	122,0 ± 25,4	0,24 ± 0,10
PCL 6800 + 1% CB Al-17	101,02 ± 7,25	100,4 ± 7,2	0,38 ± 0,19
PCL 6800 + 1% CB Phyllo	92,85 ± 12,27	92,7 ± 12,3	0,26 ± 0,05
PCL 6800 + 2% CB Phyllo	75,94 ± 5,66	75,8 ± 5,3	0,54 ± 0,43
PCL 6800 + 5% CB Phyllo	74,8 ± 31,2	74,3 ± 31,7	1,08 ± 1,25
PCL 8502	82,3 ± 30,4	74,8 ± 21,1	11,10 ± 14,32
PCL 8502 + 1% CB Phyllo	73,3 ± 22,8	71,7 ± 20,2	12,49 ± 8,89

A existência de CB na matriz de PCL pode levar ao aumento da separação das suas fases intermediárias (amorfa e cristalina), proporcionado uma perda de massa do compósito [99]. Ao longo das 2 semanas de ensaio, todas as amostras sofreram perda de

massa relativamente à sua massa inicial, tendo sido observada uma maior degradação hidrolítica nas amostras de PCL 8502 e respetivo compósito, por ser menos hidrófoba [97]. Tal acontecimento, resultou na rutura dessas amostras, o que também justifica a perda de massa mais elevada. Por outro lado, a lenta taxa de degradação da PCL 6800 em meio aquoso, devido à presença de menos grupos –OH, justifica a reduzida percentagem de perda de massa das amostras [65]. De um modo geral, a perda de massa dos compósitos foi sempre superior quando comparada com os homopolímeros, sendo possível inferir que o teor de CB na matriz foi proporcional à perda de massa, tal como relatou Kotcharat et al. [99].

### **3.5. Ensaio 4D**

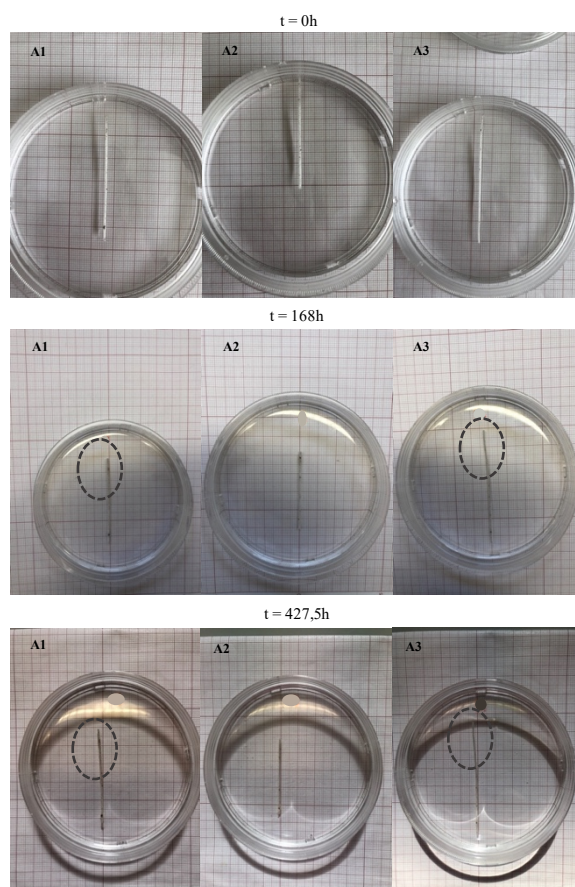
O ensaio 4D permitiu avaliar a capacidade de mudança de forma dos compósitos de PCL 6800 + 1% CB Al-17, PCL 8502 + 1% Phyllo e dos seus homopolímeros (PCL 6800 e 8502) quando submersas num meio aquoso, ao longo do tempo.

Relativamente aos filamentos A (Figura 3.9), os triplicados A1 e A3 sofreram ligeiras alterações na sua forma ao fim de 168h, sendo que o fim do ensaio ocorreu passadas 427,5h. O triplicado A2 não alterou a sua forma.

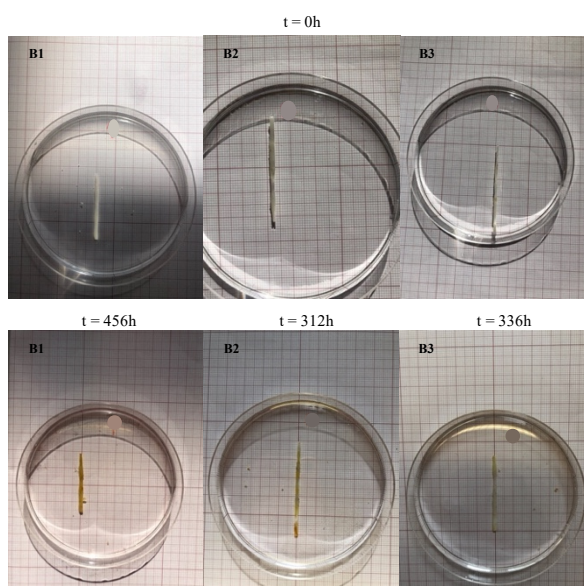
No que diz respeito aos filamentos B (Figura 3.10) e D (Figura 3.12), nenhum deles evidenciou qualquer alteração de forma durante as 456h e 312h de ensaio, respetivamente. No entanto, as amostras B2 e B3 partiram ao fim de 336h e 384h, respetivamente. Este acontecimento vem ao encontro do que ocorreu nos ensaios de sorção e degradação hidrolítica, onde também houve rutura das amostras que continham PCL 8502. Para além disso, houve alteração da cor dos filamentos de branco para amarelado.

