



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

NATÁLIA INÊS GONÇALVES

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE
POLIETILMETACRILATO/NISTATINA PRODUZIDAS POR
ELETROFIAÇÃO**

2017

NATÁLIA INÊS GONÇALVES

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE
POLIETILMETACRILATO/NISTATINA PRODUZIDAS POR ELETROFIAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte das exigências para a obtenção do grau de CIRURGIÃO-DENTISTA.

Orientador: Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges

Coorientadora: Me. Jéssica Dias Santos

São José dos Campos

2017

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2018]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Gonçalves, Natália Inês

Síntese e caracterização de nanofibras de polietilmetacrilato/nistatina produzidas por eletrofiação / Natália Inês Gonçalves. - São José dos Campos : [s.n.], 2017.
33 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Graduação em Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2017.

Orientador: Alexandre Luiz Souto Borges.

1. Nanofibras. 2. Eletrofiação. 3. Polietilmetacrilato. I. Borges, Alexandre Luiz Souto, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese

Prof. Assit. João Maurício Ferraz da Silva

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese

Prof. Assist. Rodrigo Dias Nascimento

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Departamento de Diagnóstico e Cirurgia

São José dos Campos, 06 de novembro de 2017.

DEDICATÓRIA

À **Deus**, que na Sua infinita sabedoria me guiou até aqui. Me deu força e capacidade para vencer cada dificuldade. E por ter me ensinado uma das mais valiosas lições: “Tudo tem seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu”. Eclesiastes, 3:1.

Aos meu pais, **Leduíno** e **Rosana**, pelo imensurável apoio. Essa luta foi por vocês, que se esforçaram para me ajudar a chegar até aqui e nunca deixaram de acreditar em mim. Amo vocês eternamente!

Às minhas irmãs, **Fernanda** e **Marcela**, e meus cunhados, **Carlos** e **Renato**.
Pela amizade, conselhos e todo apoio de sempre. Não tenho palavras para expressar o que vocês são para mim! Juntamente com meus pais, foram o chão quando tudo desabou e me deram forças para me reerguer quando precisei.

À **Grazielle**, irmã que a vida me deu e está ao meu lado desde a infância. Mesmo longe, sempre estive perto, comemorando minhas vitórias e me ajudando a superar as dificuldades que surgiram.

Aos meus amigos da escola, **Ana Beatriz**, **Ana Flávia**, **Barbara**, **Bruna**, **Débora**, **Fernanda**, **Rafaella** e **Thiago**. Impossível expressar o quanto significa para mim conservar a amizade de vocês até hoje. Desde antes da época do vestibular, desde outros sonhos. Eventualmente cada um seguiu seu caminho, em carreiras totalmente diferentes e alguns até mudaram para outras cidades.

Mas nunca nada nos impediu de estarmos perto nos momentos mais importantes de nossas vidas. Na alegria e na tristeza, vocês me apoiaram e me ajudaram a vencer essa luta.

Aos meus amigos da faculdade, em especial à **Bruna**, **Drielle**, **Fernanda**, **Joyce**, **Leonardo**, **Lidiane**, **Lucinda**, **Monique**, **Nathália**, **Tamires** e **Thaynara**, que desde os tempos de calouros caminharam ao meu lado. Vencemos juntos

essa batalha. Obrigada pelo imenso apoio! Sem ele, não teria chego até aqui! E por me deixar viver essa experiência indescritível ao lado de vocês! Tenho muito orgulho de cada um!

À **Luciana Lemos**, um presente que surgiu de uma forma totalmente inesperada e muito me ensinou. Com certeza, hoje não seria a mesma pessoa sem você. Minha eterna e imensa gratidão!!

AGRADECIMENTOS

Ao professor **Alexandre**, que me introduziu à disciplina de Materiais Dentários e Prótese. Obrigada por todo ensinamento ao longo dos anos de graduação, por me dar a oportunidade de ser sua orientada e sempre acreditar em mim.

À **Jéssica**, que me coorientou nesse trabalho, sempre deixando tudo mais leve. Obrigada pela paciência, toda a ajuda e aprendizado!

Ao **Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – UNESP**, minha segunda casa, que me proporcionou experiências incríveis e me fez apaixonar por essa linda profissão que é a Odontologia. Sempre serei imensamente grata à Universidade e cada profissional que cruzei o caminho, todos colaboraram para formar a pessoa e profissional que sou hoje.

"O tempo tem uma forma maravilhosa de nos mostrar o que realmente importa".

Caio Fernando Abreu

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Produção da solução de PEMA com adição da nistatina	13
2.2 Produção das nanofibras: técnica da eletrofiação	13
2.3 Produção das nanofibras de PEMA com nistatina	14
2.4 Testes para a caracterização das nanofibras	15
2.4.1 Microscopia eletrônica de varredura	15
2.4.2 Análise do diâmetro médio das fibras	16
2.4.3 Análise da molhabilidade utilizando a técnica do ângulo de contato	17
2.4.4 Análise da difratometria de raios-X	17
2.4.5 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier	17
2.5 Análise estatística	18
3 RESULTADOS	19
3.1 Microscopia eletrônica de varredura	19
3.1.1 Análise do diâmetro médio das fibras	20
3.2 Análise da molhabilidade utilizando a técnica do ângulo de contato	24
3.3 Análise da difratometria de raios-X	24
3.4 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier	25
4 DISCUSSÃO	27
5 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

Gonçalves NI. Síntese e caracterização de nanofibras de polietilmetacrilato/nistatina produzidas por eletrofiação [trabalho de conclusão de curso]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi sintetizar e caracterizar mantas não tecidas de nanofibras de polietilmetacrilato (PEMA) com adição do antifúngico nistatina. Foi preparada a solução de PEMA diluído em dimetilformamida e 1,1,2,2-tetracloroetano e, em seguida, adicionada a nistatina, resultando uma concentração de 10 mg/ml. Então, realizou-se a síntese das nanofibras pela técnica da eletrofiação. As amostras foram obtidas variando a tensão e a distância da ponta da agulha ao anteparo. A caracterização morfológica foi obtida por imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e o diâmetro das nanofibras mensurado por meio do software Image J. As caracterizações físico-químicas foram obtidas pelas: análise da molhabilidade, a análise da difratometria de raios-X (DRX) e a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A técnica aplicada resultou na síntese de nanofibras desalinhas e a variação dos parâmetros afetou diretamente na morfologia das fibras. O menor diâmetro encontrado foi 0,867 μm . As fibras foram consideradas hidrofóbicas por meio da análise da molhabilidade. O DRX e o FTIR comprovaram a presença de PEMA e sugeriram a presença de nistatina.

Palavras-chave: Nanofibras. Eletrofiação. Polietilmetacrilato.

