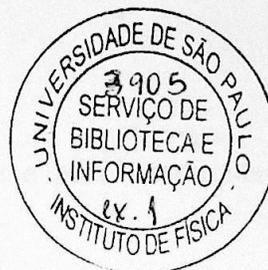


UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Instituto de Física



Caracterização morfológica e estrutural da
Poli(ϵ -caprolactona) por meios óptico-
eletrônicos

Emerson Alves da Silva

*Dissertação apresentada ao
Instituto de Física da Universidade
de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências*

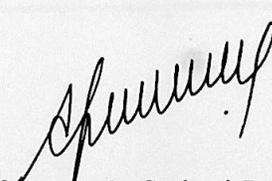
Marina Amélia Viégas da Silveira Santos

Orientadora: Profa. Dra. Marina Amélia Viégas da Silveira Santos

Banca Examinadora:

Prof ^a . Dra. Marina A V. da Silveira Santos	- Instituto de Física da USP
Prof ^a . Dra Teresa Dib Zambon Atvars	- Instituto de Química da UNICAMP
Prof ^a . Dra. Rosângela Itri	- Instituto de Física da USP

São Paulo
2003


Prof. Armando Corbani Ferraz
Presidente da Comissão de Pós Graduação

del. 08/09/03.

502.82

S586c

M

ex. 1



FICHA CATALOGRÁFICA
Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Silva, Emerson Alves da

Caracterização Morfológica e Estrutural da Poli
(E-caprolactona) por Meios Óptico-eletrônicos.
São Paulo, SP - 2003

Dissertação (Mestrado) Universidade de São Paulo
Instituto de Física. Departamento de Física Geral

Orientador: Profa. Dra. Marina Amélia P. V. Santos
Área de Concentração: Física do Estado Sólido

Unitermos: 1. Microscopia Eletrônica;
2. Filmes e Cristais Poliméricos;
3. Polímeros.

USP/IF/SBI-055/2003

Agradecimentos

A Prof^a. Marina pela orientação, dedicação, amizade e pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Aos professores Pedro K. Kiyohara e Helena de Souza Santos pelo uso do laboratório, apoio e pela companhia.

Ao Prof. Pérsio de Souza Santos pelo apoio.

À Simone P. Toledo e Sílvio L. Ferrari pela disposição e auxílio dados na realização deste trabalho.

Ao Sr. Lorenzo Marin Rodriguez da Peróxidos do Brasil, representante da Solvay Interrox Inc., pelas amostras fornecidas.

Ao Prof. Yoshio Kawano (Laboratório de Polímeros do Departamento de Química Geral do Instituto de Química da Universidade de São Paulo) e Valquíria de Fátima Justo Kozievitch (Departamento de Metalurgia e Materiais da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo) pelo uso dos equipamentos.

Ao Prof. Sergio Brückner (Universidade de Udine, Itália) pelo auxílio e simpatia.

À Paula H. Filloy por sua amizade, incentivo, conselhos e paciência.

À Silvia M. de Paula, Flávia Cassiola, Rita de Cássia C. Wagner, Maria Simone K. Souza e Kelly C. de Carvalho pela amizade, apoio e conselhos.

À minha família, pela paciência, compreensão e pelos bons momentos.

Ao CNPq (Processo 133160/2001-7) pelo apoio financeiro.

RESUMO

Esferulitos são agregados de cristais lamelares, sendo uma das estruturas mais características dos polímeros cristalizáveis. A quantidade, forma e distribuição destas estruturas têm influência direta nas propriedades físicas e químicas dos produtos manufaturados com estes materiais, daí o interesse de sua caracterização.

Neste trabalho foram estudadas amostras de uma policaprolactona (PCL) comercial com propriedades biodegradáveis. A natureza química do polímero foi caracterizada por espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), enquanto a estrutura cristalina do polímero foi estudada por difração de raios X (DRX). Aplicou-se método de refinamento estrutural Rietveld aos dados de DRX para uma melhor caracterização da estrutura da PCL.

Amostras de PCL submetidas a erosão química com hidróxido de potássio (KOH) revelaram a morfologia dos esferulitos examinados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), demonstrando sua estrutura radial. Uma avaliação dos tempos de erosão indicou que um período de 4 a 5h é suficiente para revelar os esferulitos, sem provocar muitas alterações na fase cristalina da amostra.

Esferulitos também puderam ser demonstrados em filmes finos do polímero, produzidos a partir de uma solução em clorofórmio, usando-se microscopia eletrônica de transmissão (MET). Aplicou-se o vermelho de rutênio como "corante eletrônico", procedimento este não reportado até o momento para nenhum polímero sintético. O vermelho de rutênio mostrou-se bastante eficiente para tornar visíveis as fibrilas cristalinas delgadas que formam estes esferulitos. Esta metodologia que desenvolvemos constitui um recurso simples, eficaz e rápido para avaliação preliminar de blendas e copolímeros de PCL, quando alta resolução não é necessária.

ABSTRACT

Index

Spherulites are clusters of lamellar crystals, being one of the main characteristic structures found in crystallized polymers. These structures directly influence the physical and chemical properties of the manufactured products that employ these materials.

In this work, samples of a commercial biodegradable polycaprolactone (PCL) were studied. The chemical nature of the polymer has been characterized by Fourier Transformed infrared (FTIR) spectroscopy, whereas its crystalline structure was studied by X-ray diffraction (DRX). The Rietveld structural refinement method was applied to the DRX experimental data for a better characterization of the PCL structure.

Chemical etching of PCL samples with potassium hydroxide (KOH) allowed for the observation of the spherulites in the scanning electron microscope (SEM), thereby demonstrating its radial structure. An evaluation of the etching times indicated that a period between 4 and 5h is enough to reveal the spherulites, without giving rise to many alterations in the crystalline phase of the sample.

Spherulites have also been demonstrated by means of transmission electron microscopy (TEM) in thin films of polymer, produced from a chloroform solution. Ruthenium red was applied as an electron stain, a procedure not yet reported for synthetic polymers. This staining was found to be very effective for the observation of crystalline fibrils forming these spherulites, provided high resolution studies are not required. This newly devised method constitutes a simple, efficient and fast means for preliminary evaluation of blends and copolymers of PCL.

Índice

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
1. Introdução.....	1
Estrutura cristalina em polímeros.....	1
Poli(ϵ -caprolactona).....	5
Objetivos.....	6
2. Materiais e Métodos.....	7
Materiais.....	7
Métodos.....	7
Difração de raios X.....	8
Refinamento Rietveld de estruturas cristalinas.....	9
Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por Transformada de Fourier.....	11
Microscopia Eletrônica de Varredura.....	11
Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	12
3. Resultados.....	14
Difração de raios X.....	14
Espectroscopia de absorção no infravermelho.....	17
Microscopia Eletrônica de Varredura.....	18
Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	29
4. Discussão.....	32
5. Conclusões.....	35
6. Referências.....	37

1 - INTRODUÇÃO

O estudo de polímeros é de muito interesse a várias áreas da pesquisa científica e da engenharia de materiais. Polímeros são formados por cadeias longas de moléculas orgânicas (macromoléculas), constituindo arranjos diversos: fibras, filmes, membranas, adesivos, emulsões, etc. São compostos que podem ser sintetizados a partir de derivados de petróleo, carvão e gases naturais, ou mesmo por bactérias. Em muitos casos, as propriedades tecnológicas dos polímeros, como por exemplo resistência ao impacto e a deformações, podem ser modificadas ou melhoradas. Quando tais modificações estão associadas a baixo custo, os polímeros podem substituir materiais como metais e cerâmicas em diversas aplicações.

Estrutura cristalina em polímeros

As macromoléculas podem assumir uma conformação aleatória (estado amorfo) ou ordenada (estado cristalino). Como na maioria dos casos apenas uma parte das macromoléculas adota a configuração necessária para a cristalização, os sólidos poliméricos muitas vezes são classificados como amorfos ou parcialmente cristalinos (semicristalinos). Diferentes modelos têm sido desenvolvidos para descrever a formação de cristalitos em polímeros.

Segundo o modelo das micelas franjadas (Figura 1), proposto por Hermans em 1930 [Bower, 2002], os polímeros cristalizáveis são constituídos por pequenos cristais dispersos em uma matriz amorfa. Estes cristais são formados por segmentos moleculares de diferentes cadeias, alinhados paralelamente entre si, possuindo dimensões tão pequenas que cada cadeia poderia contribuir para a formação de vários cristais. Por este modelo não seria possível a produção de cristais isolados devido ao entrelaçamento das macromoléculas.

Porém, monocristais com dimensões da ordem de nanômetros podem ser obtidos a partir de soluções diluídas do polímero (0,1% ou menos), mostrando que este modelo não é apropriado para a descrição de cristais poliméricos. Esses monocristais foram obtidos primeiramente por Scheisinger e Leeper em 1953 [Mano e Mendes, 1999] a partir de soluções muito diluídas de guta-percha.

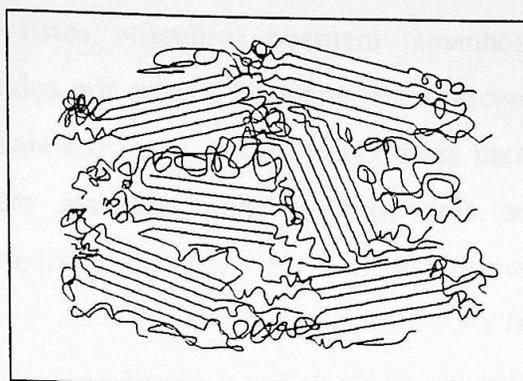


Figura 1 – Conformação das macromoléculas de um polímero semicristalino, segundo o modelo das micelas franjadas

Outro modelo que se propõe a explicar a formação de cristais em polímeros é o modelo das cadeias dobradas (Figura 2), sugerido por Storks em 1938 [Bower, 2002]. Difração eletrônica de filmes de guta-percha com 27nm de espessura, realizada por Storks em 1938 [Bower, 2002], indicou que estes filmes eram compostos por cristaltos onde o eixo das cadeias estava orientado perpendicularmente ao plano do filme. Como o comprimento das cadeias é muito maior que a espessura dos filmes, a única explicação é que as cadeias dobram-se sobre si mesmas, de tal modo que os segmentos adjacentes são paralelos. Foi apenas com a produção dos monocristais na década de 50 que este modelo começou a ser utilizado, sendo atualmente o mais aceito.

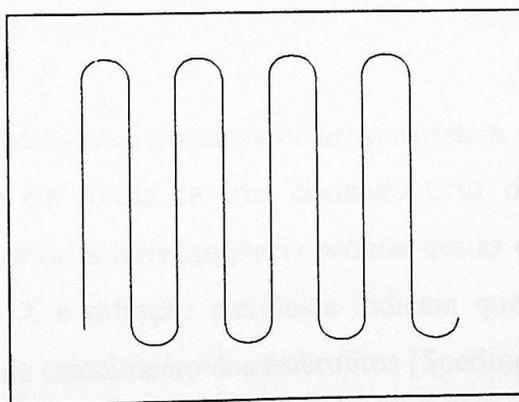


Figura 2 – Conformação das macromoléculas de um polímero semicristalino, segundo o modelo das cadeias dobradas

As estruturas mais comumente encontradas nos polímeros que são cristalizados a partir do estado fundido são agregados cristalinos de forma esférica, denominados

esferulitos (Figura 3). Estes esferulitos possuem tamanhos e graus de perfeição variados, e são constituídos por cristais lamelares que crescem radialmente a partir de um núcleo individual. Tais estruturas são tão importantes para os polímeros quanto às estruturas de grãos em materiais policristalinos, pois sua morfologia interfere diretamente nas propriedades do material. Em ensaios de tração, por exemplo, polímeros com esferulitos menores e finamente estruturados falham em alta elongação, enquanto polímeros maiores falham por fratura frágil em baixa elongação [Billmeyer, 1971].

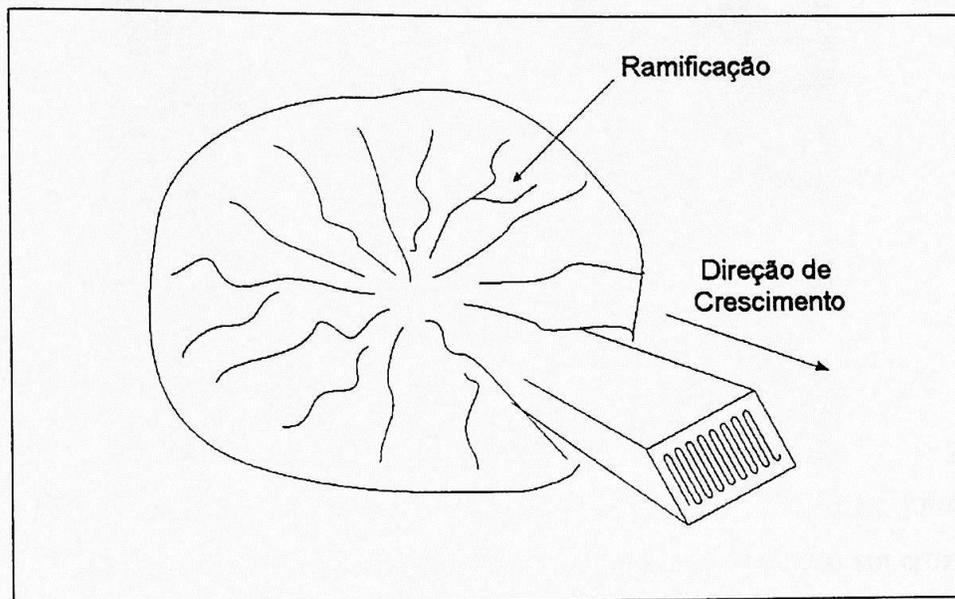


Figura 3 – Esquema estrutural dos esferulitos, que são formados por cristais lamelares que crescem radialmente à direção de crescimento do núcleo.