Como já foi referido, os filamentos C (Figura 3.11) continham uma parte composta pelo homopolímero (PCL 6800) e outra pelo respetivo compósito (PCL 6800 + 1% CB Al-17). Todos os filamentos sofreram uma ligeira flexão na parte do compósito, que foi aumentando progressivamente até ao final do ensaio. Esta alteração de forma pode ser justificada pela divergência de comportamento entre constituintes do compósito perante a água. Deste modo, foi comprovada que a diferença de molhabilidade provocou um efeito 4D nos filamentos C, bem como nos filamentos A.

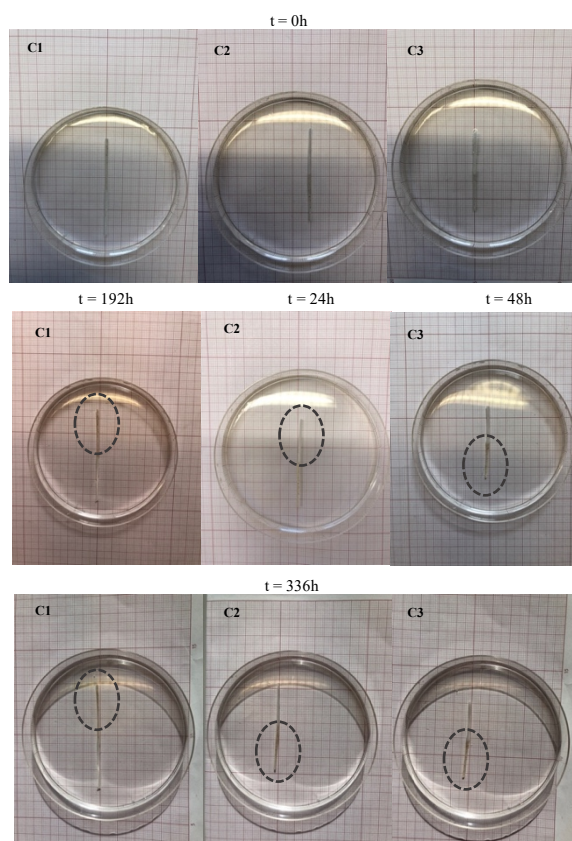
Deve ser ressaltado que esta breve discussão está sempre condicionada ao facto de as dimensões e conformação dos filamentos não serem constantes, uma vez que foram feitos manualmente.



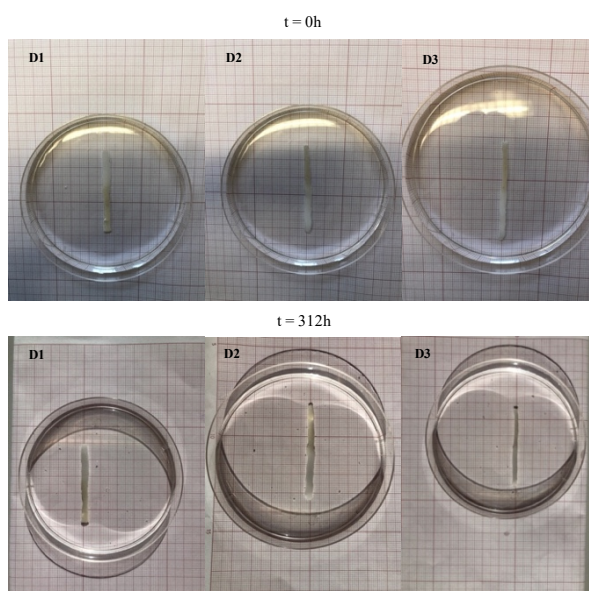
**Figura 3.9** – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos A constituídos pelo compósito de PCL 6800 + 1% CB Al-17 no início ( $t = 0h$ ), na primeira alteração ( $t = 168h$ ) e no fim do ensaio ( $t = 427,5h$ ).



**Figura 3.10** – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos B constituídos pelo compósito de PCL 8502 + 1% CB Phyllo no início do ensaio ( $t = 0h$ ), antes dos filamentos B2 e B3 partirem ( $t = 312h$  e  $t = 336h$ , respetivamente) e no fim do ensaio para o filamento B1 ( $t = 456h$ ).



**Figura 3.11** – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos C constituídos por PCL 6800 e PCL 6800 + 1% CB Al-17 no início do ensaio ( $t = 0h$ ), na primeira alteração ( $t = 192h$ ,  $t = 24h$  e  $t = 48h$  para os filamentos C1, C2 e C3, respetivamente) e no fim do ensaio ( $t = 336h$ ).



**Figura 3.12** – Registo fotográfico do comportamento dos filamentos D constituídos por PCL 8502 e PCL 8502 + 1% CB Phyllo no início do ensaio ( $t = 0h$ ) e no fim do ensaio ( $t = 312h$ ).

## CONCLUSÕES FINAIS

O objetivo deste presente estudo foi produzir um compósito de matriz PCL 6800 reforçado com o biopolímero produzido pela bactéria *Duganella sp. estirpe A1-17*, de modo a obter uma estrutura capaz de responder a um estímulo externo, provocando um efeito 4D. As principais conclusões retiradas podem ser resumidas de acordo com os seguintes pontos:

- A ausência de novos picos no espectro FTIR do compósito sugeriu que, ao invés de interações químicas, foram estabelecidas apenas interações físicas entre a PCL e a CB.

- Na curva DSC do compósito foi evidente o comportamento térmico da PCL 6800, devido ao baixo teor de CB na matriz, e, por isso, é possível concluir que o biopolímero não modificou o comportamento térmico do compósito.