Gonçalves NI. *Synthesis and characterization of nanofiber polyethylmethacrylate/nystatin produced by electrospinning [graduation final work]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2017.*

ABSTRACT

The aim of this study was to synthesize and characterize non-woven webs of polyethylmethacrylate (PEMA) nanofibers with the addition of antifungal nystatin. It was prepared PEMA diluted in dimethylformamide and 1,1,2,2-tetrachloroethane and nystatin was then added, resulting in a concentration of 10mg/ml. Then, nanofibers was synthesized by electrospinning technique. Samples were obtained by varying the voltage and distance from the tip of the needle shield. Morphological characterization was obtained by scanning electron microscopy images and the diameter of the NFs was measured by the software Image J. The physic-chemical characterization was obtained by: wettability analysis, X-ray diffractometry analysis (RXD) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). The applied technique resulted in misaligned NFs and the variation of the parameters affected directly in the morphology of the fibers. The smaller diameter presented was 0,867 μm . Nanofibers were considered hydrophobic by means of the wettability analysis. The RXD and the FTIR proved a presence of PEMA and suggested a presence of nystatin.

Keywords: Nanofiber. Electrospinning. Polyethylmethacrylate.

1 INTRODUÇÃO

A estomatite protética (EP) é uma desordem muito comum que afeta usuários de próteses totais. Ela é caracterizada por inflamação e eritema nas áreas da mucosa oral em íntimo contato com a prótese [1]. Pode ser, na maioria das vezes assintomática, mas, também pode apresentar prurido, ardência, dor, sabor desagradável, desconforto, hemorragia na mucosa bucal, alteração no paladar e halitose [2,3]. É uma das infecções com maior destaque na Odontologia devido a sua alta frequência, sendo demonstrado em estudos sua incidência em até 70% dos usuários de próteses totais [1,4,5].

Sua etiologia possui caráter multifatorial e envolve tanto fatores sistêmicos quanto locais [1,6]. Os fatores sistêmicos predisponentes incluem: idade do usuário da prótese, Diabetes Mellitus, deficiência nutricional e imunológica, xerostomia, uso de antibióticos de amplo espectro, hábito de fumar, presença de doenças da mucosa, como o líquen plano, e o uso de corticosteroides [1,7,8]. Entre os fatores locais encontram-se o uso contínuo de próteses (incluindo seu uso noturno), a idade da mesma, presença de rugosidade e porosidade da resina, traumas da mucosa causados pela prótese, deficiência na higienização, acúmulo de biofilme e contaminação por bactérias e leveduras em sua superfície [4]. A infecção por *Candida spp*, especialmente *Candida albicans*, é considerada o principal agente etiológico [9,10]. Todos esses fatores parecem aumentar a capacidade da colonização fúngica da prótese e as superfícies da mucosa oral, onde atua como um agente patogênico e oportunista [1].

A terapêutica indicada para o tratamento da EP pode envolver antifúngicos tópicos ou sistêmicos, juntamente com uma criteriosa higienização e desinfecção das próteses, devido a esta poder servir como um foco de reinfecção [4,11]. Caso o paciente não mantenha uma higienização adequada, ao cessar o tratamento antifúngico, sucede-se uma tendência à recidiva [1,12,13]. Entretanto, encontram-se dificuldades neste tratamento devido à idade da maioria dos pacientes portadores de próteses totais, que podem possuir comprometimento cognitivo, motor ou de memória. Além da facilidade de remoção do antifúngico tópico pela saliva [5,14,15].

A adesão dos microrganismos às superfícies das próteses é um pré-requisito para formação de biofilme e novos materiais estão sendo estudados com a finalidade de se evitar o seu desenvolvimento [1]. Diversos agentes antimicrobianos têm sido incorporados em resinas acrílicas condicionadoras de tecidos [5] e em resinas reeembasadoras para a base de prótese. Dentre os agentes antimicrobianos utilizados para esta finalidade encontra-se a nistatina [5,16,17], fluconazol [5], itraconazol [5], clorexidina [18], triclosan [19], zeólito de prata [20], zeólito de zinco [21].

Diversas incorporações de materiais em resinas reeembasadoras ou condicionadoras de tecido foram analisadas, porém, foi constatada dificuldade em manter o agente antimicrobiano presente nestes biomateriais por tempo prolongado [18]. Além de que, ao longo do tempo, algumas substâncias acabavam por afetar negativamente as propriedades mecânicas do polímero [21]. Baseado nesses estudos é possível notar que ainda existe a necessidade de se desenvolver um biomaterial, no qual o agente antimicrobiano atue de forma satisfatória nos microrganismos causadores da EP, evitando sua colonização ou recolonização e proliferação, permanecendo por um maior período de tempo, de tal forma que este biomaterial não atue apenas no combate a EP, como também, em sua prevenção. Tomando como material de estudo as resinas reeembasadoras, com finalidade terapêutica, faz-se necessário que o agente microbiano seja liberado de forma lenta e eficaz, permanecendo em meio bucal o equivalente a vida útil de tal resina.

O uso de resinas reeembasadoras é indicado em caso de reabsorção fisiológica sofrida pelo osso alveolar, ocasionando conseqüente desadaptação da prótese e promovendo um desconforto ao paciente. Neste caso, possuem a função de restabelecer a adaptação, estabilidade e realizar ajustes e correções na região do selado periférico [22,23]. Outra indicação é devida a rigidez da resina acrílica, material base das próteses totais, que pode causar desconforto e até mesmo lesões aos tecidos bucais, pelo atrito de sua base com a fibromucosa [24,25,26].

A eletrofiação é uma tecnologia antiga, existente na literatura há mais de 60 anos e, atualmente, tem sido muito estudada devido a sua versatilidade de aplicação para a produção de mantas constituídas por fibras, que variam de escala submicrométrica até escalas nanométricas [27,28]. As mantas de nanofibras (NFs) podem ser eletrofiadas a partir de soluções poliméricas, cerâmicas ou compósitos e

podem ser utilizadas em processos de filtração, nanocatálises, suporte de crescimento de tecido, roupas de proteção, nanoeletrônicos, encapsulação de aditivos alimentícios, membranas de separação, produtos farmacêuticos e reforço de materiais compósitos [28,29,30,31,32].

O sistema é composto, basicamente, por três elementos: uma fonte de alta voltagem, uma seringa com agulha de pequeno diâmetro e um coletor. A alta voltagem é utilizada para gerar um campo elétrico, o eletrodo positivo carrega eletricamente a ponta da agulha, enquanto que o eletrodo negativo (neutro) é posicionado no coletor. A solução fica mantida por tensão superficial, o que carrega eletricamente a superfície do líquido. Quando a diferença de potencial gerada supera a tensão superficial da solução, a superfície hemisférica do fluido na ponta da agulha se alonga formando um cone, conhecido como cone de Taylor. O jato da solução sofre um alongamento e é ejetado em direção ao coletor, nesse momento o solvente evapora. Este método permite ainda modificar propriedades biológicas e físicas dos materiais [33,34,35,36].

Alguns parâmetros podem ser variados nesse processo, com a finalidade de se otimizar a produção de NFs, como a razão de fluxo com que a solução polimérica é ejetada, a diferença de potencial gerada no campo elétrico, a distância da ponta da agulha ao coletor e o diâmetro da agulha. Fatores ambientais como temperatura e umidade também influenciam [34,35].