Quando observados por microscopia de luz polarizada, os esferulitos apresentam um padrão de extinção em forma de cruz chamado Cruz de Malta, ilustrado como exemplo na Figura 4, devido à birrefringência própria destas estruturas [Bower, 2002]. Microdifração de raios X e difração eletrônica indicam que o eixo c dos cristais é normal à direção radial de crescimento dos esferulitos [Sperling, 2001].

Enquanto a estrutura lamelar dos esferulitos é análoga à dos monocristais, o dobramento das cadeias é mais irregular. Este comportamento foi explicado por Hoffman *et al.* em 1976 [Sperling, 2001], que desenvolveram uma teoria cinética da cristalização dos polímeros baseada em taxas de nucleação e crescimento de cristais.

Esferulitos e monocristais podem ser observados por microscopia eletrônica, porém a própria natureza química dos polímeros traz algumas dificuldades. A maioria

dos polímeros comporta-se como isolante elétrico, podendo haver acúmulo de cargas eletrostáticas durante o exame no microscópio eletrônico de varredura, mesmo quando estão recobertos com filmes condutores. Muitas vezes só é possível fazer observações utilizando-se baixa tensão de aceleração do feixe de elétrons, mas com sacrifício da resolução.

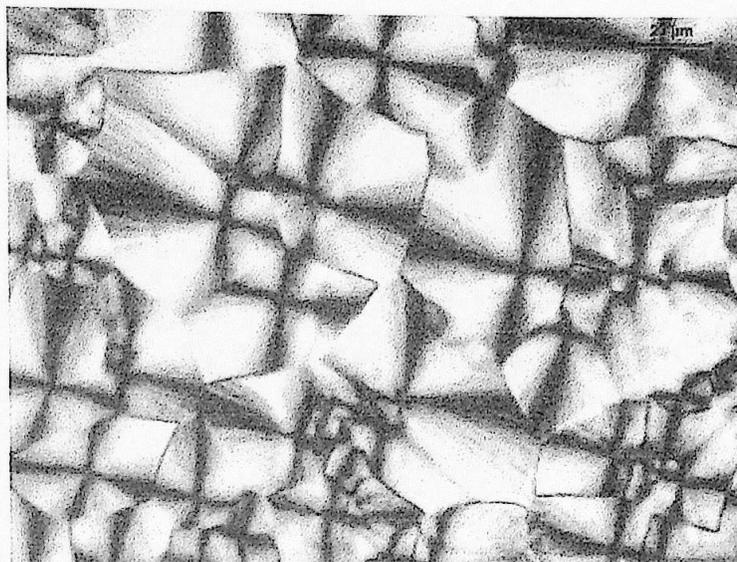


Figura 4 – Esferulitos de polietileno de altíssimo peso molecular (UHWPE), fotografado em microscópio de luz polarizada, apresentando um padrão de extinção em cruz (Cruz de Malta) devido à birrefringência do polímero.

Na sua grande maioria os polímeros são constituídos por elementos leves, tornando-se muito suscetíveis a danos decorrentes da ação do feixe de elétrons do microscópio. Isto é observado principalmente em microscopia eletrônica de transmissão, onde são reportados perda de massa [Reimer, 1975; Vesely, 1977] e mudança de fase cristalina, transformações essas demonstradas nos diagramas de difração eletrônica [Hayat, 1977; Sawyer e Grubb, 1987].

Erosão química [Aboulfaraj *et al.*, 1993], erosão com plasma [Scheirs *et al.*, 1991] e erosão com feixe de íons são técnicas que podem ser utilizadas para destacar esferulitos em superfícies de polímeros [Sawyer e Grubb, 1987], sobretudo em estudos por microscopia eletrônica de varredura. Estes métodos baseiam-se na maior resistência (química e física) apresentada pelas regiões cristalinas em relação às amorfas do material.

Em microscopia eletrônica de transmissão, preparações de cortes [Li *et al.*, 1996; Li e Cheung, 1999] e filmes finos [Sawyer e Grubb, 1987] são comumente utilizadas

para o exame da morfologia e estrutura de polímeros. Filmes finos são produzidos com maior facilidade, enquanto que cortes são mais suscetíveis a deformações, alterando a estrutura da amostra, mesmo quando é utilizada crio-microtomia. Estas preparações devem ser “coradas” com substâncias que incorporam átomos de metais pesados (eletronicamente mais densos) à estrutura do polímero. Tais “corantes eletrônicos” possuem afinidade seja com as fases amorfas ou com as fases cristalinas do material, provendo uma melhora de contraste nas imagens [Sawyer e Grubb, 1987]. A morfologia de superfícies de esferulitos e monocristais pode ser observada diretamente fazendo-se sombreamento metálico [Toda, 1992; Tsuji *et al.*, 2001] ou indiretamente por réplicas de superfícies [Wunderlich, 1973; Basset *et al.*, 1988].

Poli(ε-caprolactona)

A poli(ε-caprolactona) (PCL) é um poliéster termoplástico semicristalino, de cadeia linear, com alta massa molar numérica média (M_n), definida por

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} n_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} n_i} \quad (1)$$

onde n_i é o número de moléculas com massa molar M_i .

A PCL possui baixa temperatura de transição vítrea ($T_g = -60^\circ\text{C}$) e baixa temperatura de fusão cristalina ($T_m = 60^\circ\text{C}$), podendo seu processamento ser realizado com temperaturas não muito elevadas. Sua cristalinidade é de aproximadamente 60% [Mark, 1999]. É um polímero solúvel em hidrocarbonetos clorados (como clorofórmio e tricloroetileno) e em solventes aromáticos (como o benzeno) e insolúvel em água e na maioria dos álcoois [Mark, 1999].

A PCL apresenta a característica de ser biodegradável [Mark, 1999], ou seja, este polímero pode ser degradado pela ação de bactérias, o que torna este material interessante do ponto de vista ambiental, principalmente para o setor de embalagens descartáveis. Trabalhos vêm sendo desenvolvidos para avaliar o potencial de degradação por bactérias [Eldsäter *et al.*, 2000], enzimas [Liu *et al.*, 2000] e outros agentes [Li *et al.*, 1999; Ye *et al.*, 1997].

Devido à sua compatibilidade com uma grande variedade de polímeros e outros materiais, podem ser produzidos compósitos com a PCL para diversas aplicações tecnológicas. Pode-se citar, por exemplo, a confecção de sensores químicos [Tsubokawa *et al.*, 2001] e produção de nanocompósitos condutores [Mecerreyes *et al.*, 2002].

Por ser biocompatível, a PCL é um material com grande potencial para aplicações em biotecnologia, como encapsulamento de fármacos [Chen *et al.*, 2000] e como substrato para engenharia de tecidos [Yoshimoto *et al.*, 2003; Khor *et al.*, 2002; Rizzi *et al.*, 2001]. Outro exemplo de aplicação da PCL é o fio de sutura absorvível MONOCRYL[®] (Ethicon), composto pelo copolímero da glicolida e ϵ -caprolactona.

OBJETIVOS

As propriedades apresentadas pela poli(ϵ -caprolactona), principalmente a biodegradabilidade e a biocompatibilidade, a tornam um material de interesse comercial e tecnológico, sendo portanto oportuno o seu estudo para a implantação de uma linha de pesquisa em polímeros no Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME-IFUSP), visando futuras aplicações em biotecnologia. Neste sentido, este trabalho se propõe a iniciar um estudo das características deste polímero, tendo como objetivos:

- Estudar a morfologia de uma amostra comercial de poli(ϵ -caprolactona) através de procedimentos de microscopia eletrônica, destacando-se o comportamento do polímero em relação à ação do feixe de elétrons dos microscópios
- Utilizar difração de raios X e espectroscopia na região do infravermelho para caracterização de propriedades estruturais do polímero.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Foram utilizadas amostras de policaprolactona (PCL) comercial CAPA® 6500C, com massa molar numérica média (M_n) 50.000g/mol, gentilmente cedidas pela Solvay Interlox Inc. Estas amostras foram recebidas sob a forma de grânulos (pellets) cilíndricos com cerca de 3mm de comprimento e 3mm de diâmetro. Algumas propriedades gerais da PCL são apresentadas na Tabela 1.

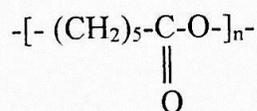
Tabela 1 – Características físicas da PCL

Sistema cristalino ¹	Ortorrômico
Parâmetro a ¹	7,45Å
Parâmetro b ¹	4,98Å
Parâmetro c ¹	17,05Å
Grupo de simetria ¹	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Temperatura de transição vítrea (T_g) ²	-60°C
Temperatura de fusão cristalina (T_m) ²	60°C

¹ Chatani *et al*, 1970.

² Dados fornecidos pelo fabricante.

A unidade de repetição (mero) da poli(ϵ -caprolactona) é



Métodos

O roteiro experimental seguido neste trabalho é esquematizado na Figura 5. Os ensaios consistiram em submeter o polímero a um tratamento térmico, podendo-se proceder à recristalização do material a partir do estado fundido sem que o histórico térmico anterior do material influenciasse neste processo. As amostras tratadas foram então caracterizadas por difração de raios X e espectroscopia na região do infravermelho.

A morfologia de amostras originais (*in natura*) e de amostras tratadas foi observada por microscopia eletrônica de varredura. Filmes finos produzidos a partir de

soluções do polímero *in natura* foram examinados por microscopia eletrônica de transmissão.

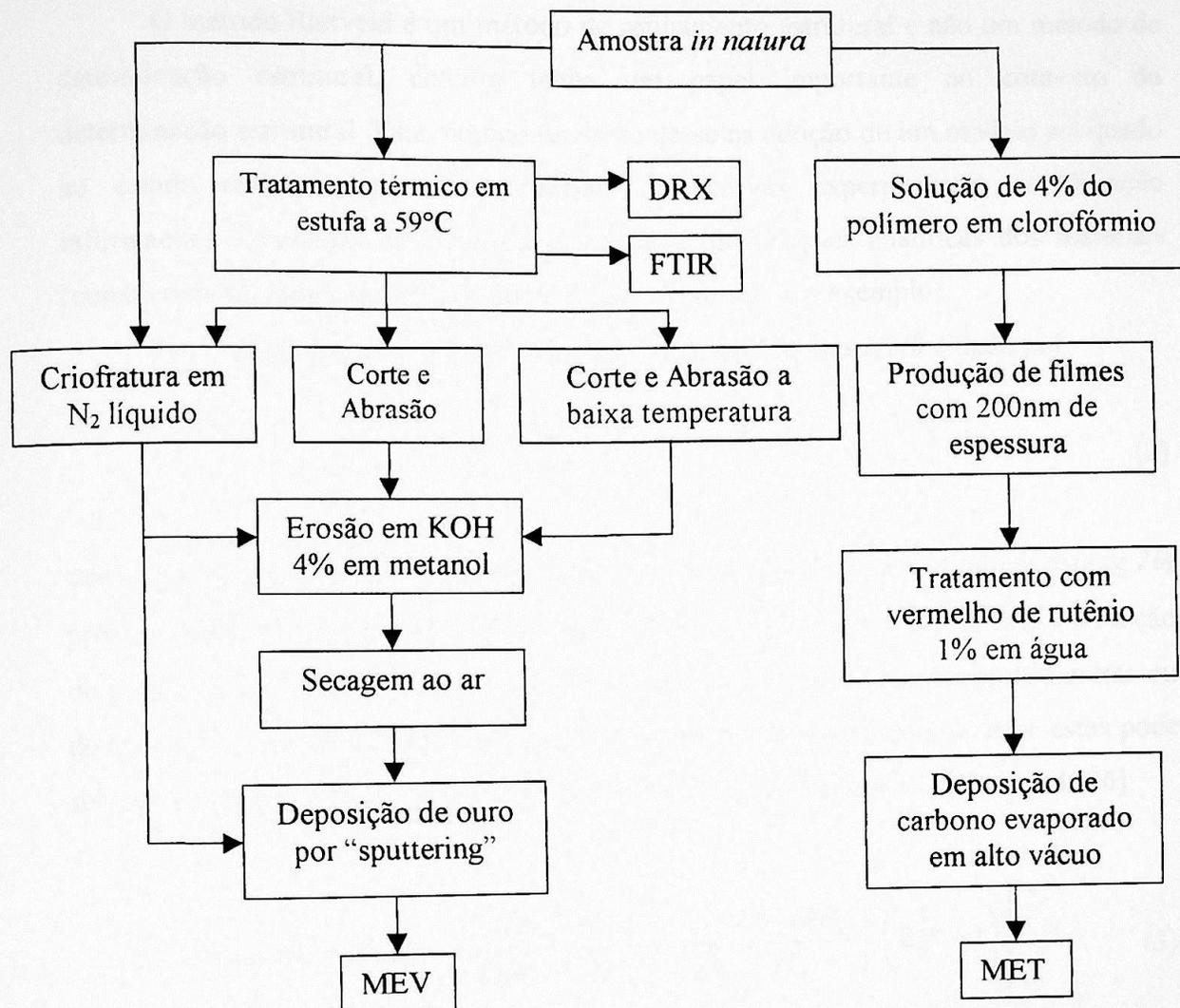


Figura 5 – Esquema do roteiro experimental utilizado para o estudo das amostras

Difração de Raios X (DRX)

Para caracterização da estrutura cristalina da PCL, discos com cerca de 1,5cm de diâmetro e 0,1mm de espessura foram produzidos por fusão entre duas lâminas de vidro sobre uma chapa aquecedora elétrica a 120°C. Os discos então foram descolados das lâminas e tratados termicamente como descrito na etapa de preparação de amostras usadas para MEV (veja-se adiante). A difração de raios X foi realizada utilizando-se um difratômetro Philips X-Pert MPD, com anodo de Cu e monocromador

de grafite, operado com tensão aceleradora de 40kV e corrente de 40mA. As curvas foram obtidas usando-se um passo de $0,02^\circ$ (2θ) e tempo de contagem de 2s por passo.