- A medição do ângulo de contacto entre a água e a superfície dos materiais comprovou a hidrofobicidade da CB A1-17 e a hidrofobicidade da PCL 6800. Para além disso, foi verificado que a incorporação da CB na matriz provocou uma diminuição no seu ângulo de contacto, devido à presença de novos grupos –OH.

- Nos ensaios de sorção em PBS foi verificada uma maior absorção nos compósitos do que nos homopolímeros, sendo possível afirmar que a CB, sendo hidrófila, atraiu mais moléculas de água.

- Relativamente à degradação hidrolítica, todas as amostras sofreram perda de massa relativamente à sua massa inicial, tendo sido observada uma maior degradação nas amostras de PCL 8502 e respetivo compósito. De um modo geral, a perda de massa dos compósitos foi sempre superior quando comparada à dos homopolímeros.

- Na avaliação da capacidade 4D dos filamentos, apenas os compósitos, por apresentarem materiais com comportamentos diferentes perante a água, mudaram de forma quando submersos em água. Assim, foi comprovada que a diferença de molhabilidade provocou um efeito 4D nos filamentos.

Como trabalho futuro, é sugerida uma otimização dos ensaios 4D, através da impressão 3D dos filamentos, de maneira que todos possuam a mesma dimensão e não haja

interferência nos resultados dos ensaios. Para além disso, seria interessante estudar a resposta a outros estímulos externos, tais como o pH, a temperatura e radiação UV.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASTM, Standard Terminology for Additive Manufacturing Technologies, ASTM Int. (2013) 1–3. <https://doi.org/10.1520/F2792-12A.2>.
- [2] S.H. Huang, P. Liu, A. Mokasdar, L. Hou, Additive manufacturing and its societal impact: a literature review, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 67 (2013) 1191–1203. <https://doi.org/10.1007/s00170-012-4558-5>.
- [3] X. Wang, M. Jiang, Z. Zhou, J. Gou, D. Hui, 3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective, *Compos. Part B Eng.* 110 (2017) 442–458. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.11.034>.
- [4] J. Domingues, T. Marques, A. Mateus, P. Carreira, C. Malça, An Additive Manufacturing Solution to Produce Big Green Parts from Tires and Recycled Plastics, *Procedia Manuf.* 12 (2017) 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2017.08.028>.
- [5] R. Zou, Y. Xia, S. Liu, P. Hu, W. Hou, Q. Hu, C. Shan, Isotropic and anisotropic elasticity and yielding of 3D printed material, *Compos. Part B Eng.* 99 (2016) 506–513. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.06.009>.
- [6] O.S. Carneiro, A.F. Silva, R. Gomes, Fused deposition modeling with polypropylene, *Mater. Des.* 83 (2015) 768–776. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2015.06.053>.
- [7] S.C. Ligon, R. Liska, J. Stampfl, M. Gurr, R. Mühlaupt, Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing, *Chem. Rev.* 117 (2017) 10212–10290. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00074>.
- [8] I.J. Solomon, P. Sevel, J. Gunasekaran, A review on the various processing parameters in FDM, *Mater. Today Proc.* (2020) 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.484>.
- [9] F. Pati, J. Jang, J.W. Lee, D.W. Cho, Extrusion bioprinting, 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800972-7.00007-4>.
- [10] T.D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K.T.Q. Nguyen, D. Hui, Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges, *Compos. Part B Eng.* 143 (2018) 172–196. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012>.
- [11] I. Jasiuk, D.W. Abueidda, C. Kozuch, S. Pang, F.Y. Su, J. McKittrick, An Overview



- on Additive Manufacturing of Polymers, *Jom.* 70 (2018) 275–283. <https://doi.org/10.1007/s11837-017-2730-y>.
- [12] R.J. Young, P.A. Lovell, Introduction to Polymers, in: Carraher's Polym. Chem., 3<sup>a</sup> Edition, CRC Press, 2011: pp. 9–10. <https://doi.org/10.1201/b15405-5>.
- [13] C.C. Ibeh, Thermoplastic Materials - Properties, Manufacturing Methods, and Applications, 2011. <https://doi.org/10.1201/b13623>.
- [14] A. Bîrca, O. Gherasim, V. Grumezescu, A.M. Grumezescu, Introduction in thermoplastic and thermosetting polymers, *Mater. Biomed. Eng. Thermoset Thermoplast. Polym.* (2019) 1–28. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816874-5.00001-3>.
- [15] C.M. González-Henríquez, M.A. Sarabia-Vallejos, J. Rodríguez-Hernandez, Polymers for additive manufacturing and 4D-printing: Materials, methodologies, and biomedical applications, *Prog. Polym. Sci.* 94 (2019) 57–116. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2019.03.001>.
- [16] L.C. Duarte, T.C. De Carvalho, E.O. Lobo-Júnior, P. V. Abdelnur, B.G. Vaz, W.K.T. Coltro, 3D printing of microfluidic devices for paper-assisted direct spray ionization mass spectrometry, *Anal. Methods.* 8 (2016) 496–503. <https://doi.org/10.1039/c5ay03074a>.
- [17] L.C. Duarte, C.L.S. Chagas, L.E.B. Ribeiro, W.K.T. Coltro, 3D printing of microfluidic devices with embedded sensing electrodes for generating and measuring the size of microdroplets based on contactless conductivity detection, *Sensors Actuators, B Chem.* 251 (2017) 427–432. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.05.011>.
- [18] A.C. Pinho, C.S. Buga, A.P. Piedade, The chemistry behind 4D printing, *Appl. Mater. Today.* 19 (2020) 100611. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100611>.
- [19] L. Sun, W.M. Huang, Z. Ding, Y. Zhao, C.C. Wang, H. Purnawali, C. Tang, Stimulus-responsive shape memory materials: A review, *Mater. Des.* 33 (2012) 577–640. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2011.04.065>.
- [20] X. Li, J. Shang, Z. Wang, Intelligent materials: a review of applications in 4D printing, *Assem. Autom.* 37 (2017) 170–185. <https://doi.org/10.1108/AA-11-2015-093>.
- [21] Z.X. Khoo, J.E.M. Teoh, Y. Liu, C.K. Chua, S. Yang, J. An, K.F. Leong, W.Y. Yeong, 3D printing of smart materials: A review on recent progresses in 4D printing, *Virtual Phys. Prototyp.* 10 (2015) 103–122. <https://doi.org/10.1080/17452759.2015.1097054>.