A manta de fibras eletrofiadas possui características como: grande área superficial específica, alta porosidade e interconectividade, tornando-as adequadas para transporte de nutrientes e comunicação celular, sendo possível sua utilização em várias aplicações biomédicas.

Desta forma, tendo em vista a disponibilidade desta tecnologia e a evidente necessidade de se desenvolver um biomaterial, no qual, o agente antimicrobiano atue de forma satisfatória nos microrganismos. O objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar mantas não tecidas de nanofibras de polietilmetacrilato (PEMA) com adição do antifúngico nistatina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção da solução de PEMA com adição de nistatina

A solução foi preparada dissolvendo-se 1,2 g de PEMA, em 2,7 ml de 1,1,2,2-tetracloroetano e em 2,7 ml de dimetilformamida. As proporções foram aferidas e o conjunto posicionado no agitador magnético (IKA RH Basic, Staufen, Alemanha) permanecendo em constante agitação por 24 horas. Em seguida, foi adicionada a nistatina, resultando uma concentração de 10 mg/ml.

2.2 Síntese das Nanofibras: técnica de eletrofiação

O equipamento de eletrofiação para a confecção de nanofibras é constituído por uma fonte de alta tensão, uma seringa plástica de 5 mL com agulha de ponta reta e diâmetro do orifício de 0,7 mm².

A eletrofiação possui variáveis a fim de se otimizar o processo, como a tensão, a distância da ponta da seringa ao anteparo e o fluxo da solução. A sintetização foi realizada no laboratório de Bioengenharia e Biomateriais do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – UNESP, Figuras 1 e 2 (sistema preparado para eletrofiação).

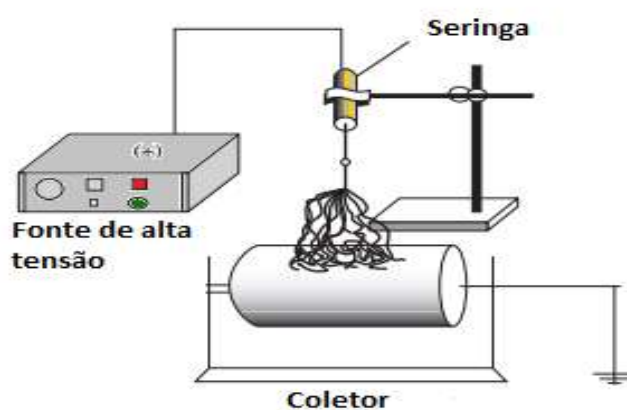


Figura 1 - Esquema do sistema de eletrofição
 Fonte: Guerrini et al. (2006).

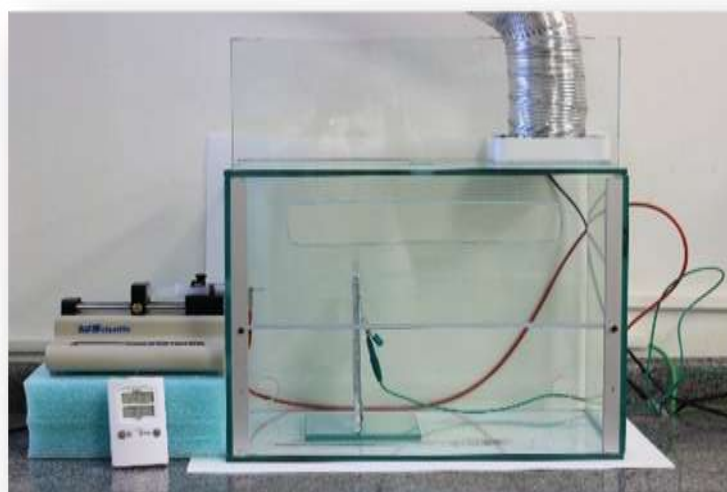


Figura 2 - Equipamento preparado para eletrofição.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3 Síntese das Nanofibras de PEMA com nistatina

Foram geradas 12 amostras de mantas não tecidas de nanofibras de PEMA com nistatina. A adição de nistatina tornou a solução de PEMA mais viscosa e, conseqüentemente, houve necessidade de aumentar os valores de tensão para que a diferença de potencial resultante fosse maior que a tensão superficial da solução e

essa fosse ejetada de encontro ao anteparo. As tensões avaliadas foram: 13, 15, 18 e 20 KV. A distância da ponta da agulha ao anteparo alternou em 10, 12 e 15 cm, como está esquematizado no Quadro 1. O fluxo da solução foi mantido em 0,05 mL/h. As fibras foram coletadas por um mesmo período de tempo (15 minutos) com objetivo de avaliar o volume das nanofibras produzidas.

Quadro 1 – Representação das variações dos parâmetros das amostras de nanofibras de PEMA com nistatina testadas

		Tensão (Kv)			
		13	15	18	20
Distância (cm)	10	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
	12	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7	Amostra 8
	15	Amostra 9	Amostra 10	Amostra 11	Amostra 12

Após a realização da eletrofiação, variando os parâmetros exemplificados acima, foi preciso determinar qual foi o parâmetro que resultou em nanofibras uniformes, sem defeitos (beads), necessitando-se da caracterização físico/química das nanofibras sintetizadas.

2.4 Testes para caracterização das nanofibras sintetizadas

Uma caracterização microestrutural desejável das nanofibras envolve a determinação da estrutura cristalina, composição química, quantidade, tamanho, forma e distribuição das fases.

2.4.1 Microscopia eletrônica de varredura

As amostras de nanofibras obtidas na etapa anterior foram analisadas em MEV. Neste ensaio as amostras foram fixadas no suporte e recobertas por fina camada de ouro (SC7620 Mini Sputer Coater/Glow Discharge System, Emitech, East Sussex, RU) (Figura 3). Analisou-se, por meio deste teste, a orientação das fibras e sua morfologia.

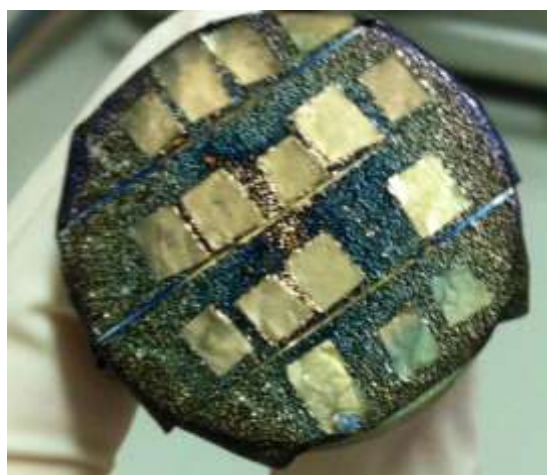


Figura 3 - Amostras cobertas por fina camada de ouro para análise em MEV.
Fonte: Elaborado pelo autor.