Método Rietveld de refinamento de estrutura cristalina

O método Rietveld é um método de refinamento estrutural e não um método de determinação estrutural, embora tenha um papel importante no contexto da determinação estrutural. Este método fundamenta-se na adoção de um modelo adequado ao estudo realizado, permitindo extrair das curvas experimentais de difração informações detalhadas da estrutura cristalina e informações analíticas dos materiais (como cristalinidade e quantificação de fases cristalinas, por exemplo).

No método Rietveld o perfil das intensidades difratadas $I(2\theta)$ é dado por

$$I_{calc,2\theta} = \sum_k I_k \Omega(2\theta_i - 2\theta_k) \quad (2)$$

onde a soma é sobre todas as k (abreviação para hkl) reflexões com ângulo de Bragg $2\theta_k$ próximo ao ponto do perfil $2\theta_i$, I_k são as intensidades integradas e $\Omega(2\theta_i - 2\theta_k)$ é a função do perfil normalizada. A função de perfil pode ser uma função Gaussiana, de Lorentz ou de Cauchy. No caso particular de polímeros, uma função intermediária entre estas pode ser mais adequada, sendo geralmente usada a função de Pearson VII [Young, 1996]

$$\Omega(2\theta_i - 2\theta_k) = \frac{2\Gamma(m)\sqrt{2^{1/m}-1}}{\sqrt{\pi}\Gamma(m-\frac{1}{2})H_k} \left[1 + 4\left(\frac{2\theta_i - 2\theta_k}{H_k}\right)^2 \left(2^{1/m} - 1\right) \right]^{-m} \quad (3)$$

onde H_k é largura a meia altura da reflexão, e m é um parâmetro que pode variar continuamente mudando de uma função de Cauchy ($m=1$), passando por uma função de Lorentz ($m=2$) até uma função Gaussiana ($m \rightarrow \infty$). H_k pode ser tomado como dependente apenas de 2θ segundo a equação de Caglioti et al. [Young, 1996]

$$H_k^2 = U \tan^2 \theta + V \tan \theta + W \quad (4)$$

onde U , V e W são quantidades empíricas desprovidas de significado físico.

A qualidade do ajuste é avaliada pelo índice de qualidade S dado por

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_o - y_c)^2}{(N - P + C)}} \quad (5)$$

onde y_o e y_c são, respectivamente, as intensidades observadas e calculadas do i -ésimo ponto da curva de difração, w_i é valor ponderado das intensidades, N o número de pontos experimentais considerados no ajuste, P o número de parâmetros e C o número de parâmetros obrigatórios. Considera-se um ajuste adequado quando o valor de S é aproximadamente 1,5 [Young, 1996].

Os parâmetros variados são corrigidos em cada ciclo do processo de refinamento por $\Delta p_j = A^{-1} \cdot b$ onde

$$A_{kj} = \sum_i w_i \left(\frac{\partial y_c}{\partial p_k} \right)_i \left(\frac{\partial y_c}{\partial p_j} \right)_i \quad (6)$$

$$b_k = \sum_i w_i \left(\frac{\partial y_c}{\partial p_k} \right)_i (y_o - y_c)_i \quad (7)$$

sendo a soma realizada sobre todos os pontos do perfil. Os desvios-padrão σ_j e coeficientes de correlação C_{kj} são respectivamente

$$\sigma_j = \sqrt{\frac{\sum w_i (y_o - y_c)^2}{(N - P)}} \sqrt{A_{jj}^{-1}} \quad (8)$$

$$C_{kj} = \frac{A_{kj}^{-1}}{\sqrt{A_{kk}^{-1} - A_{jj}^{-1}}} \quad (9)$$

Com o propósito de melhor caracterizar a presença de PCL na amostra, foi efetuado o refinamento Rietveld da estrutura cristalina do polímero, utilizando-se o software Debvin, desenvolvido por Brückner e Immirzi [1997] particularmente para polímeros. O refinamento foi realizado estimando-se e subtraindo-se do gráfico o espalhamento incoerente das regiões amorfas com o software Pulwin [Brückner, 2000]. Ambos os softwares são "freeware" e foram obtidos via internet.

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Para caracterizar a natureza química do polímero foram produzidos discos com 5mm de diâmetro a partir daqueles preparados para difração de raios X. Os espectros de infravermelho foram obtidos com um espectrômetro FTIR Bomenn modelo DA-3, dotado de uma cela foto-acústica preenchida com He.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Usou-se o MEV para caracterizar-se a morfologia do polímero, tanto da amostra original (*in natura*) como daquelas submetidas a diferentes tratamentos. As amostras de PCL foram inicialmente fundidas sobre uma lâmina de vidro a uma temperatura de 120°C em um aquecedor elétrico por 3 minutos e depois mantidas em uma estufa a 59°C por um período de 1h a 1h30min. A seguir as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente para promover a cristalização do polímero.

Amostras assim tratadas termicamente e amostras *in natura* foram crio-fraturadas. Para isto, elas foram imersas em nitrogênio líquido até atingir o equilíbrio térmico a -196°C, depois rapidamente transferidas sobre uma base metálica já em equilíbrio térmico com um reservatório de nitrogênio líquido, onde foram crio-fraturadas. Usou-se um único impacto de um pequeno martelo (também frio) para proceder à fratura. Alguns fragmentos foram erodidos em um banho de hidróxido de potássio (KOH) a 1% (m/V) em metanol. Para avaliação do grau da ação do KOH, amostras foram submetidas à erosão por 3h, 4h, 5h, 6h e 15h. As amostras foram então lavadas em água destilada por três vezes e secas ao ar por uma noite.

Também foram preparadas amostras por meio de corte usando-se uma lâmina de aço; a superfície assim exposta foi em seguida submetida a abrasão usando-se abrasivos de granulometria decrescente: Branco de Espanha (nitrito básico de bismuto, granulometria não definida), alumina (0,3µm) e um abrasivo comercial, Linde B (Ladd, cat. n°. 148, 0,05µm). A abrasão foi realizada sobre uma placa de vidro com 6mm de espessura, mantendo-se as amostras sempre umedecidas com água destilada. Um roteiro alternativo foi repetir o procedimento anterior usando-se uma bolsa de gelo sob a mesma placa de vidro e água destilada à temperatura de 10°C, com o propósito de evitar o aquecimento do polímero durante o processo de abrasão. As amostras desta forma

preparadas foram lavadas em água destilada por três vezes, submetidas a um banho ultra-sônico por 1 minuto, novamente lavadas por três vezes em água destilada e submetidas à erosão com KOH.

Todas as amostras foram montadas sobre porta-amostras de MEV com cola de Ag coloidal, depois recobertas com ouro por "sputtering" utilizando-se um equipamento Edwards S150 com plasma de Argônio, utilizando-se uma corrente de 5mA e uma diferença de potencial de 1kV por 4 minutos. As amostras foram observadas no microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM-840A com tensão aceleradora de 15 ou 25kV, operando na modalidade de elétrons secundários.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Amostras de CAPA foram preparadas para estudo por microscopia eletrônica de transmissão na forma de filmes finos. Usou-se uma solução do polímero a 4% (m/V) em clorofórmio e um dispositivo construído de acordo com Revell e Agar [Kay e Cosslet, 1965] (Figura 6). Este dispositivo consta de um funil de decantação, contendo no reservatório a solução de PCL, na qual se posiciona uma lâmina de vidro na vertical. A solução escorre lentamente por um capilar, produzindo sobre esta lâmina um filme contínuo e uniforme em uma grande extensão. Em nossos experimentos, preparamos filmes que apresentaram, quando secos, cor de interferência dourada (aproximadamente 200nm de espessura).

Uma vez secos, os filmes são recortados e descolados da lâmina na superfície de água destilada, sendo transferidos para grades de microscopia eletrônica de transmissão. O polímero foi tratado com vermelho de rutênio para aumentar sua densidade eletrônica. As grades foram depositadas individualmente sobre gotas de uma solução de vermelho de rutênio (Taab, cat. n°. R003) 1% (m/V) em água destilada por 1 e 4h, com a face que contém o filme em contato direto com a gota. As preparações foram em seguida lavadas em água destilada e cobertas com carbono evaporado utilizando-se um evaporador Kinney KSE-2. As observações foram realizadas no microscópio eletrônico de transmissão (MET) Philips CM200 com tensão aceleradora de 120 ou 160kV.

3- RESULTADOS

Difração de raios X

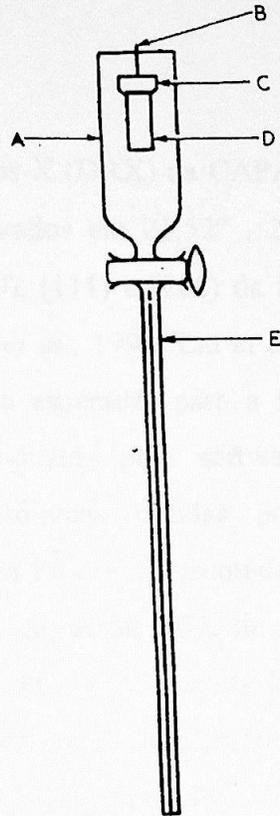


Figura 6 – Aparelho para produção de filmes finos de PCL sobre lâmina de vidro:

A) reservatório B) suporte C) presilha D) lâmina E) capilar

3- RESULTADOS

Difração de raios X

A curva de difração de raios X (DRX) da CAPA[®] 6500C é mostrada na Figura 7. Os três primeiros picos, localizados em 21,52°, 22,08° e 23,78° são associados, respectivamente, às reflexões (110), (111) e (200) da PCL, geralmente utilizadas para identificar este polímero [Nojima *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 2000]. As reflexões restantes que aparecem no gráfico não são esperadas para a PCL, conforme mostra a curva teórica de DRX (Figura 8), produzida pelo software cristalográfico Powder Cell utilizando-se as coordenadas atômicas obtidas por Chatani *et al.* [1970]. A representação da célula unitária da PCL é apresentada na Figura 9. A curva de DRX experimental foi comparada com curvas de DRX de poli(butileno tereftalato)-co-PCL [Zhibo *et al.*, 2001] e blendas de PCL e polilactida [Liu *et al.*, 2000], porém não foi possível associar nenhum destes polímeros às reflexões não esperadas para PCL.

O refinamento Rietveld da estrutura da PCL foi realizado na região entre 18° e 30° da curva de DRX. Os coeficientes térmicos isotrópicos adotados foram de 8Å² para o C e O, e de 16Å² para o H. A Figura 10 apresenta a curva experimental (I_{obs}) da região selecionada juntamente com a curva teórica (I_{calc}) gerada no processo de refinamento pelo software *Debvin*. Os dados utilizados e os resultados obtidos com os respectivos desvios padrão são apresentados na Tabela 2. O índice de qualidade do refinamento obtido foi $S = 6,96$.

Tabela 2 - Dados do refinamento Rietveld da PCL

Parâmetros não estruturais utilizados	
Parâmetros da função do perfil dos picos	
U	-0,440
V	0,350
W	0,029
M	2
Correção do zero do goniômetro	-0,03341
Parâmetros refinados	
Parâmetros da rede	
a (Å)	7,48 (0,01)
b (Å)	4,98 (0,01)
c (Å)	17,02 (0,06)