- [22] Q. Zhang, D. Yan, K. Zhang, G. Hu, Pattern Transformation of Heat-Shrinkable Polymer by Three-Dimensional (3D) Printing Technique, *Sci. Rep.* 5 (2015) 24–27. <https://doi.org/10.1038/srep08936>.
- [23] X. Wu, W. Huang, Y. Zhao, Z. Ding, C. Tang, J. Zhang, Mechanisms of the Shape Memory Effect in Polymeric Materials, *Polymers (Basel)*. 5 (2013) 1169–1202. <https://doi.org/10.3390/polym5041169>.
- [24] P.J. Haines, *Thermal Methods of Analysis*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3>.
- [25] Y. Zhang, X. Jing, K. Jing, L. Chang, W. Bao, Study on the pore structure and oxygen-containing functional groups devoting to the hydrophilic force of dewatered lignite, *Appl. Surf. Sci.* 324 (2015) 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.10.126>.
- [26] D. Ma, Y. Li, Z. Li, Tuning the moisture stability of metal–organic frameworks by incorporating hydrophobic functional groups at different positions of ligands, *Chem. Commun.* 47 (2011) 7377. <https://doi.org/10.1039/c1cc11752a>.
- [27] N.A. Peppas, J.Z. Hilt, A. Khademhosseini, R. Langer, *Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology*, *Adv. Mater.* 18 (2006) 1345–1360. <https://doi.org/10.1002/adma.200501612>.
- [28] Z. Zhao, J. Wu, X. Mu, H. Chen, H.J. Qi, D. Fang, Desolvation Induced Origami of Photocurable Polymers by Digit Light Processing, *Macromol. Rapid Commun.* 38 (2017) 1600625. <https://doi.org/10.1002/marc.201600625>.
- [29] J.-F. Gohy, Y. Zhao, Photo-responsive block copolymer micelles: design and behavior, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 7117. <https://doi.org/10.1039/c3cs35469e>.
- [30] H.Y. Jiang, S. Kelch, A. Lendlein, Polymers Move in Response to Light, *Adv. Mater.* 18 (2006) 1471–1475. <https://doi.org/10.1002/adma.200502266>.
- [31] S. Wang, Y. Song, L. Jiang, Photoresponsive surfaces with controllable wettability, *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* 8 (2007) 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2007.03.001>.
- [32] Z. Zhang, K.G. Demir, G.X. Gu, Developments in 4D-printing: a review on current smart materials, technologies, and applications, *Int. J. Smart Nano Mater.* 10 (2019) 205–224. <https://doi.org/10.1080/19475411.2019.1591541>.
- [33] A. Lendlein, H. Jiang, O. Junger, R. Langer, Light-induced shape-memory polymers, *Nature*. 434 (2005) 879–882. <https://doi.org/10.1038/nature03438.1>.

- [34] K. Ahmed, M.N.I. Shiblee, A. Khosla, L. Nagahara, T. Thundat, H. Furukawa, Review—Recent Progresses in 4D Printing of Gel Materials, *J. Electrochem. Soc.* 167 (2020) 037563. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ab6e60>.
- [35] N. Shah, M. Ul-Islam, W.A. Khattak, J.K. Park, Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material, *Carbohydr. Polym.* 98 (2013) 1585–1598. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.018>.
- [36] R. Portela, C.R. Leal, P.L. Almeida, R.G. Sobral, Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications, *Microb. Biotechnol.* 12 (2019) 586–610. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13392>.
- [37] F.K. Andrade, F. Dourado, F.M. Gama, R.N. Pertile, Bacterial Cellulose: Properties , Production and Applications, in: *Nov. Sci. Publ.*, 2010: pp. 427–458.
- [38] É.B. Duarte, F.K. Andrade, H.L.S. Lima, E.S. do Nascimento, M.J.M. Carneiro, M. de F. Borges, E.P.C.G. Luz, B.S. das Chagas, M. de F. Rosa, Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações, *Doc. (Embrapa Agroindústria Trop.* (2019).
- [39] J. Wang, J. Tavakoli, Y. Tang, Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review, *Carbohydr. Polym.* 219 (2019) 63–76. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008>.
- [40] M. Ul-Islam, T. Khan, J.K. Park, Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification, *Carbohydr. Polym.* 88 (2012) 596–603. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.006>.
- [41] A. Bismarck, I. Aranberri-Askargorta, J. Springer, T. Lampke, B. Wielage, A. Stamboulis, I. Shenderovich, H.-H. Limbach, Surface characterization of flax, hemp and cellulose fibers; Surface properties and the water uptake behavior, *Polym. Compos.* 23 (2002) 872–894. <https://doi.org/10.1002/pc.10485>.
- [42] A. R. Rebelo, A.J. Archer, X. Chen, C. Liu, G. Yang, Y. Liu, Dehydration of bacterial cellulose and the water content effects on its viscoelastic and electrochemical properties, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 19 (2018) 203–211. <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1430981>.
- [43] N.N. Boulos, H. Greenfield, R.B.H. Wills, Water holding capacity of selected soluble and insoluble dietary fibre, *Int. J. Food Prop.* 3 (2000) 217–231. <https://doi.org/10.1080/10942910009524629>.