2.4.2 Análise do diâmetro médio das fibras

O diâmetro das nanofibras foi calculado com o auxílio do software computacional, Image J (Versão 1.44, National Public of Health) por meio das micrografias obtidas em MEV. Foram analisadas 33 micrografias, onde realizou-se 10 mensurações de diâmetros em 10 diferentes regiões, sendo 100 análises para cada imagem.

As médias das variáveis avaliadas foram comparadas pela Análise de Variância (ANOVA) 1-fator, seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Dentre as 12 amostras, uma foi selecionada, baseando-se em uma análise comparativa seguindo a ordem: ausência de defeitos (beads), menor diâmetro das fibras, menor coeficiente de variação, menor tensão utilizada para síntese das fibras e menor distância utilizada.

2.4.3 Análise da molhabilidade utilizando a técnica do ângulo de contato

Para a análise da molhabilidade foram cortadas 3 amostras em formato regular (2 cm X 2 cm). O ângulo de contato das superfícies foi analisado por meio de um Goniômetro Óptico (TL 1000 – Invoiced freight, Theta Lite, Attension, Lichfield, Staffordshire, RU), onde uma seringa de vidro do sistema (Gastight Syringes #1001 – 1 mL, Hamilton, Reno, Nevada, EUA) deposita uma gota de água destilada sobre a superfície da amostra. Uma série de imagens foi gravada pela câmara do equipamento pelo período de 15 segundos. O software OneAttension (Biolin Scientific, Lichfield, Staffordshire, RU) calculou os valores médios para cada amostra a partir das imagens obtidas.

2.4.4 Análise de difratometria de raios-X

Representa o fenômeno de interação entre o feixe de raios-x incidente e os elétrons dos átomos componentes de um material. Essa análise foi utilizada para realizar a caracterização microestrutural, estudar a estrutura cristalina e seu índice de cristalinidade (relação entre as partes cristalinas e não cristalinas do material).

As fases cristalinas foram identificadas por meio de um padrão de difração que depende do material em questão. Cada material, ao receber o feixe de raios-x, acaba por difratá-lo pela trama cristalina presente.

As amostras analisadas foram preparadas no formato 3x3cm e posicionadas no aparelho de DRX (Shimadzu XRD7000, radiação $\text{CuK}\alpha$, $2\theta = 20-80^\circ$, 30 mA, 40 kV). Esta análise foi feita no Instituto de Ciências e Tecnologia - UNIFESP, São José dos Campos.

2.4.5 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

A técnica FTIR, considerada uma análise padrão, é muito utilizada para caracterizar a estrutura dos polímeros. Com ela verifica-se a presença das bandas de absorção dos grupos funcionais presentes nas amostras, esse espectro é obtido pela pesagem da radiação que fornece os comprimentos de onda dos grupos funcionais presentes.

Esta análise foi realizada no IP&D da UNIVAP utilizando o equipamento de FT-IR (Spotlight 400 – Perkin-Elmer) no modo ATR na região de 4000 – 500 cm^{-1} , 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

2.5 Análise Estatística

Para os dados obtidos pelos testes de MEV, molhabilidade, DRX e FTIR, foram realizadas análises descritivas, com cálculos de média e desvio padrão.

Para as variáveis em análise, os dados foram submetidos a análise estatística por meio de programas computacionais: MINITAB (Minitab, version 17.2.1, 2015) e Origin (Mi-crocal origin®, 6.0, USA).

3 RESULTADOS

3.1 Microscopia eletrônica de varredura

Por meio da análise em MEV, foram obtidas 12 micrografias para as NFs de PEMA com nistatina, como demonstra a Figura 4.

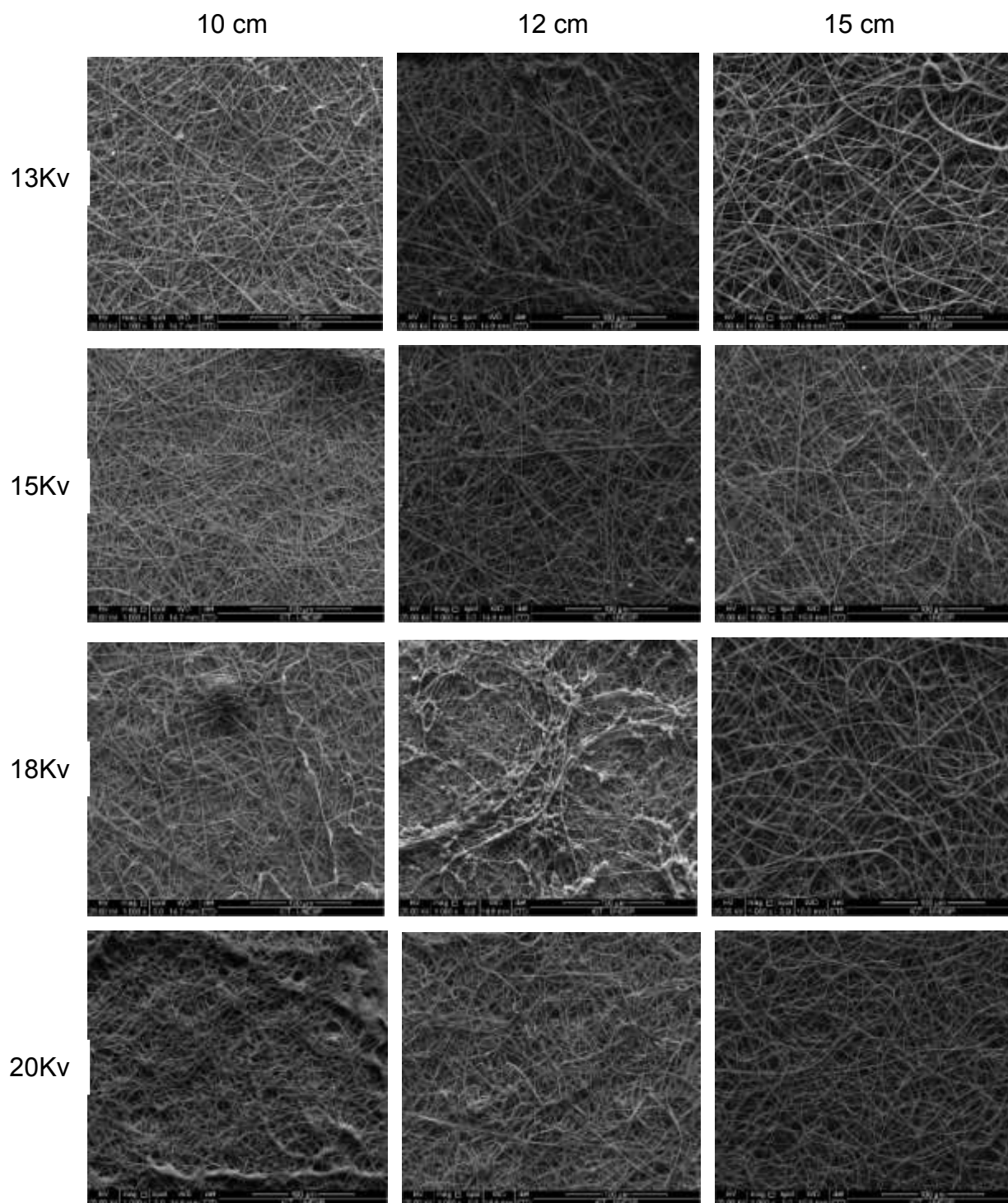


Figura 4 - Micrografia de NFs. Legenda: 1000x aumento.
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.1.1 Análise do diâmetro médio das fibras