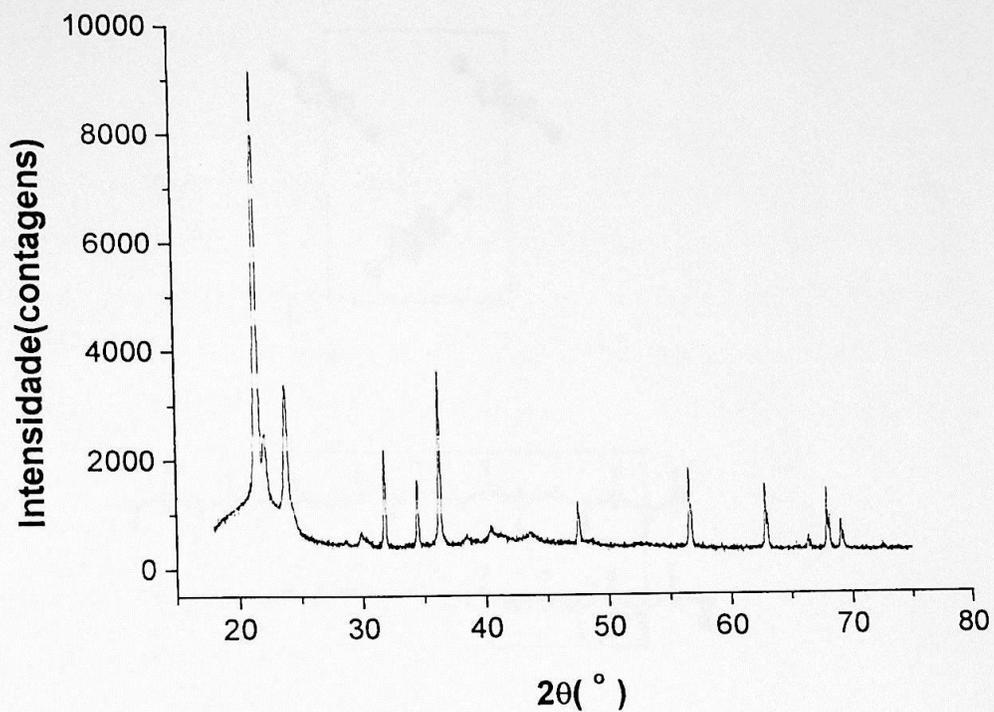


Figura 7 – Curva de DRX experimental da PCL CAPA® 6500C

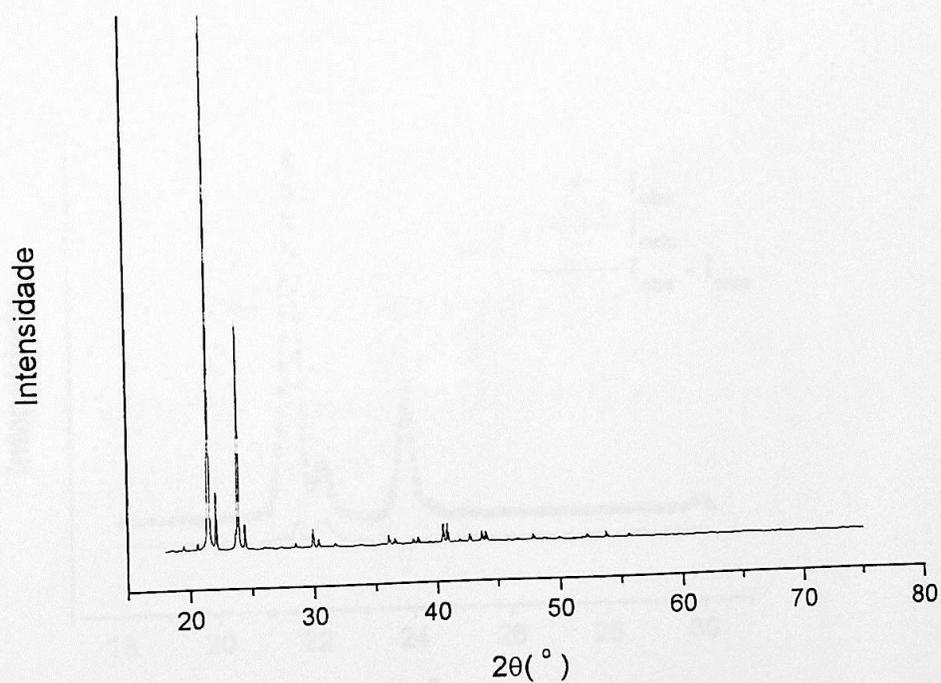


Figura 8 – Curva de DRX teórica da PCL, obtida utilizando-se o software cristalográfico Powder Cell

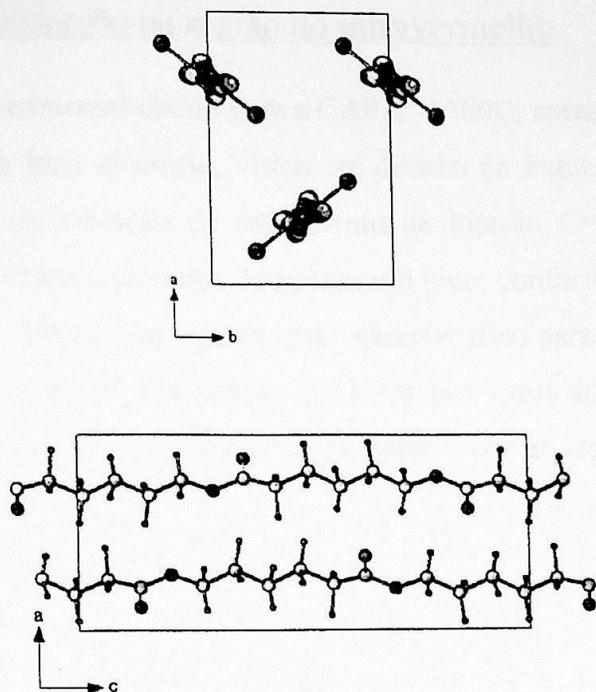


Figura 9 – Representação da célula unitária da PCL, gerada pelo software cristalográfico Powder Cell. As esferas vermelhas representam os átomos de C, as verdes maiores os átomos de O e as menores os átomos de H (não apresentados na projeção do plano ab para melhor visualização)

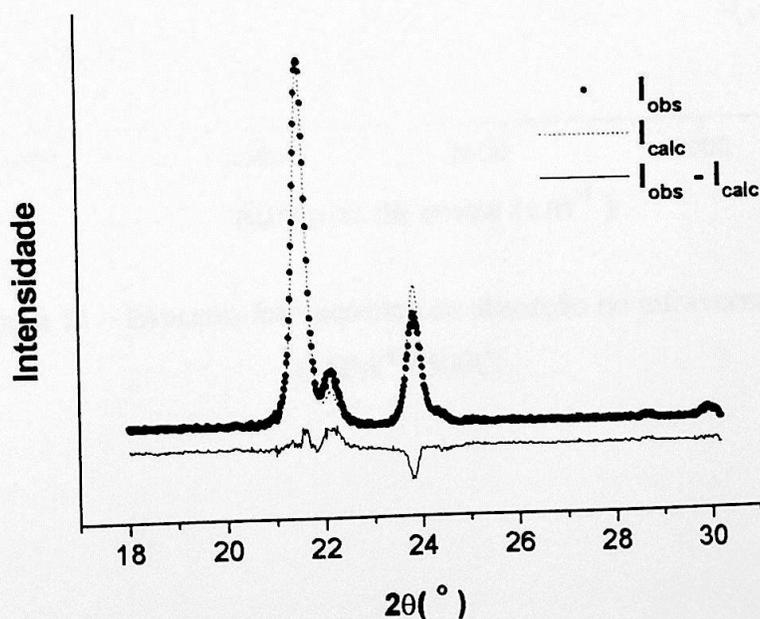


Figura 10 – Gráfico de refinamento Rietveld da PCL, mostrando a curva experimental (I_{obs}), a curva teórica (I_{calc}) e a diferença entre elas ($I_{obs} - I_{calc}$).

Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

O espectro experimental obtido para a CAPA[®] 6500C, apresentado na Figura 11, mostra dois picos com forte absorção, vistos em detalhe na Figura 12, em 1739cm^{-1} e em 1729cm^{-1} , região de vibração de estiramento da ligação C=O característica dos poliésteres, onde é esperada a presença de apenas um pico, conforme padrão encontrado na literatura [Hummel, 1991]. Um segundo pico característico para este material está em 1245cm^{-1} , associado à vibração da ligação C-O. Os picos que aparecem na região de 1500 a 1000cm^{-1} possuem intensidades relativas maiores que as esperadas.

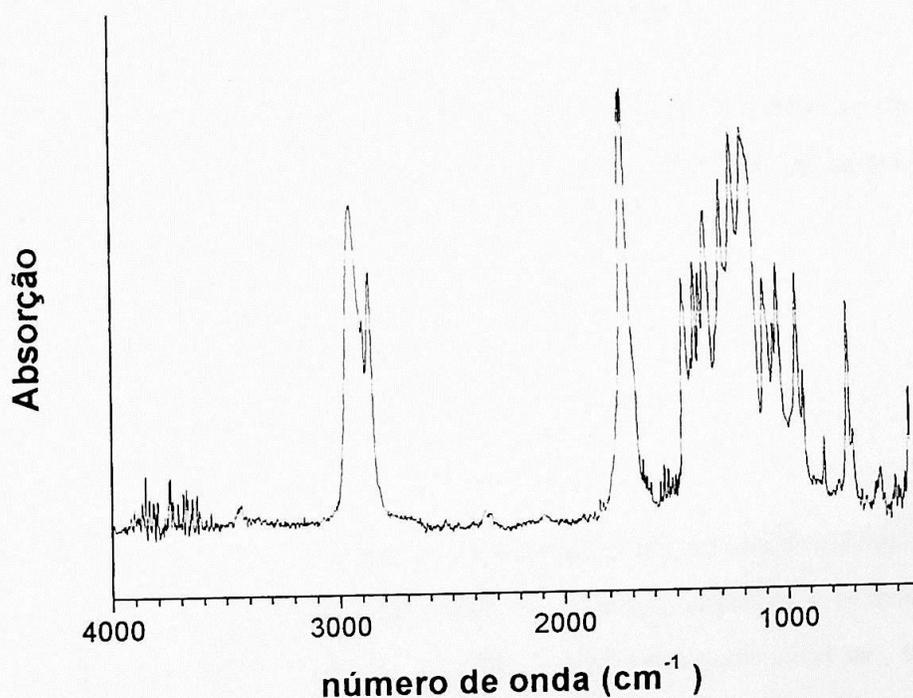


Figura 11 – Espectro foto-acústico de absorção no infravermelho da PCL CAPA[®] 6500C.

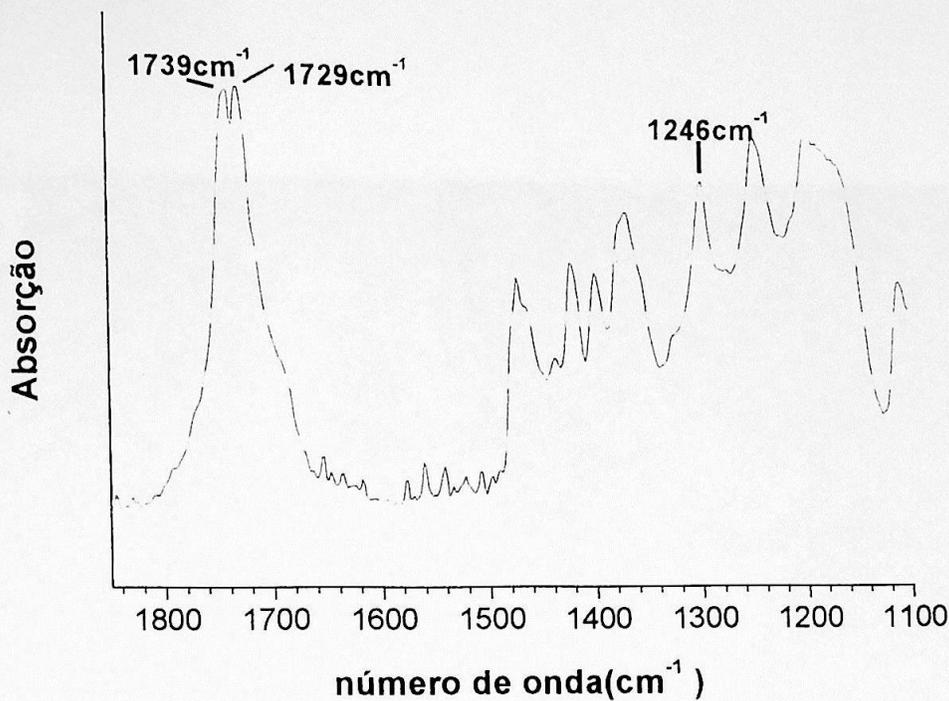


Figura 12 – Detalhe da região entre 1850 e 1100 cm^{-1} do espectro de absorção no infravermelho da CAPA[®], mostrando alguns picos de absorção característicos dos poliésteres.

Microscopia Eletrônica de Varredura

Superfícies de fratura

As Figuras 13 e 14 apresentam as superfícies de fratura de grânulos de PCL *in natura*, não erodidas, não mostrando esferulitos. Estas superfícies apresentam apenas estriações quase paralelas. Também não são observados esferulitos nas superfícies de fratura das amostras tratadas termicamente mas não erodidas. Observa-se apenas ondulações irregulares e pequenas fibras em sua extensão (Figuras 15 e 16).

Observando fraturas de amostras *in natura* erodidas por 5h (Figuras 17 e 18), vemos que a morfologia dos esferulitos é revelada pelo tratamento com KOH. Estes esferulitos têm dimensões da ordem de 35 μm , com uma estrutura radial constituída por lamelas cristalinas.

As superfícies de fratura das amostras tratadas termicamente e erodidas por 5h também apresentam uma morfologia esferulítica, apesar da topografia acidentada predominante das fraturas, como mostrado nas Figuras 19 e 20.

Figura 13 – Imagem de varredura da superfície de fratura de PCL *in natura*. MEV operando com 25kV. Ampliação: 500x.

Figuras 14 – Detalhe da imagem anterior, mostrando as estriações quase paralelas da superfície. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2500x.