- [44] S. Park, J.O. Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla, D.K. Johnson, Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance, *Biotechnol. Fo Biofuels*. 3 (2010) 1–10.
- [45] N. Tahara, M. Tabuchi, K. Watanabe, H. Yano, Y. Morinaga, F. Yoshinaga, Degree of Polymerization of Cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 Decreased by Cellulase Produced by the Strain, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61 (1997) 1862–1865. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.1862>.
- [46] R. Khajavi, E.J. Esfahani, M. Sattari, Crystalline structure of microbial cellulose compared with native and regenerated cellulose, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 60 (2011) 1178–1192. <https://doi.org/10.1080/00914037.2010.551372>.
- [47] L.R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. van Zyl, I.S. Pretorius, Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66 (2002) 506–577. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002>.
- [48] E.E. Al-Shamary, A.K.A.- Darwash, Influence of Fermentation Condition and Alkali Treatment on the Porosity and Thickness of Bacterial Cellulose Membranes, *Online J. Sci. Technol.* 3 (2013) 194–203.
- [49] D. Klemm, B. Heublein, H.P. Fink, A. Bohn, Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 44 (2005) 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>.
- [50] X. Feng, N. Ullah, X. Wang, X. Sun, C. Li, Y. Bai, L. Chen, Z. Li, Characterization of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917, *J. Food Sci.* 80 (2015) E2217–E2227. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13010>.
- [51] L.J. Gibson, The hierarchical structure and mechanics of plant materials, *J. R. Soc. Interface.* 9 (2012) 2749–2766. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0341>.
- [52] R.J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen, J. Youngblood, Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites, 2011. <https://doi.org/10.1039/c0cs00108b>.
- [53] K.L. Spiller, S.A. Maher, A.M. Lowman, Hydrogels for the Repair of Articular Cartilage Defects, *Tissue Eng. Part B Rev.* 17 (2011) 281–299. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2011.0077>.
- [54] B.F.A. Valente, *Novos biomateriais baseados em celulose bacteriana para aplicações biomédicas*, 2014.

- [55] B. AJ, The chemical action of pure cultivations of bacterium aceti., *J. Chem. Soc. Trans.* (1886) 172–187.  
<http://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/1886/ct/ct8864900172>.
- [56] I. Reiniati, A.N. Hrymak, A. Margaritis, Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals, *Crit. Rev. Biotechnol.* 37 (2017) 510–524. <https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1189871>.
- [57] R. Jonas, L.F. Farah, Production and application of microbial cellulose, *Polym. Degrad. Stab.* 59 (1998) 101–106. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00197-3).
- [58] K. Watanabe, M. Tabuchi, Y. Morinaga, F. Yoshinaga, Structural features and properties of bacterial cellulose produced in agitated culture, *Cellulose.* 5 (1998) 187–200. <https://doi.org/10.1023/A:1009272904582>.
- [59] S.M. Keshk, Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications, *J. Bioprocess. Biotech.* 04 (2014). <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000150>.
- [60] F. Horii, H. Yamamoto, A. Hirai, Microstructural Analysis of Microfibrils of Bacterial Cellulose, *Macromol. Symp.* 120 (1997) 197–205.  
<https://doi.org/10.1002/masy.19971200120>.
- [61] G.F. Picheth, C.L. Pirich, M.R. Sierakowski, M.A. Woehl, C.N. Sakakibara, C.F. de Souza, A.A. Martin, R. da Silva, R.A. de Freitas, Bacterial cellulose in biomedical applications: A review, *Int. J. Biol. Macromol.* 104 (2017) 97–106.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171>.
- [62] A. Cipitria, A. Skelton, T.R. Dargaville, P.D. Dalton, D.W. Hutmacher, Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review, *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 9419. <https://doi.org/10.1039/c0jm04502k>.
- [63] N. Siddiqui, S. Asawa, B. Birru, R. Baadhe, S. Rao, PCL-Based Composite Scaffold Matrices for Tissue Engineering Applications, *Mol. Biotechnol.* 60 (2018) 506–532.  
<https://doi.org/10.1007/s12033-018-0084-5>.
- [64] R. Song, M. Murphy, C. Li, K. Ting, C. Soo, Z. Zheng, Current development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications, *Drug Des. Devel. Ther.* 12 (2018) 3117–3145. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S165440>.
- [65] C.K.S. Pillai, C.P. Sharma, Review Paper: Absorbable Polymeric Surgical Sutures: Chemistry, Production, Properties, Biodegradability, and Performance, *J. Biomater. Appl.* 25 (2010) 291–366. <https://doi.org/10.1177/0885328210384890>.