A estatística dos valores médios dos diâmetros das fibras está apresentada nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Medida de tendência central (Média), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) em % dos valores de diâmetro médio de fibras (μm)

Fibras	Média	DP	CV
1	1,34	0,24	15,14
2	0,87	0,36	42,1
3	1,38	0,58	42,1
4	0,94	0,29	31,0
5	1,36	0,33	24,19
6	1,50	0,92	61,12
7	1,66	0,70	42,23
8	1,56	0,65	41,50
9	1,62	0,79	48,8
10	1,29	0,34	26,57
11	1,61	0,48	30,05
12	1,29	0,29	22,56

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 – Análise de comparação dos fatores de Tukey

Tensão	Distância	N	Mean	Grouping
18	12	100	1,66	A
13	15	100	1,62	A B
18	15	100	1,61	A B
20	12	100	1,56	A B C
15	12	100	1,50	A B C
20	10	100	0,094	A B C
18	10	100	1,38	A B C
13	12	100	1,36	B C
13	10	100	1,34	B C D
20	15	100	1,3	C D
15	15	100	1,3	C D
15	10	100	0,87	D

Fonte: Elaborado pelo autor.

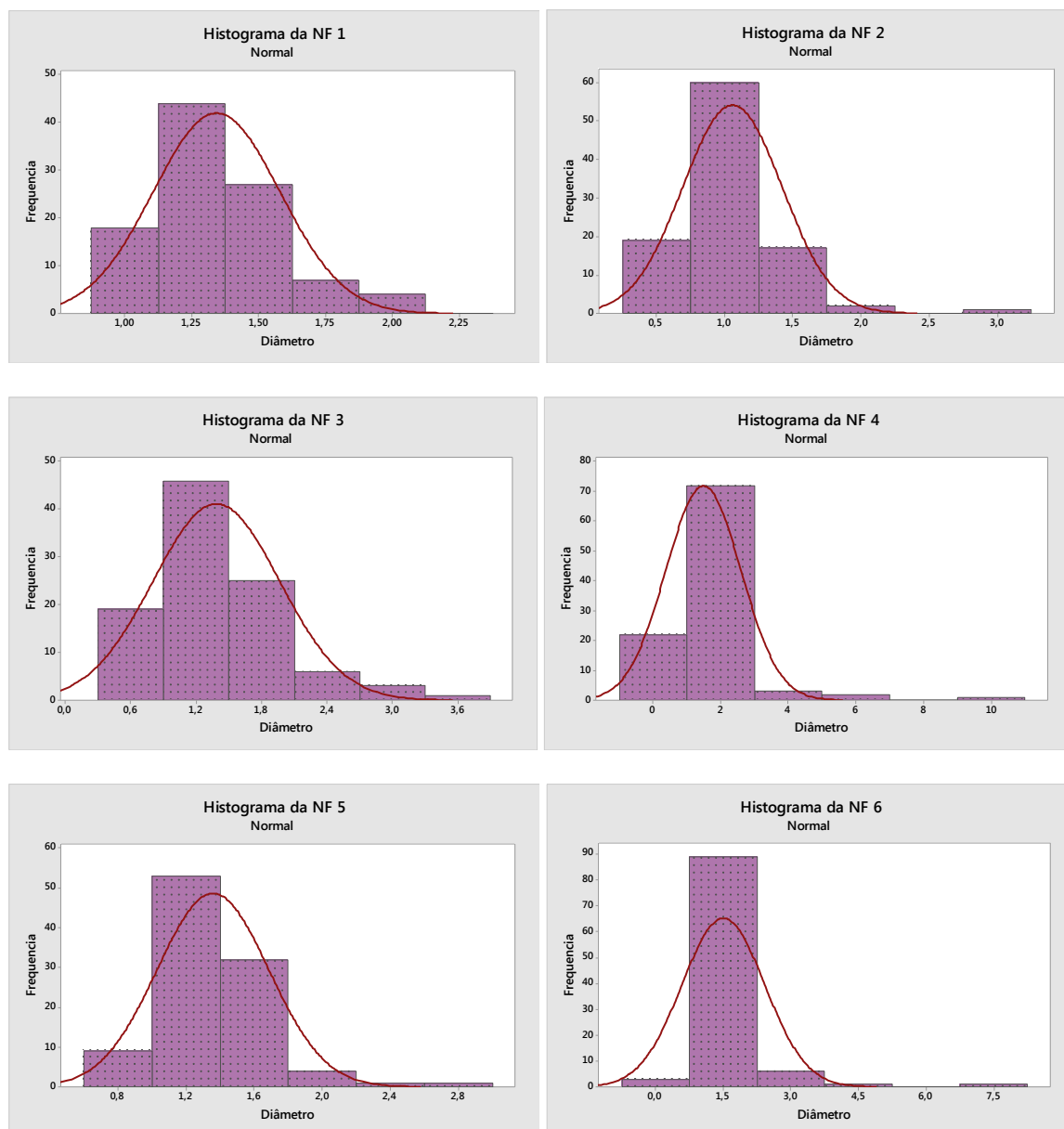


Figura 5 - Histogramas de frequência dos diâmetros (μm) das NFs de 1 a 6.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