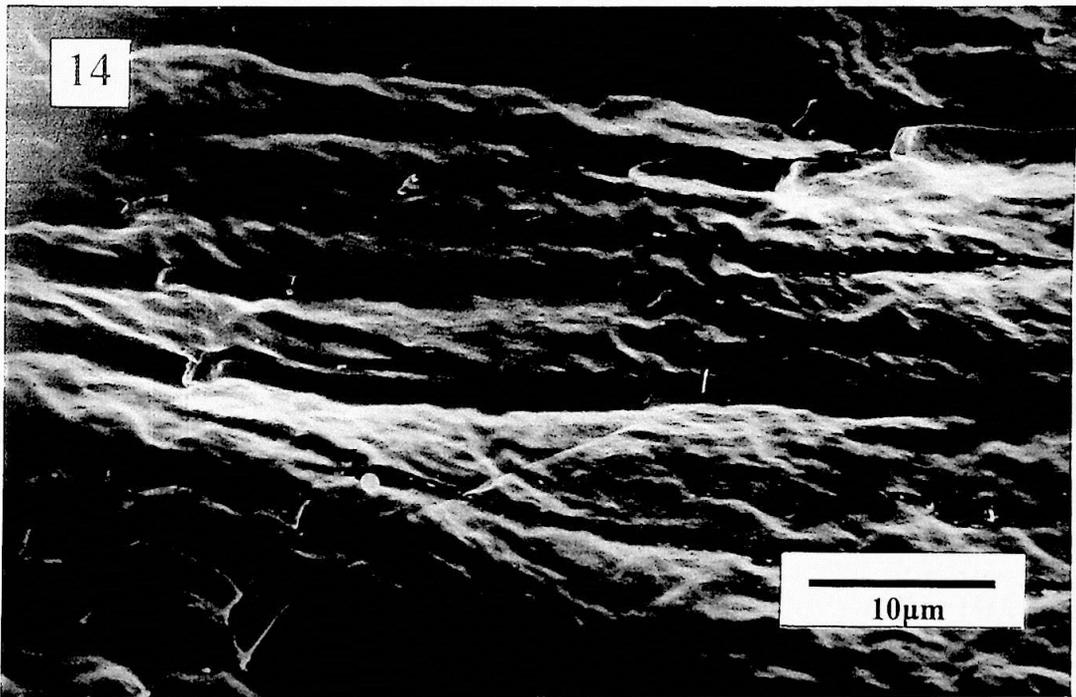
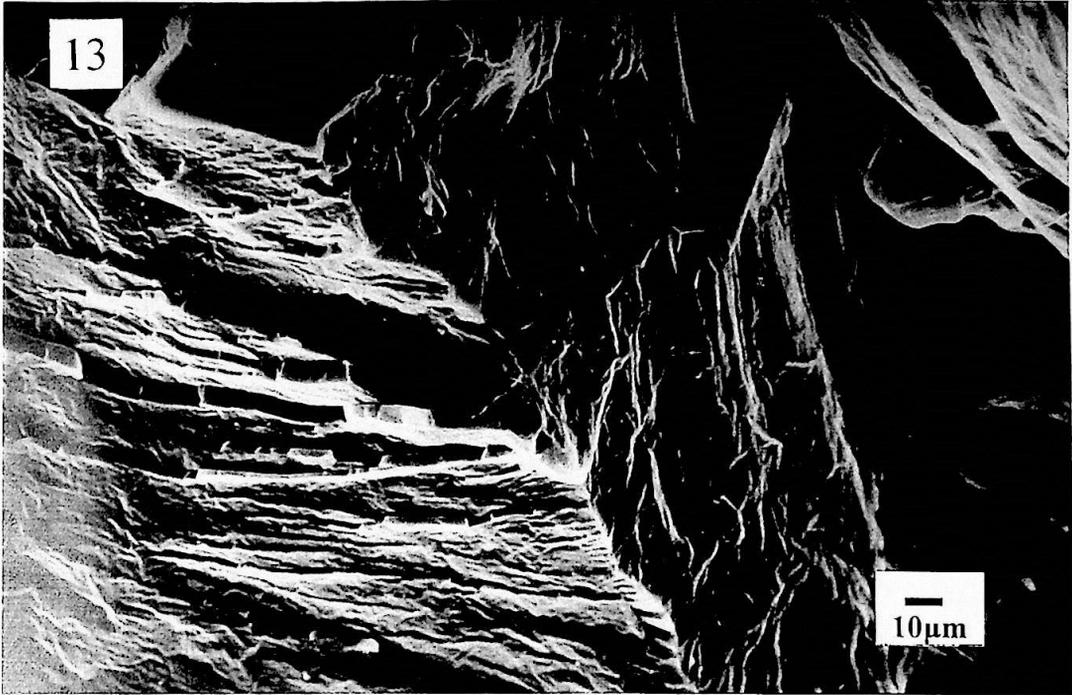
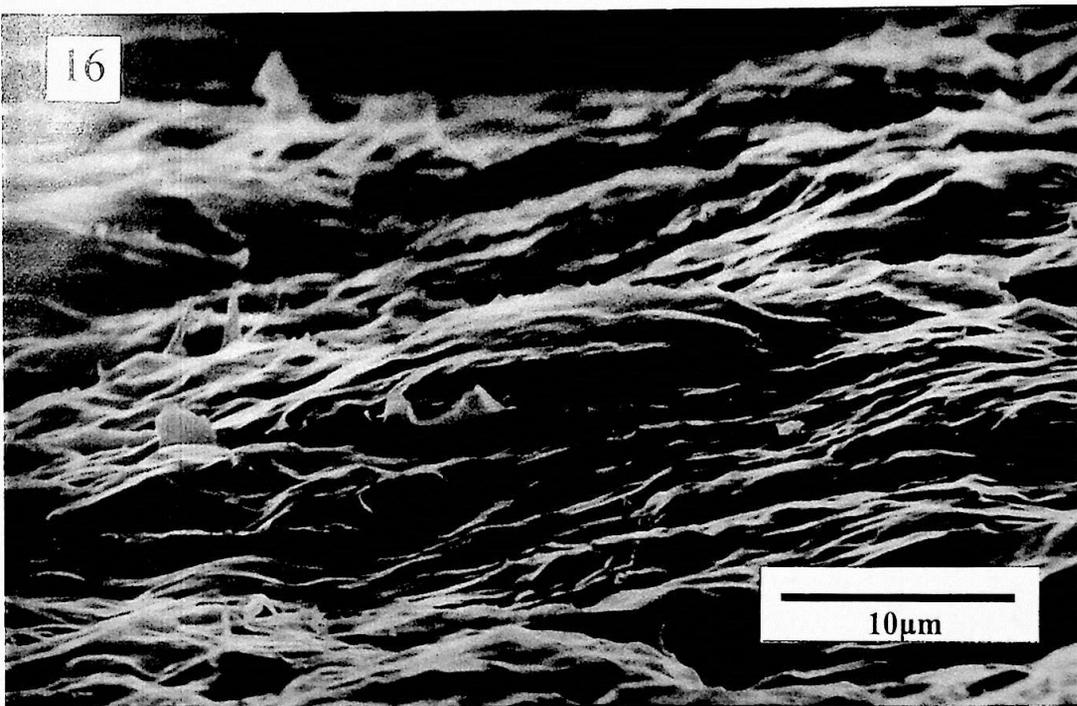
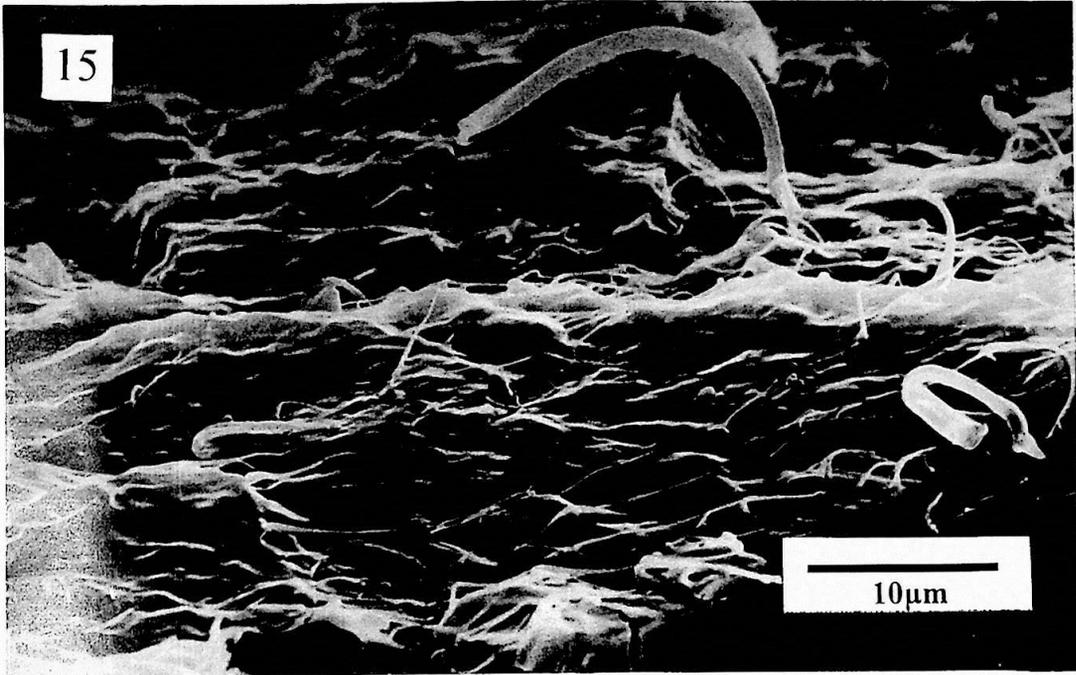


Figura 15 – Imagem de varredura da superfície de fratura de CAPA[®] tratada termicamente a 59°C em estufa. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2500x.

Figura 16 – Detalhe da imagem anterior, mostrando ondulações irregulares e pequenas fibras na superfície do material. MEV operando com 25kV. Ampliação: 3100x.





INSTITUTO DE FÍSICA
Serviço de Biblioteca e
Informação
Tombo: 39052x1

Figura 17 – Superfície de fratura de PCL *in natura*, após erosão 5h em KOH 1%. O processo de erosão revela a estrutura esferulítica do polímero, permitindo observar sua morfologia. MEV operando com 25kV. Ampliação: 1200x.

Figura 18 – Detalhe de esferulito da figura anterior, mostrando as lamelas alongadas que compõem o material. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2500x

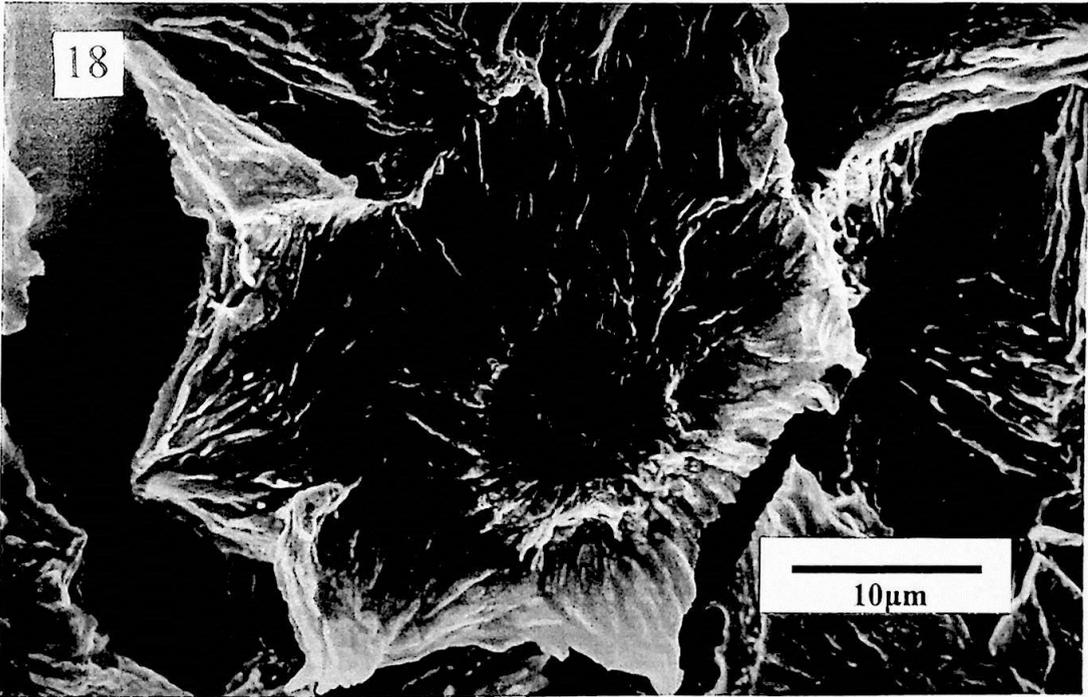
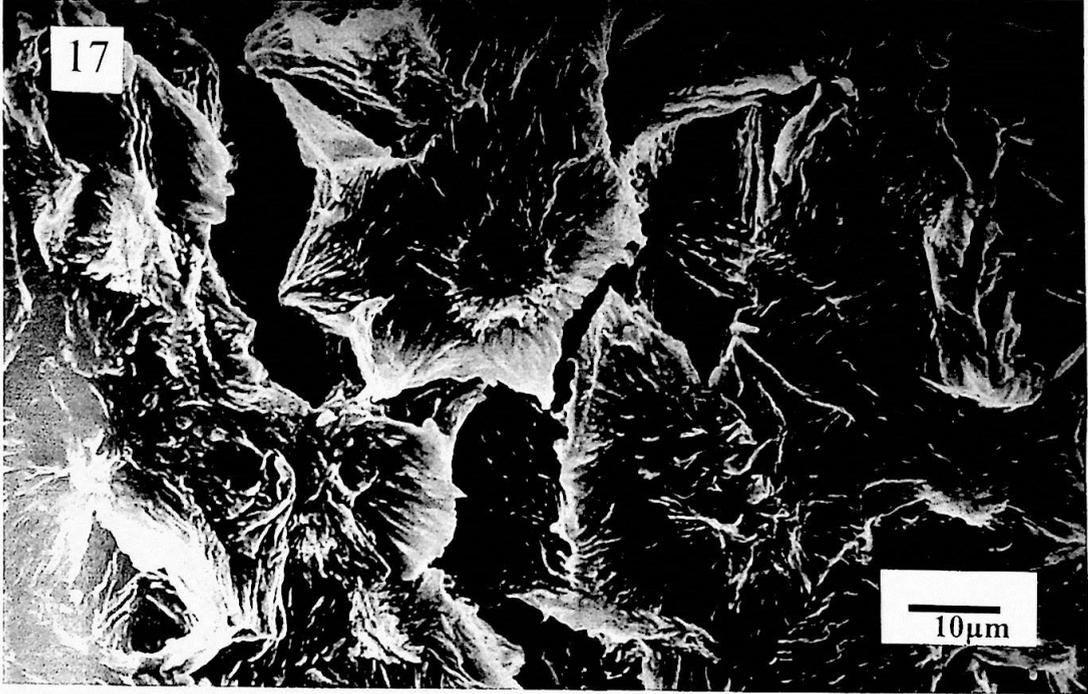
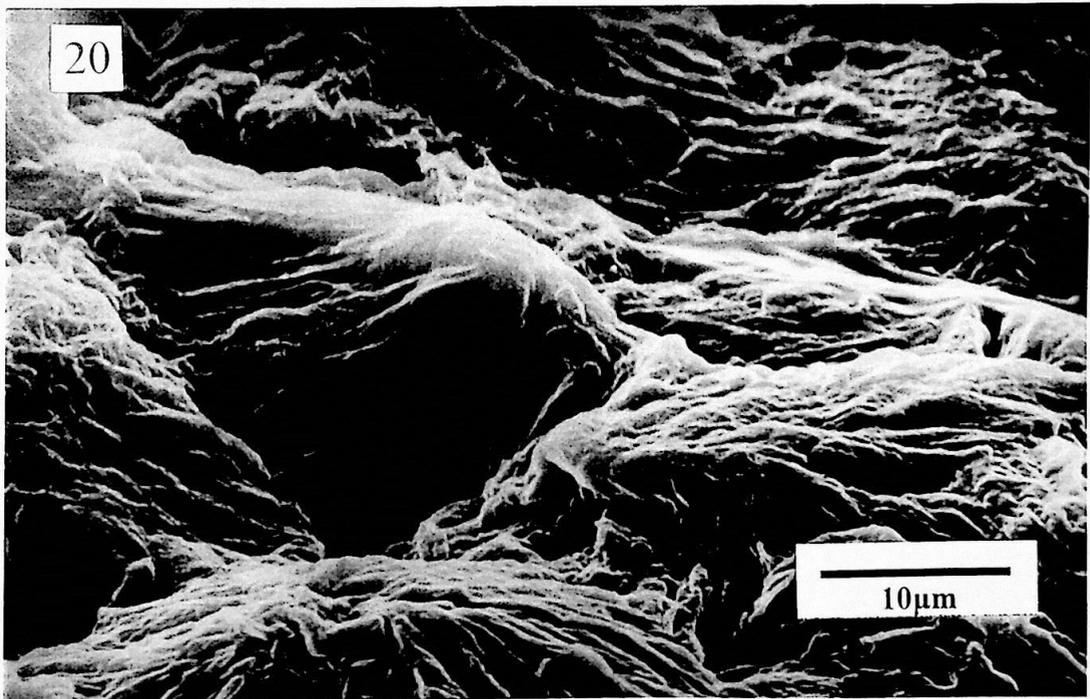
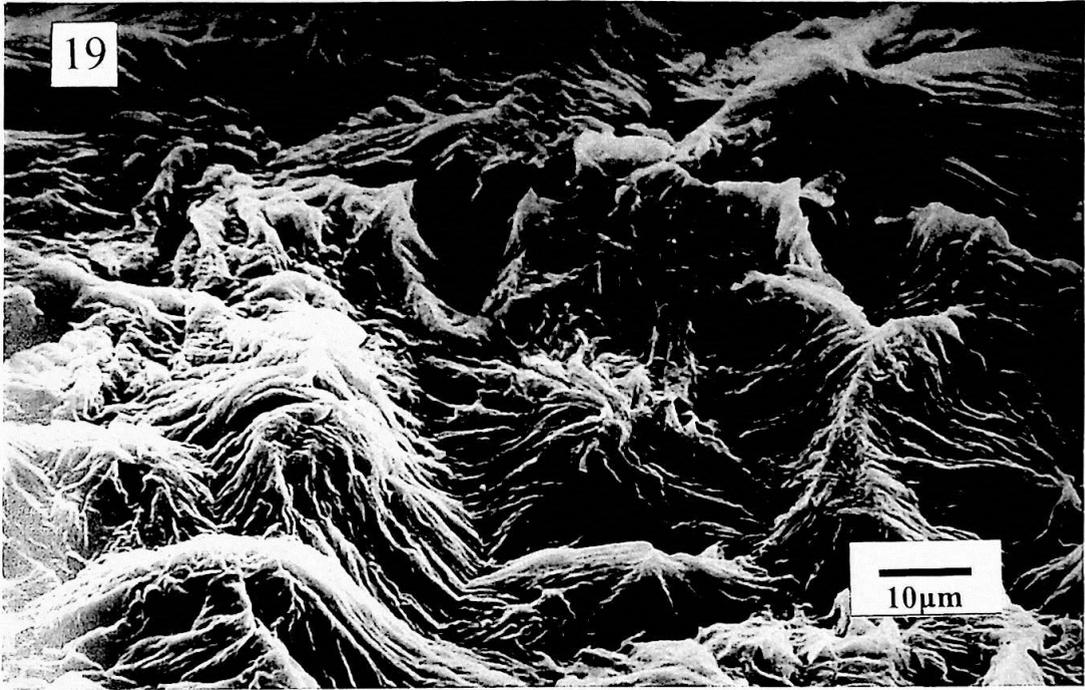