- [66] A. Charuchinda, R. Molloy, J. Siripitayananon, N. Molloy, Factors influencing the small-scale melt spinning of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) monofilament fibres, *Polym. Int.* 52 (2003) 1175–1181. <https://doi.org/10.1002/pi.1234>.
- [67] R.M. Mohamed, K. Yusoh, A Review on the Recent Research of Polycaprolactone (PCL), *Adv. Mater. Res.* 1134 (2015) 249–255. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1134.249>.
- [68] B. Lindman, G. Karlström, L. Stigsson, On the mechanism of dissolution of cellulose, *J. Mol. Liq.* 156 (2010) 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2010.04.016>.
- [69] E.L. Smith, A.P. Abbott, K.S. Ryder, Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications, *Chem. Rev.* 114 (2014) 11060–11082. <https://doi.org/10.1021/cr300162p>.
- [70] M. Ul-Islam, S. Khan, M.W. Ullah, J.K. Park, Bacterial cellulose composites: Synthetic strategies and multiple applications in bio-medical and electro-conductive fields, *Biotechnol. J.* 10 (2015) 1847–1861. <https://doi.org/10.1002/biot.201500106>.
- [71] S. Gea, C.T. Reynolds, N. Roohpur, N. Soykeabkaew, B. Wirjosentono, E. Bilotti, T. Peijs, Biodegradable Composites Based on Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) and Bacterial Cellulose as a Reinforcing Agent, *J. Biobased Mater. Bioenergy.* 4 (2010) 384–390. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2010.1108>.
- [72] I.M.G. Martins, S.P. Magina, L. Oliveira, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, A. Gandini, New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose, *Compos. Sci. Technol.* 69 (2009) 2163–2168. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2009.05.012>.
- [73] J.S. Gaffney, N.A. Marley, D.E. Jones, *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*, Elsevier, 2012. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-22072-1>.
- [74] D.M. Price, D.J. Hourston, F. Dumont, Thermogravimetry of Polymers, in: *Encycl. Anal. Chem.*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006: pp. 1–12. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a2037>.
- [75] J. Drzeżdżon, D. Jacewicz, A. Sielicka, L. Chmurzyński, Characterization of polymers based on differential scanning calorimetry based techniques, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 110 (2019) 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.037>.
- [76] T. Huhtamäki, X. Tian, J.T. Korhonen, R.H.A. Ras, Surface-wetting characterization using contact-angle measurements, *Nat. Protoc.* 13 (2018) 1521–1538.

- <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0003-z>.
- [77] A. Pietrikova, P. Lukacs, D. Jakubeczyova, B. Balloková, J. Potencki, G. Tomaszewski, J. Pekarek, K. Prikrylova, M. Fides, Surface analysis of polymeric substrates used for inkjet printing technology, *Circuit World*. 42 (2016) 9–16. <https://doi.org/10.1108/CW-10-2015-0047>.
- [78] M.S. Bell, A. Borhan, A Volume-Corrected Wenzel Model, *ACS Omega*. 5 (2020) 8875–8884. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00495>.
- [79] E.A. Vogler, Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces, *Adv. Colloid Interface Sci.* 74 (1998) 69–117. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(97\)00040-7](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(97)00040-7).
- [80] B. Tylkowski, I. Tsibranska, Overview of main technique used for membrane characterization, *J. Chem. Technol. Metall.* 50 (2015) 3–12.
- [81] A. Raffaella, R.V. V. Petrescu, A. Antonio, F.I.T. Petrescu, Physiologic human fluids and swelling behavior of hydrophilic biocompatible hybrid ceramo-polymeric materials, *Am. J. Eng. Appl. Sci.* 9 (2016) 962–972. <https://doi.org/10.3844/ajeassp.2016.962.972>.
- [82] C. Castro, R. Zuluaga, J.L. Putaux, G. Caro, I. Mondragon, P. Gañán, Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.072>.
- [83] L. Urbina, I. Algar, C. García-Astrain, N. Gabilondo, A. González, M. Corcuera, A. Eceiza, A. Retegi, Biodegradable composites with improved barrier properties and transparency from the impregnation of PLA to bacterial cellulose membranes, *J. Appl. Polym. Sci.* 133 (2016) 1–10. <https://doi.org/10.1002/app.43669>.
- [84] N. Atykyan, V. Revin, V. Shutova, Raman and FT-IR Spectroscopy investigation the cellulose structural differences from bacteria *Gluconacetobacter sucrofermentans* during the different regimes of cultivation on a molasses media, *AMB Express*. 10 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01020-8>.
- [85] V. Hospodarova, E. Singovszka, N. Stevulova, Characterization of Cellulosic Fibers by FTIR Spectroscopy for Their Further Implementation to Building Materials, *Am. J. Anal. Chem.* 09 (2018) 303–310. <https://doi.org/10.4236/ajac.2018.96023>.
- [86] IR Spectroscopy Tutorial: Aromatics, (n.d.). <https://orgchemboulder.com/Spectroscopy/irtutor/aromaticsir.shtml>.
-

- [87] F. Xu, J. Yu, T. Tesso, F. Dowell, D. Wang, Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review, *Appl. Energy*. 104 (2013) 801–809. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.019>.
- [88] A.R.P. Figueiredo, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, C.S.R. Freire, In situ synthesis of bacterial cellulose/polycaprolactone blends for hot pressing nanocomposite films production, *Carbohydr. Polym.* 132 (2015) 400–408. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.001>.
- [89] E.M. Abdelrazek, A.M. Hezma, A. El-khodary, A.M. Elzayat, Spectroscopic studies and thermal properties of PCL/PMMA biopolymer blend, *Egypt. J. Basic Appl. Sci.* 3 (2016) 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2015.06.001>.
- [90] C. Zaharia, E. Vasile, B. Galateanu, Bacterial Cellulose-polyhydroxyalkanoates Composites, (2014) 2016–2019.
- [91] T. Elzein, M. Nasser-Eddine, C. Delaite, S. Bistac, P. Dumas, FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces, *J. Colloid Interface Sci.* 273 (2004) 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.001>.
- [92] X. Qin, D. Wu, Effect of different solvents on poly(caprolactone)(PCL) electrospun nonwoven membranes, *J. Therm. Anal. Calorim.* 107 (2012) 1007–1013. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1640-4>.
- [93] B. V. Mohite, S. V. Patil, Physical, structural, mechanical and thermal characterization of bacterial cellulose by *G. hansenii* NCIM 2529, *Carbohydr. Polym.* 106 (2014) 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.012>.
- [94] J. George, K.V. Ramana, S.N. Sabapathy, J.H. Jagannath, A.S. Bawa, Characterization of chemically treated bacterial (*Acetobacter xylinum*) biopolymer: Some thermo-mechanical properties, *Int. J. Biol. Macromol.* 37 (2005) 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.10.007>.
- [95] C.C. Yeh, C.N. Chen, Y.T. Li, C.W. Chang, M.Y. Cheng, H.I. Chang, The effect of polymer molecular weight and UV radiation on physical properties and bioactivities of PCL films, *Cell. Polym.* 30 (2011) 261–276. <https://doi.org/10.1177/026248931103000503>.
- [96] D.C. França, E.B. Bezerra, D.D. De Souza Morais, E.M. Araújo, R.M.R. Wellen, Hydrolytic and thermal degradation of PCL and PCL/bentonite compounds, *Mater. Res.* 19 (2016) 618–627. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2015-0797>.