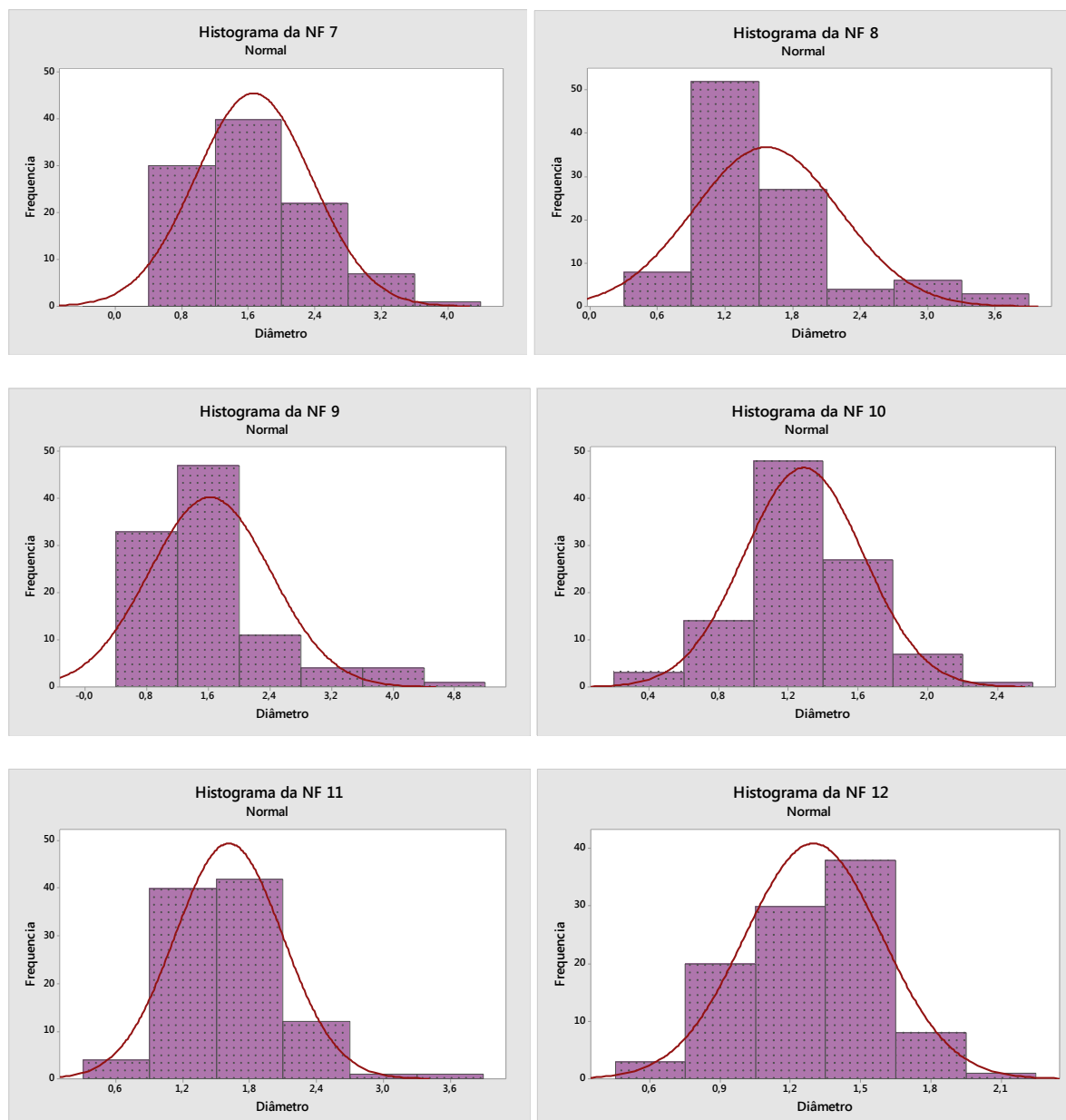


Figura 6 - Histogramas de frequência dos diâmetros (μm) das NFs de 7 a 12.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

Realizando-se uma análise comparativa da ausência de defeitos (*beads*), menor diâmetro das fibras, menor coeficiente de variação, menor tensão utilizada para a síntese das fibras e menor distância utilizada, um padrão foi selecionado. Neste, o menor diâmetro foi encontrado, $0,867 \mu\text{m}$, com a tensão de 15 Kv e distância da agulha ao anteparo de 10 cm. As NFs não apresentaram (*beads*), foram volumosas e uniformes.

3.2 Análise da molhabilidade utilizando a técnica do ângulo de contato

Para a análise de molhabilidade foi utilizado o ângulo de contato da água destilada, como demonstrado na Figura 7.



Figura 7 – Imagem representativa do comportamento da água destilada sobre as mantas.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A manta apresentou o valor de 118.09° , maior que 90° , sendo considerada predominantemente hidrofóbica [37].

3.3 Análise de difratometria de raios-x

Os resultados da análise de DRX estão representados na Figura 8. Não foram apresentadas linhas de difração acentuadas, confirmando a natureza não cristalina do polímero.

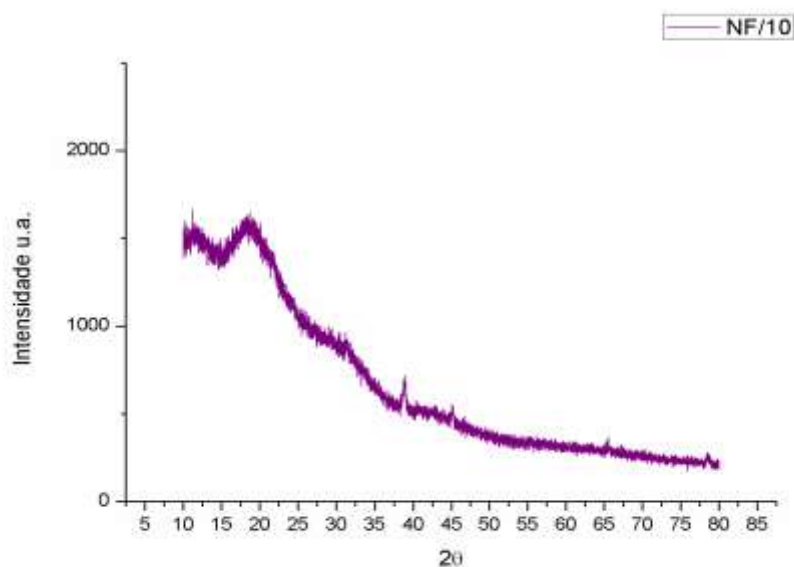


Figura 8 – Gráfico representativo da análise de DRX.
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

Os gráficos obtidos a partir das análises de FTIR estão demonstrados na Figura 9, onde pode-se observar bandas características do PEMA: 2984, 1720, 1445 e 1143 cm^{-1} .