Figura 19 – Superfície de fratura de PCL tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 5h em KOH 1%, também mostrando a presença de esferulitos. MEV operando com 25kV. Ampliação: 1200x.

Figura 20 – Detalhe da superfície de fratura de amostra tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 5h em KOH 1%. A topografia acidentada é característica de fraturas. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2500x



Tempo de Erosão

Analisando-se a superfície da interface polímero-ar de amostras tratadas termicamente e erodidas, observamos que uma erosão entre 4 e 5 horas parece revelar a estrutura esferulítica do polímero sem gerar muitos artefatos, sendo possível observar as lamelas que os compõem, como mostram as Figuras 21 e 22. Os esferulitos apresentam bordas retas e angulosas, com um raio que varia entre 30 e 50 μm . Tempos de erosão menores que 4h não revelam todos os seus detalhes (Figura 23), enquanto que tempos maiores parecem comprometer a estrutura cristalina da amostra (Figuras 24, 25 e 26), apesar de ainda ser possível identificar os limites de cada esferulito e observar um carácter radial nos mesmos.

Abrasão e erosão

As Figuras 27 e 28 mostram os resultados obtidos quando as amostras são cortadas, polidas e erodidas à temperatura ambiente. A superfície destas amostras apresenta uma topografia menos acentuada, mas ainda é possível identificar o contorno dos esferulitos.

Quando a abrasão é realizada com resfriamento há uma melhor conservação da estrutura dos esferulitos, apesar de ainda ocorrerem deformações nos mesmos (Figuras 29 a,b).

Figura 21 - Superfície da interface polímero-ar de amostra de PCL, tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 4h em KOH 1%, revelando os esferulitos do material. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2700x.

Figura 22 - Superfície de interface polímero-ar de amostra tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 5h em KOH 1%, também revelando os esferulitos do material sem muitos artefatos. MEV operando com 25kV. Ampliação: 1200x.

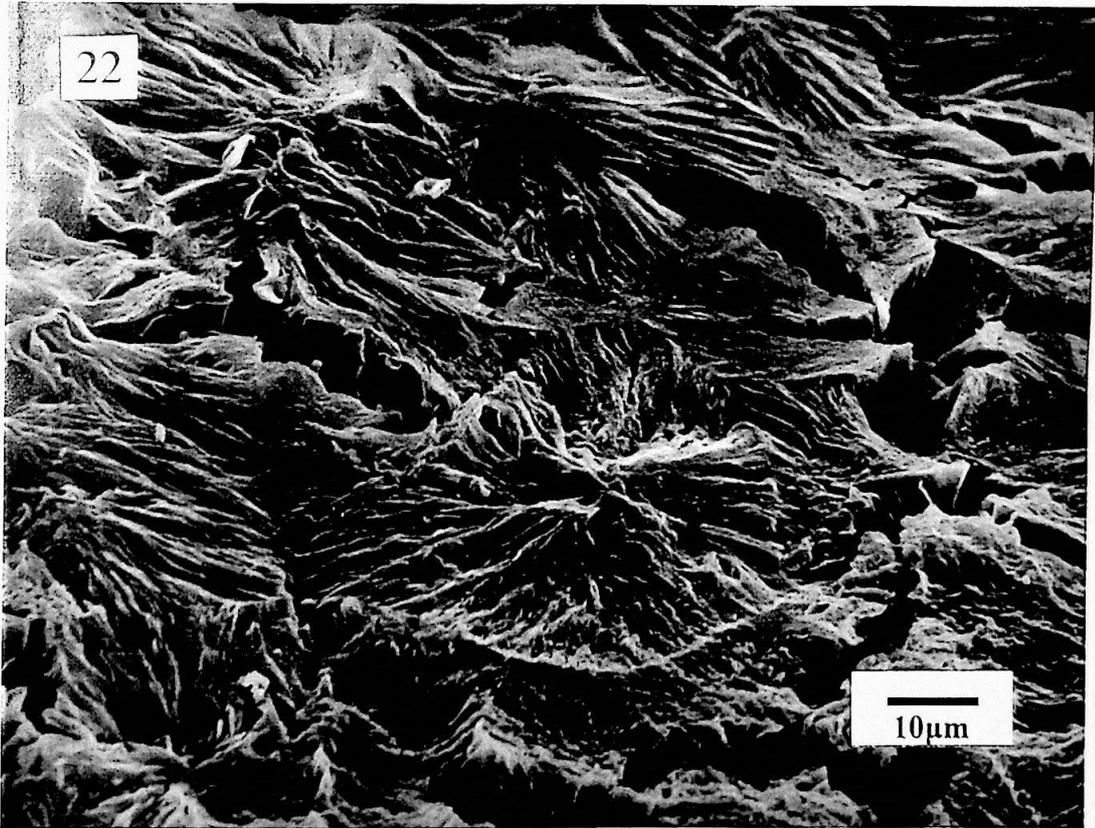
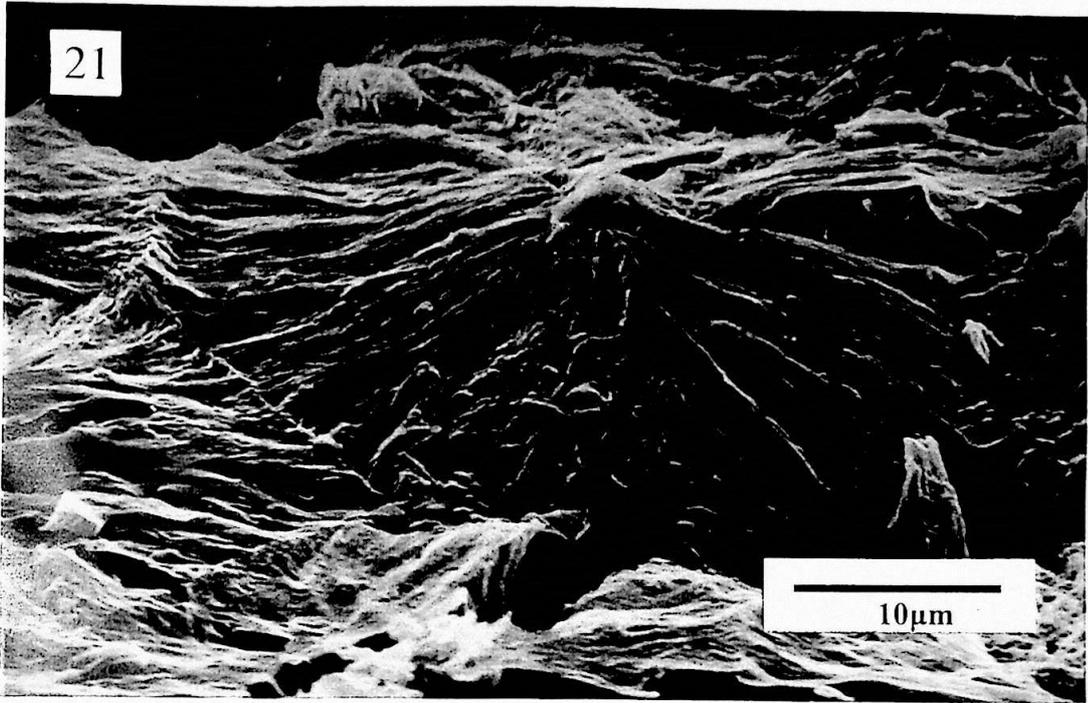


Figura 23 – Superfície de interface polímero-ar de amostra tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 3h em KOH 1%. Os limites dos esferulitos podem ser observados, apesar de a estrutura radial não ser tão evidente. MEV operando com 15kV. Ampliação: 1200x.

Figura 24 – Superfície de interface polímero-ar de amostra tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 6h em KOH 1%. A erosão começa a afetar as regiões cristalinas do polímero, sendo difícil à visualização dos esferulitos. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2500x.

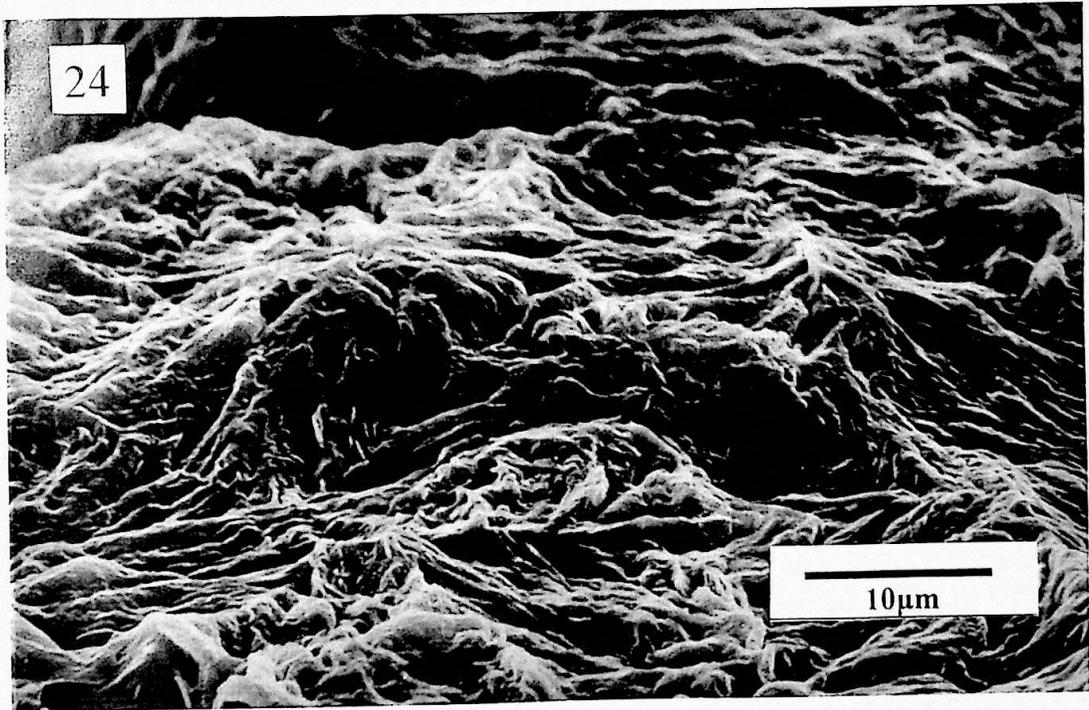


Figura 25 – Superfície de interface polímero-ar de amostra tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 6h em KOH 1%. MEV operando com 25kV. Ampliação: 2500x.