- [97] F.R.M. Fonseca, Impressão 3D de Nanocompósitos: as bactérias como fornecedores de matéria-prima, Universidade de Coimbra, 2017.
- [98] W.H. Wan Ishak, N.A. Rosli, I. Ahmad, Influence of amorphous cellulose on mechanical, thermal, and hydrolytic degradation of poly(lactic acid) biocomposites, *Sci. Rep.* 10 (2020) 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68274-x>.
- [99] P. Kotcharat, P. Chuysinuan, T. Thanyacharoen, S. Techasakul, S. Ummartyotin, Development of bacterial cellulose and polycaprolactone (PCL) based composite for medical material, *Sustain. Chem. Pharm.* 20 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100404>.

## APÊNDICE A – FOTOGRAFIAS DA CB Al-17



**Figura A1** – CB Al-17.



**Figura A2** – CB Al-17 depois de moída.

## APÊNDICE B – FOTOGRAFIAS DO COMPÓSITO DE PCL 6800 + 1% CB Al-17



**Figura B1** – Compósito de PCL 6800 + 1 % CB Al-17.



Figura B2 – Compósito de PCL 6800 + 1 % CB Al-17 sob a forma de *pellets*.

## APÊNDICE C – CURVAS DSC DOS MATERIAIS EM ESTUDO

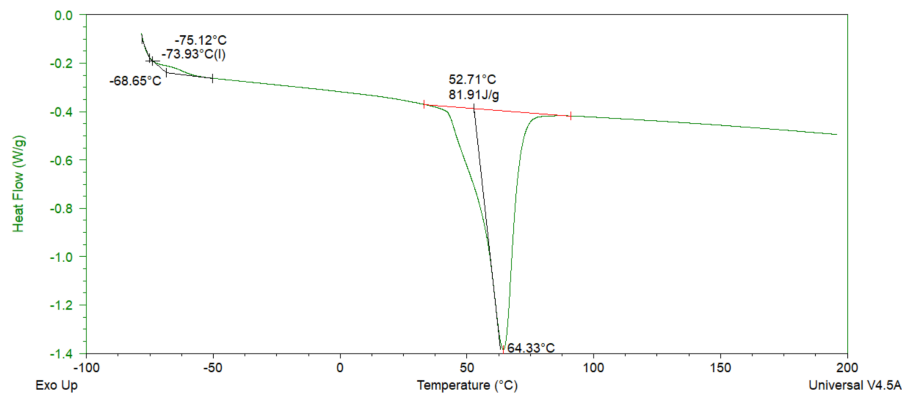


Figura C1 – Curva DSC da PCL 6800 analisada com recurso ao software TA Instrument.

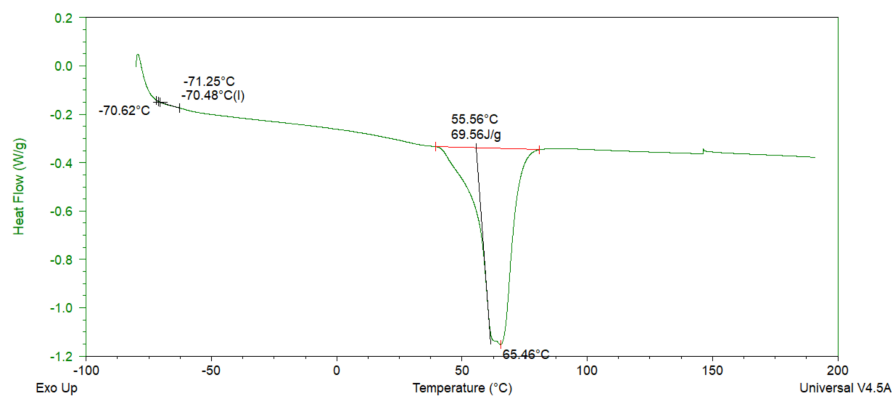


Figura C2 – Curva DSC do compósito de PCL 6800 + 1% CB Al-17 analisada com recurso ao software TA Instrument.