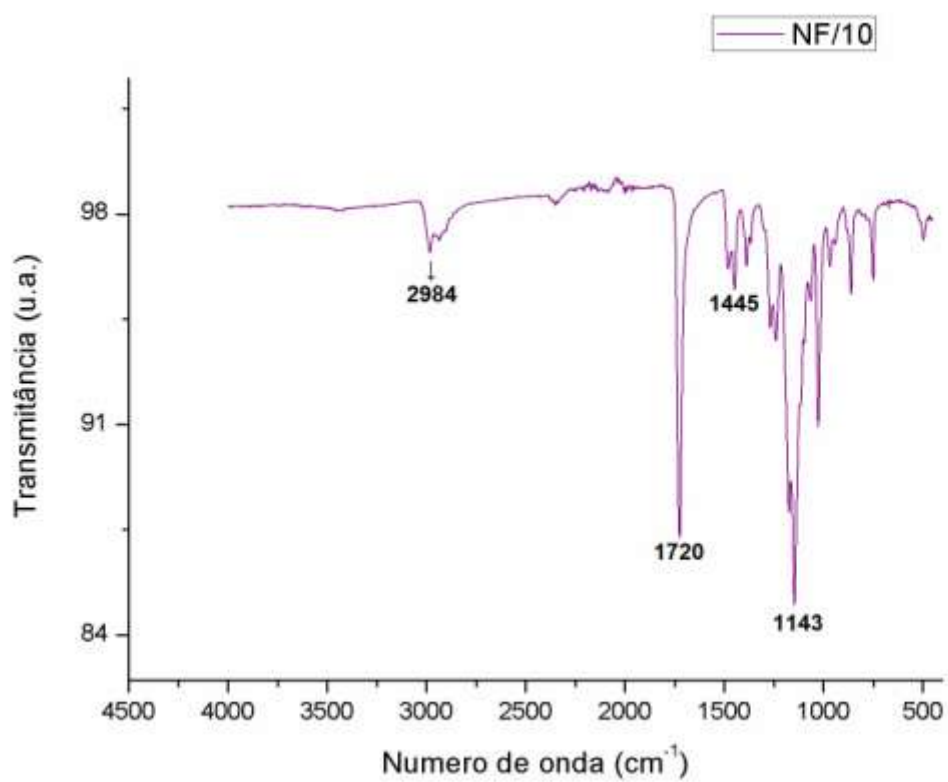


Figura 9 – Espectros de absorção no infravermelho.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4 DISCUSSÃO

O estudo em questão foi desenvolvido com a finalidade de preencher a lacuna existente quanto a um método eficaz no tratamento de infecções orais causadas por *C. albicans*, tendo em vista sua alta prevalência e incidência [4] onde a frequência das administrações fosse reduzida e a dependência do paciente fosse menor.

A partir disso, decidiu-se desenvolver um sistema, compatível com o material usado para o reembasamento de bases de próteses removíveis totais ou parciais, que permitiria a liberação lenta do fármaco de escolha em mucosa oral, utilizando para isso o processo de eletrofiação. Por meio desse processo faz-se possível a produção de mantas não tecidas de fibras em escala nanométrica que apresentam como vantagem sua grande área de superfície e maleabilidade [37], além de ser um processo relativamente simples e eficiente na encapsulação de fármacos.

Nesse sentido, o presente estudo teve enfoque na síntese e caracterização de nanofibras de polietilmetacrilato (PEMA) com nistatina. O PEMA apresenta uma boa resistência mecânica, alta transparência, elasticidade e boa adesão [38]. O antifúngico de escolha foi a nistatina que pertence à classe de poliênicos de amplo espectro de ação, amplamente indicada para o tratamento de infecções causadas por *C. albicans* [39].

A solução utilizada no estudo foi preparada em duas etapas: primeiramente, a solução de PEMA puro foi preparada dissolvendo o polímero em dimetilformamida e tetracloroetano seguindo a proporção de acordo com Bao et al. (2012) [40] porém em seu artigo o polímero utilizado foi o polimetilmetacrilato. Esta ficou muito viscosa e não foi possível seguir para o processo de eletrofiação, então dissoluções seriadas foram realizadas para que a solução ficasse mais fluida. Alcançando-se a homogeneidade, após 24 horas no agitador magnético, houve a adição de nistatina até atingir a concentração de 10 mg/mL. A solução apresentou-se, visualmente, menos viscosa.

Sabe-se que o processo de eletrofiação depende de alguns parâmetros como: fluxo da solução, a diferença de potencial que gera o campo elétrico, a distância da ponta da agulha ao coletor e o diâmetro da agulha [34,35], além da umidade, temperatura, viscosidade. A variação desses parâmetros acaba por

influenciar de forma direta a morfologia das fibras obtidas.

No processo de eletrospinação variou-se alguns parâmetros, totalizando quatro tensões avaliadas (13, 15, 18 e 20 Kv) e três distâncias (10, 12 e 15) gerando 12 amostras. De acordo com a Figura 4, fibras foram produzidas em todas as amostras, porém nas amostras 4 e 7 é possível observar algumas descontinuidades. O diâmetro médio das fibras variou entre 0,87 a 1,66 μm conforme Tabela 1. A amostra 2 foi escolhida como padrão pois obteve o menor diâmetro, 0,87 μm , com a tensão de 15 Kv e 10 cm de distância da ponta da agulha ao coletor.

A análise do ângulo de contato é um importante parâmetro termodinâmico do material, consiste no ângulo formado entre a fase sólida e a tangente formada na interface líquido/ar [41]. O ângulo pode variar de acordo com a característica do material estudado, para $\theta = 0$ a superfície pode ser considerada hidrófila, para ângulos entre 0 e 90 é considerado predominantemente hidrófila, para ângulos entre 90 e 180 a superfície é predominantemente hidrófoba e, se for igual a 180, é totalmente hidrófoba [37]. Esses valores variam de acordo com o estado topográfico do material estudado e do nível de interação com o líquido utilizado no teste [42].

Essa análise coincide com as características do material base utilizado para síntese das fibras, o PEMA, que é um polímero com características hidrofóbicas [22]. A adição de nistatina acabou por não afetar essa característica já que a maior parte da fibra é constituída de polímero.

O padrão da análise de DRX é demonstrado na Figura 8. Segundo Fares (2012) [43] o PEMA é caracterizado pela natureza amorfa, pois possui uma estrutura não cristalina. Sakeer et al. (2010) [44] relatam que a nistatina possui caráter cristalino.

A espectroscopia FTIR é importante na investigação da estrutura polimérica, por que fornece informações sobre os constituintes moleculares. Os espectros de FTIR para a solução sugere um predomínio do polímero nas fibras produzidas.

5 CONCLUSÃO

Com base na proposta desse estudo pode-se concluir que:

- A diferença de potencial e a distância da ponta da agulha ao anteparo afetaram de forma direta na morfologia das fibras assim como a viscosidade da solução. A amostra com 15 Kv e distância 10 cm foi considerada o melhor parâmetro, pois resultou em nanofibras uniformes, sem defeitos onde o menor diâmetro foi encontrado, 0,867 micrometros;

- A variação dos parâmetros resultou em nanofibras desalinhas;

- As caracterizações físico-químicas mostraram que as fibras apresentam um caráter hidrofóbico, demonstraram a presença do PEMA e sugeriram a presença da nistatina.

REFERÊNCIAS

1. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011;20(4):251-60. doi: 10.1111/j.1532-849X.2011.00698.x.
2. Olsen I, Stenderup A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand*. 1990;48(1):11-8.
3. Wilson J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J*. 1998;185(8):380-4. doi: 10.1038/sj.bdj.4809821.
4. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MDP, Harty DWS, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 3. Treatment of oral candidosis. *Aust Dent J*. 1998;43(4):244-9.
5. Chow CK, Matear DW, Lawrence HP. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. *Gerodontology*. 1999;16(2):110-8.
6. Jeganathan S, Lin CC. denture stomatitis – a review of the aetiology, diagnosis and management. *Aust Dent J*. 1992;37(2):107-14. doi: 10.1111/j.1834-7819.1992.tb03046.x.
7. Budtz-Jorgensen E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. *Scan J Dent Res*. 1974;82(2):151-90.
8. Pathmashri VP. A review on denture stomatitis. *Pharm Sci Res*. 2016;8(8):875-7.
9. Dorko E, Jenca A, Pilipcinec E, Danko J, Sviscky E, Tkacikova L. Candida associated denture stomatitis. *Folia Microbiol*. 2001;46:443–6.
10. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses*. 2006;49(2):80-4.
11. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, et al. Candida- associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(1):139-43.
12. Muzyka BC. Oral fungal infections. *Dent Clin North Am*. 2005;49(1):49-65.
13. Mima EG, Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Vergani CE, Spolidorio DM, Machado AL. Effect of different exposure times on microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside reline resin. *J Prosthodont*. 2008;17(4):312-7.
14. Kulak Y, Arıkan A, Delibalta N. Comparison of three different treatment methods for generalized denture stomatitis. *J Prosthet Dent*. 1994;72:283-8.