Figura 26 – Superfície de interface polímero-ar de amostra tratada termicamente a 59°C em estufa e erodida por 15h em KOH 1%. Pode-se observar vários esferulitos nesta imagem, porém as regiões cristalinas do polímero já foram muito afetadas pela erosão, apesar de ainda ser possível notar uma estrutura radial. MEV operando com 25kV. Ampliação: 1200x.

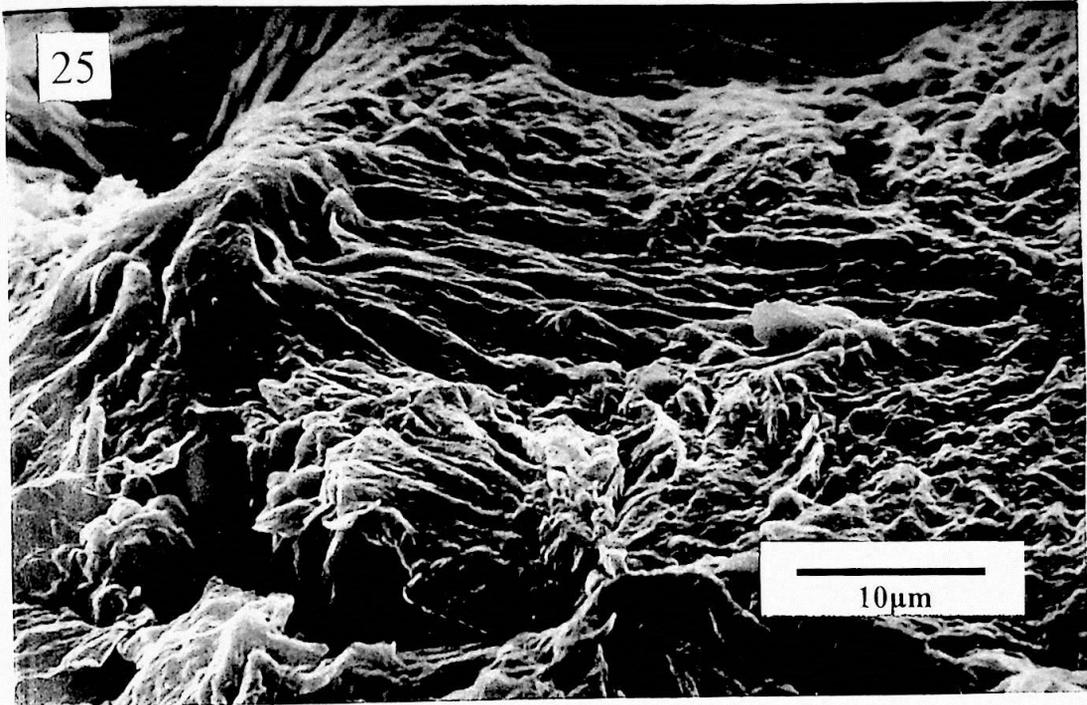
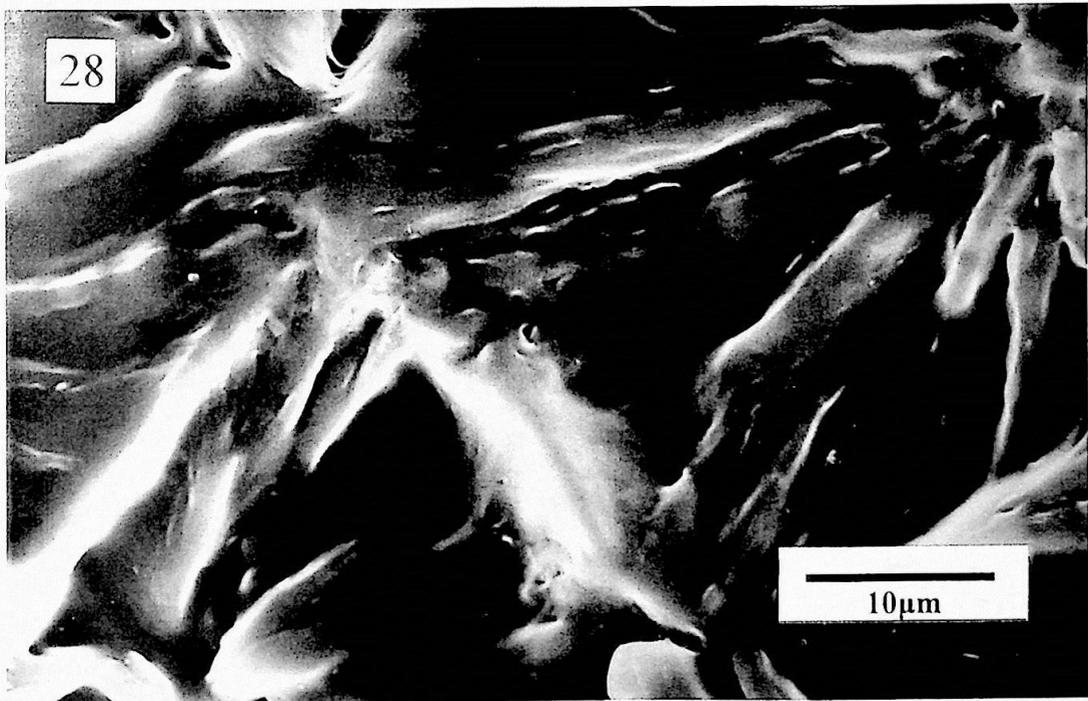
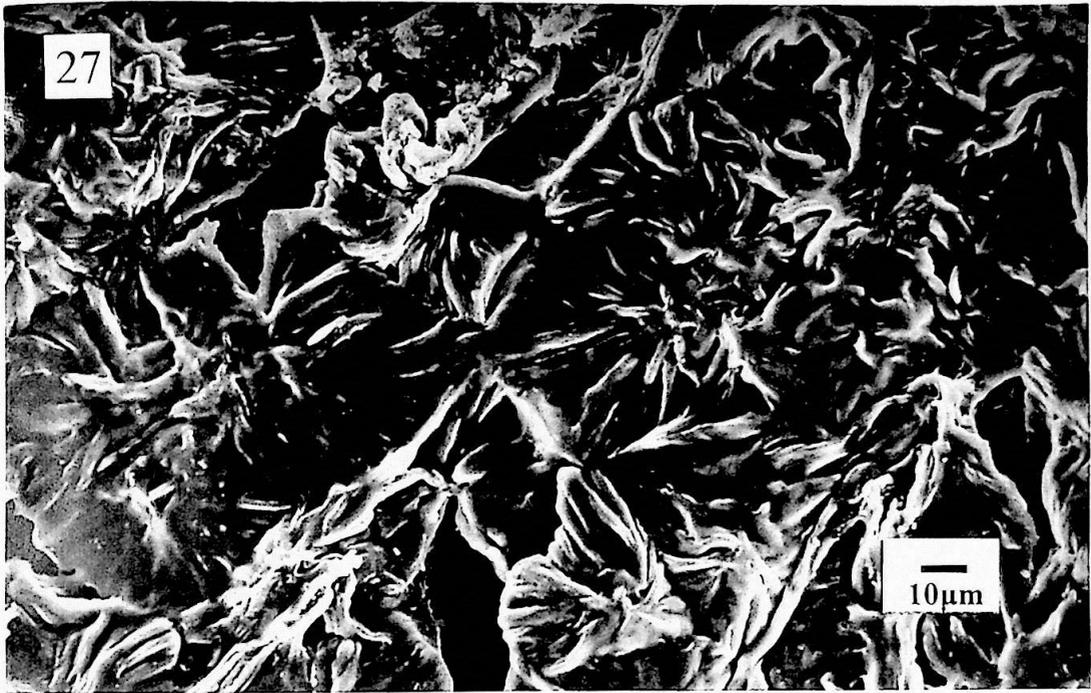
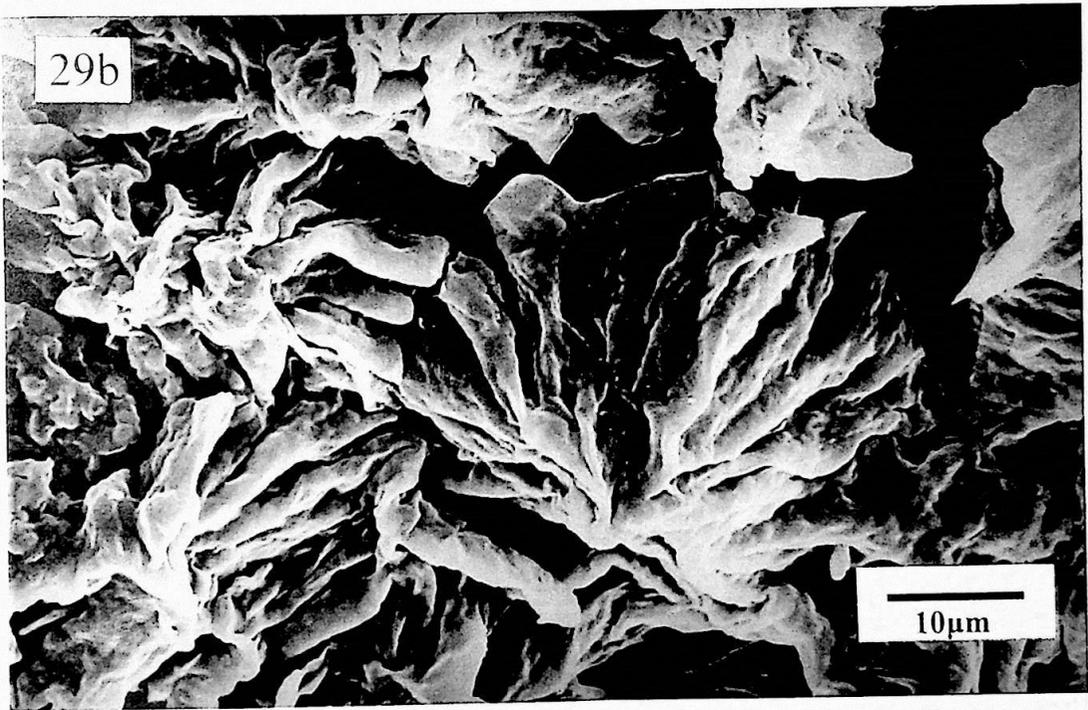


Figura 27 – Superfície de amostra cortada e polida à temperatura ambiente, apresentando esferulitos que são deformados durante o tratamento. MEV operando com 15kV. Ampliação: 600x.

Figura 28 – Superfície de amostra cortada e polida à temperatura ambiente, apresentando topografia pouco acentuada. MEV operando com 15kV. Ampliação: 2500x.



Figuras 29 – Superfície de PCL cortada e polida mantendo-se a amostra sob baixa temperatura (entre 0 e 10° C). Observa-se em (a) uma topografia mais acentuada (600x) e em (b) uma menor deformação dos esferulitos (1800x). MEV operando com 15kV.