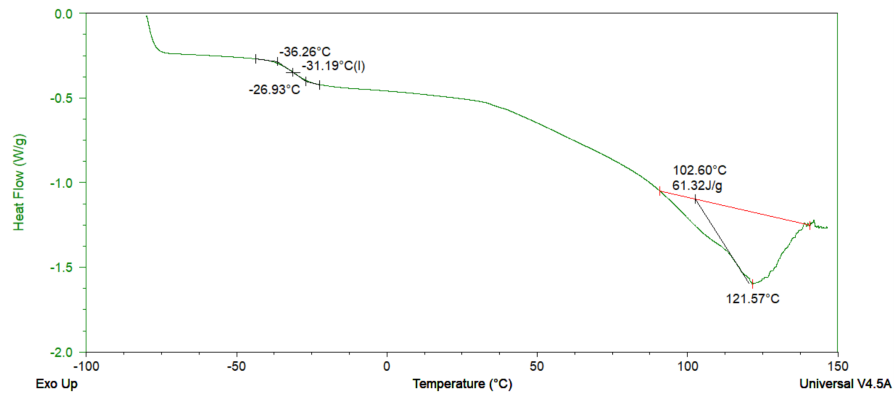


Figura C3 – Curva DSC da CB Al-17 antes do processo de secagem analisada com recurso ao software TA Instrument.

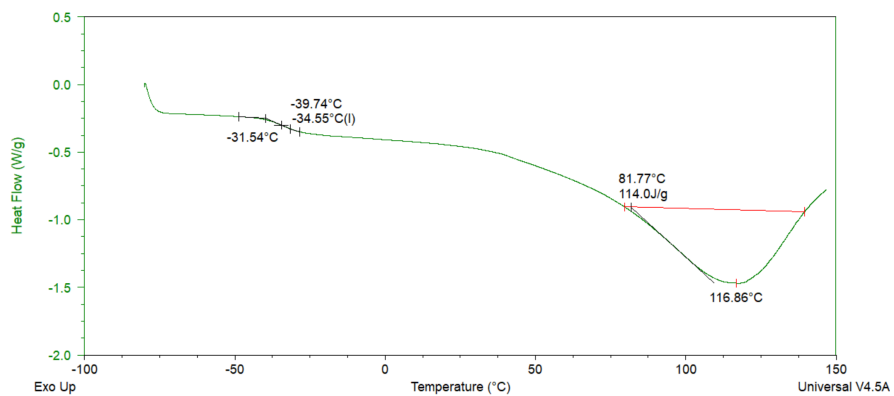


Figura C4 – Curva DSC da CB Al-17 depois do processo de secagem analisada com recurso ao software TA Instrument.

## APÊNDICE D – FOTOGRAFIA DO ÂNGULO DE CONTACTO ENTRE A ÁGUA E A SUPERFÍCIE DOS MATERIAIS

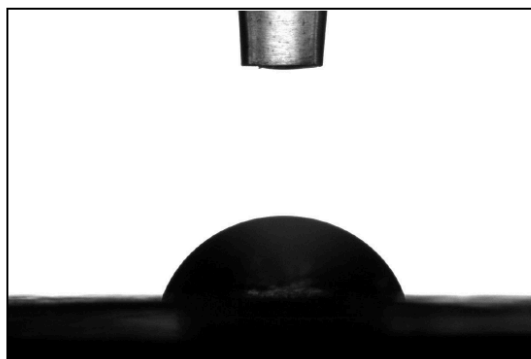
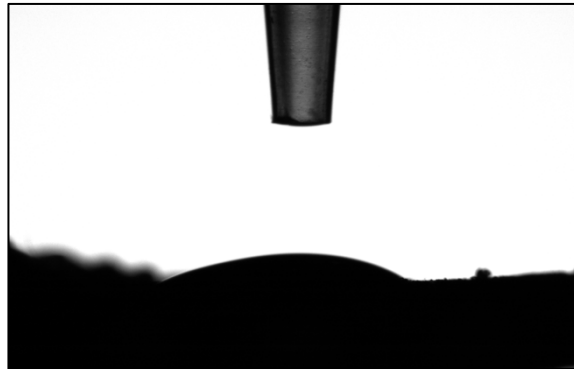
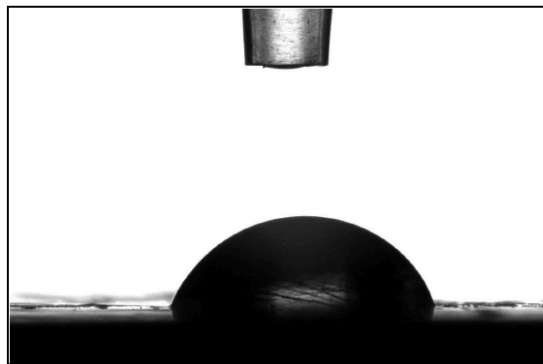


Figura D1 – Fotografia do ângulo de contacto entre a água e a PCL 6800.

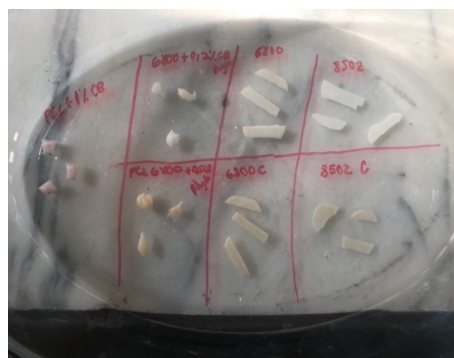


**Figura D2** – Fotografia do ângulo de contacto entre a água e a CB Al-17.



**Figura D3** – Fotografia do ângulo de contacto entre a água e o compósito PCL 6800 + 1% CB Al-17.

## APÊNDICE E – FOTOGRAFIAS DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS AO ENSAIO DE SORÇÃO EM ÁGUA/DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA



**Figura E1** – Amostras secas submetidas ao ensaio de sorção em água/degradação hidrolítica.



**Figura E2** – Amostras depois de submetidas ao ensaio de sorção em água/degradação hidrolítica.