15. Mishra NN, Prasad T, Sharma N, Payasi A, Prasad R, Gupta DK et al. Pathogenicity and drug resistance in *Candida albicans* and other yeast species. A review. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2007;54(3):201-35.
16. Truhlar MR, Shay K, Sohnle P. Use of a new assay technique for quantification of antifungal activity of nystatin incorporated in denture liners. *J Prosthet Dent*. 1994;71(5):517-24.
17. Urban VM, de Souza RF, Arrais CA, Borsato KT, Vaz LG. Effect of the association of nystatin with a tissue conditioner on its ultimate tensile strength. *J Prosthodont*. 2006;15(5):295-9. doi: 10.1111/j.1532-849X.2006.00130.x.
18. Salim N, Moore C, Silikas N, Silikas N, Satterthwaite J, Rautemaa R. Candidacidal effect of fluconazole and chlorhexidine released from acrylic polymer. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(3):587–92. doi: 10.1093/jac/dks452.
19. Lefebvre CA, Wataha JC, Cibirka RM, Schuster GS, Parr GR. Effects of triclosan on the cytotoxicity and fungal growth on a soft denture liner. *J Prosthet Dent*. 2001;85:352-56. doi: 10.1067/mpr.2001.115249.
20. Matsuura T, Abe Y, Sato Y, Okamoto K, Ueshige M, Akagawa Y. Prolonged antimicrobial effect of tissue conditioners containing silver zeolite. *J Dent*. 1997;25(5):373-7.
21. Casemiro LA, Gomes Martins CH, Pires-de-Souza F de C, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - part I. *Gerodontology*. 2008;25(3):187-94. doi: 10.1111/j.1741-2358.2007.00198.
22. Cerveira Netto H. Prótese total imediata. São Paulo: Editora Pancast; 1987.
23. Telles DM. Prótese total: convencional. São Paulo: Santos; 2011.
24. Bates JF, Smith DC. Evaluation of indirect resilient liners. *J Am Dent Assoc*. 1965;70(2):344-53.
25. Feitosa MAL, Vasconcelos LMR, Garcia RCMR, Cury AADB. Efeito dos limpadores químicos de próteses sobre o peso de reembasador resiliente temporário. *RPG Rev Pós Grad*. 2003;10(3):199-203.
26. Krammer RK. Tissue conditioners. *J Prosthet Dent*. 1971;25(3):244-50.
27. Cheng ML, Lin CC, Su HL, Chen PY, Sun YM. Processing and characterization of electrospun poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) nanofibrous membranes. *Polymer*. 2008;49(2):546-53. doi: 10.1016/j.polymer.2007.11.049_.
28. Lan T, Shao Z, Wang J, Ga M. Fabrication of hydroxyapatite nanoparticles decorated cellulose triacetate nanofibers for protein adsorption by coaxial electrospinning. *Chem Eng J*. 2015;260:818-25.

29. Borges ALS, Munchow EA, de Oliveira Souza ACO, Yoshida T, Vallittu PK, Bottino MC. Effect of random/aligned nylon-6/MWCNT fibers on dental resin composite reinforcement. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2015;48:134–44. doi: 10.1016/j.jmbbm.2015.03.019.
30. Cacciotti I, Fortunati E, Puglia D, Kenny JM, Nanni F. Effect of silver nanoparticles and cellulose nanocrystals on electrospun poly(lactic) acid mats: Morphology, thermal properties and mechanical behavior. *Carbohydrate Polymers.* 2014;103:22-31. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.11.052.
31. Shukla S, Brinley E, Cho HJ, Seal S. Electrospinning of hydroxipropyl cellulose fibers and their application in synthesis of nano and submicron tin oxide fibers. *Polymer.* 2005;46(26):12130-45. doi: 10.1016/j.polymer.2005.10.070.
32. Teo WE, Ramakrishna S. A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. *Nanotechnology.* 2006;17(14):89-106.
33. Ahmed FE, Lalia BS, Hashaike R. A review on electrospinning for membrane fabrication: challenges and applications. *Desalination.* 2015;356:15-30.
34. Costa RGF, Oliveira JE, Paula GF, Picciani PHS, Medeiros ES, Ribeiro C, Mattoso LHC. Eletrofiacão de polímeros em solução. Parte II: aplicações e perspectivas. *Polímeros.* 2012;22(2):178-85. doi: 10.1590/S0104-14282012005000026.
35. Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S. A Review on polymers nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Comp Sci Tech.* 2003;63(15):2223-53.
36. Rutledge GC, Fridrikh SV. Formation of fibers by electrospinning. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(14):1384-91.
37. Kwok DY, Neumann AW. Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Adv Colloid Interface Sci.* 1999 Sep;81(3):167-249. doi: 10.1016/S0001-8686(98)00087-6.
38. Reiter J, Krejza O, Sedlarikova M. Solar energy mater. *Solar Cells.* 2009;93:249–55.
39. Tavares W. Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos. Rio de Janeiro: Atheneu; 2001.
40. Bao Y, Luu QAN, Zhao LY, Fong H, May OS et al. Upconversion polymeric nanofibers containing lanthanide-doped nanoparticles via electrospinning. *Nanoscale.* 2012;4:7369-75. doi: 10.1039/c2nr32204h.

41. Wulf M, Michel S, Grundke K, del Rio OI, Kwok DY, Neumann AW. Simultaneous determination of surface tension and density of polymer melts using axisymmetric drop shape analysis. *Colloid and Interface Science*. 1999;210(1):172–81.
42. Oh WS, Shen C, Alegre B, Anusavice KJ. Wetting characteristic of ceramic to water and adhesive resin. *J Prosthet Dent*. 2002;88(6):616-21.
43. Fares S. Influence of gamma-ray irradiation on optical and thermal degradation of poly(ethyl-methacrylate) (PEMA) polymer. *Nat Sci*. 2012;4(7):499-507. doi: 10.4236/ns.2012.47067.
44. Sakeer K, Al-Zein H, Hassan I, Desai S, Nokhodchi A. Enhancement of dissolution of nystatin from buccoadhesive tablets containing various surfactants and a solid dispersion formulation. *Arch Pharm*. 2010;33(11):1771-9.