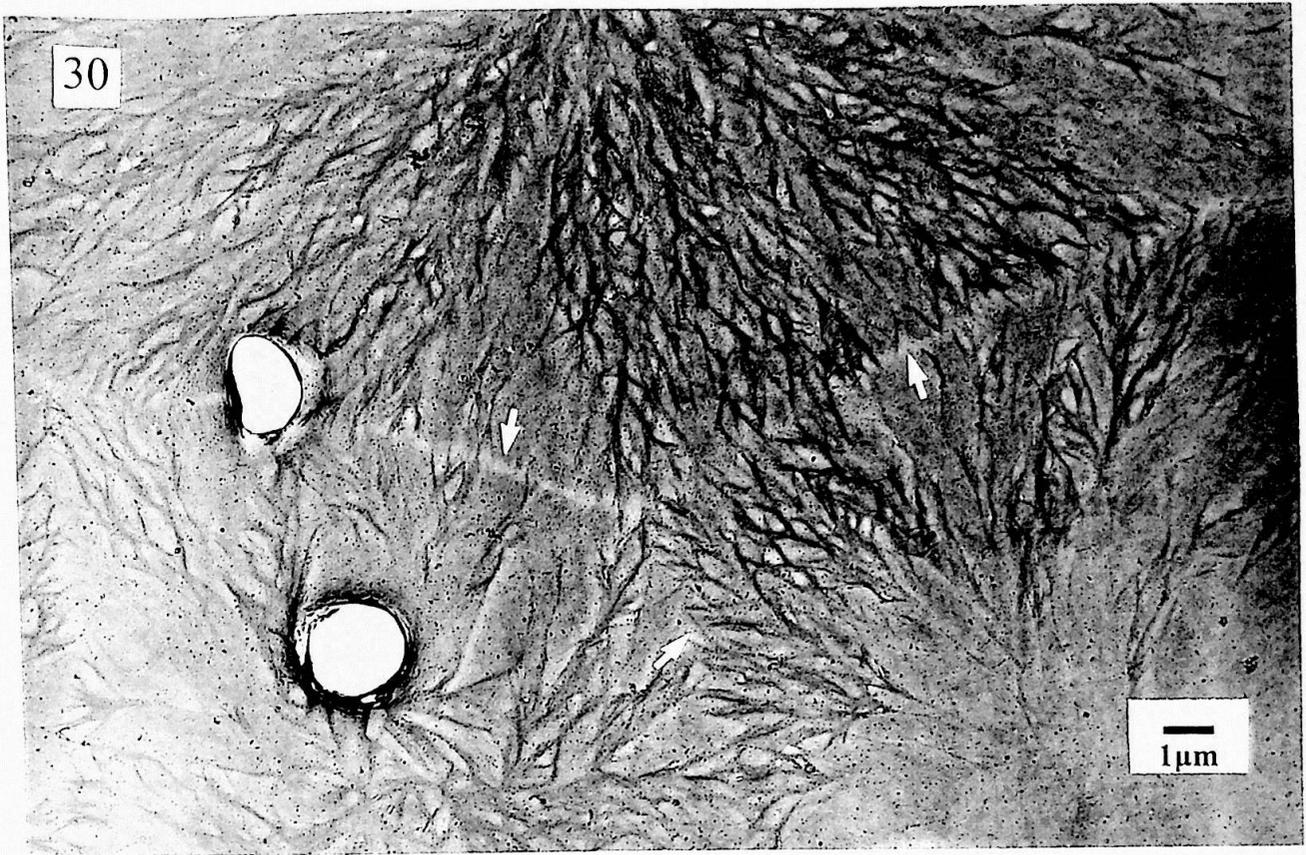
Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os filmes finos de CAPA® 6500C moldados sobre lâmina de vidro também apresentam esferulitos. Estes só foram evidenciados após contrastação com o vermelho de rutênio por 1h, conforme se vê na Figura 30. O rutênio possui uma maior afinidade pelas regiões cristalinas da amostra, tornando-as mais densas ao feixe eletrônico (regiões mais escuras). Podemos notar que os esferulitos são separados por regiões amorfas (regiões mais transparentes) e que seus limites são angulosos (Figuras 30 e 31) equivalente às imagens observadas por MEV.

Uma melhora no contraste é notada quando se prolonga o tratamento com o vermelho de rutênio por 4h. Com este procedimento é possível observar que as regiões cristalinas são compostas por fibrilas radiais bastante finas, às vezes ramificadas, intercaladas com regiões amorfas (de baixa densidade eletrônica) (Figura 32).

Figura 30 – Imagem de transmissão de um filme de PCL, com aproximadamente 200nm de espessura, ilustrando a confluência de três esferulitos, constituídos por fibrilas cristalinas radiais (regiões densas) e material amorfo (regiões transparentes). Note os limites quase lineares (indicados pelas setas) que separam os esferulitos. Coloração com vermelho de rutênio por 1h. MET operando com 160kV. Ampliação: 6600x.

Figura 31 – Filme de PCL tratado por 4h com vermelho de rutênio. Os vários esferulitos são separados por limites (indicados pelas setas) angulosos e quase lineares. MET operando com 120kV. Ampliação: 9100x.



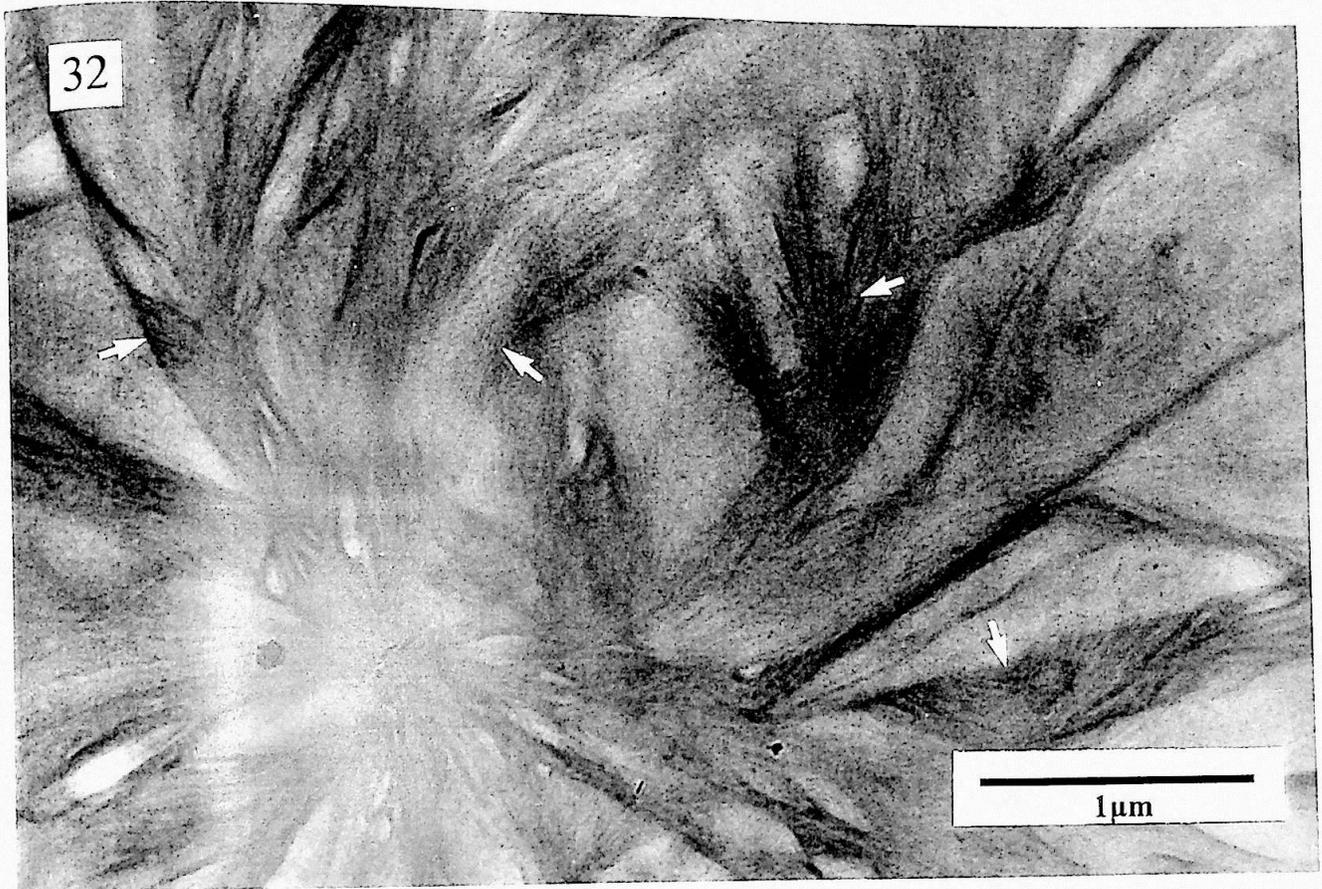


Figura 32 – Fibrilas do polímero bem evidenciadas (indicadas pelas setas) por coloração com vermelho de rutênio por 4h. MET operando com 120kV. Ampliação: 36000x.

4- DISCUSSÃO

No processo de biodegradação, as regiões amorfas do polímero são preferencialmente degradadas [Eldsäter *et al.*, 2000]. Formação de lacunas entre esferulitos, durante a cristalização de polímeros, pode levar a uma menor resistência mecânica do material [Magill, 2001]. Portanto, é importante conhecer a morfologia e estrutura do polímero para determinação e compreensão de suas propriedades, possibilitando a produção de compósitos com características adequadas às aplicações desejadas.

A metodologia empregada neste trabalho permitiu caracterizar a morfologia e a estrutura da PCL, sendo possível observar a estrutura dos esferulitos bem como verificar sua natureza cristalina.

As bandas observadas em 1739 e 1729 cm^{-1} no espectro de absorção no infravermelho podem estar relacionadas com a separação de bandas devido ao processo de cristalização do polímero. Coleman e Zarian [1979] associaram à PCL uma banda em 1724 cm^{-1} devida à fase cristalina do polímero e uma banda em 1737 cm^{-1} devida à fase amorfa.

O alto valor do índice de qualidade obtido no refinamento Rietveld efetuado neste trabalho indica um ajuste inadequado, podendo ser decorrente de dois motivos. O primeiro é um modelo inadequado para a conformação cristalina da PCL. Dados obtidos por difração eletrônica [Hu e Dorset, 1990] mostram uma melhor concordância com o modelo de conformação zigzague não planar proposto por Chatani *et al.* [1970], em relação ao modelo zigzague planar proposto por Bittiger *et al.* [1970]. Utilizando os dados experimentais de DRX de fibra obtidos por Chatani *et al.* [1970], Dorset [1997] aplicou um método de determinação de fase e refinamento Fourier para analisar a estrutura da PCL, corroborando a conformação não planar do polímero. Parece então que a hipótese de modelo incorreto é pouco provável.

O segundo motivo é que o ajuste aqui obtido pode corresponder a um falso mínimo, ou seja, não foi atingida a condição de mínimo global do refinamento [Young, 1996]. Isto pode ser decorrente de uma curva de DRX inadequada para fins de refinamento de estrutura. A presença de picos não associados à PCL sugere uma segunda fase cristalina, que seria própria da amostra, ou devida a uma contaminação da mesma na preparação dos ensaios, a qual pode estar contribuindo com reflexões em

ângulos muito próximos aos das reflexões da PCL. Devido à natureza tridimensional da difração, este efeito de superposição (“overlapping”) de reflexões pode ocorrer mesmo quando não há nenhuma outra fase presente, sendo prejudicial para a aplicação de procedimentos de refinamento de estrutura.

Apesar de o refinamento efetuado não apresentar uma condição satisfatória, não permitindo portanto fazer-se qualquer análise quantitativa por este método com os resultados obtidos, o valor de S é pequeno o suficiente para, juntamente com o espectro de absorção obtido no infravermelho, caracterizar a PCL na amostra estudada. É importante ressaltar que não foi encontrada até o momento nenhuma referência que tivesse aplicado o refinamento Rietveld ao estudo da estrutura da PCL.

O KOH quebra a ligação éster da PCL por uma reação de saponificação [Shabana, 2000], degradando o polímero. Quando as macromoléculas de um polímero adquirem a conformação necessária para a cristalização, estas se tornam mais resistentes a ataques químicos. Tal propriedade permite que no processo de erosão química, as regiões amorfas da PCL sejam degradadas mais rapidamente que as regiões cristalinas, provendo um método para se observar os esferulitos do material [Sawyer e Grubb, 1985; Shabana, 2000].

Observando fraturas de amostras *in natura* erodidas, vemos que a morfologia dos esferulitos difere daquela observada na interface polímero-ar, mostrando as lamelas ao longo de sua face plana. As lamelas apresentam um hábito de forma alongada, em concordância com resultados obtidos em estudos por microscopia de força atômica [Beekmans e Vancso, 2000]. Esta morfologia provavelmente é devida ao processamento do polímero para a produção dos grânulos. Notamos também muitas fendas entre os esferulitos, sugerindo que estes são separados por uma quantidade de material amorfo, possivelmente segregado no processo de cristalização.

As imagens obtidas com amostras cortadas e polidas indicam que estes processos ocasionaram uma certa deformação da estrutura dos esferulitos. De acordo com Goodhew [1974], este resultado indesejado pode ser evitado preparando-se a amostra a uma temperatura abaixo da T_g do polímero ($T_g = -60\text{ }^\circ\text{C}$). Não foram reconhecidos outros tipos de artefatos nessas superfícies examinadas por MEV.

O vermelho de rutênio ($[(\text{NH}_3)_5\text{Ru}-\text{O}-\text{Ru}(\text{NH}_3)_4-\text{O}-\text{Ru}(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_6$) é um complexo amino com átomos de oxigênio e rutênio e radical amônia, usado em microscopia óptica como corante, principalmente para destacar pectinas em plantas [Hayat, 1975]. Em microscopia eletrônica, é utilizado como corante de amostras

biológicas, possuindo afinidade com alguns polissacarídeos (como o ácido hialurônico e o ácido glutâmico) e lipídios de células [Lewis e Knigh, 1974]. Na literatura consultada, referente à microscopia eletrônica da PCL e outros poliésteres, encontramos apenas aplicações do tetróxido de rutênio (RuO_4) e do tetróxido de ósmio (OsO_4) [Huong *et al.*, 1993; Trent *et al.*, 1983].

O uso do vermelho de rutênio permitiu-nos demonstrar os esferulitos das amostras, destacando a fase cristalina do polímero, que se apresenta sob a forma de fibrilas. Esta morfologia também foi observada por microscopia de força atômica em filmes de PCL produzidos por “*spin-coating*”, que indicaram que estas fibrilas são constituídas por várias lamelas com dimensões na ordem de nanômetros [Kressler *et al.*, 1997]. O corante aqui empregado, também promoveu um aumento relativo da estabilidade do filme sob irradiação do feixe de elétrons que, como se sabe, é extremamente sensível.

Contudo, o contraste é ainda baixo e o vermelho de rutênio age também como uma fonte de contaminação, dificultando a observação da amostra em grandes ampliações. Estes problemas foram contornados quando aumentamos o tempo de impregnação no vermelho de rutênio, e lavamos em seguida a amostra por um número maior de vezes, sendo evidente a redução da contaminação. As amostras preparadas desta forma apresentam um contraste melhor, possibilitando obter imagens mais detalhadas das fibrilas.

Embora o aumento do tempo de impregnação no vermelho de rutênio melhore as condições de observação da amostra, dois fatores limitam o uso de grandes ampliações: 1) o contraste ainda é insuficiente para obter mais detalhes morfológicos das fibrilas; 2) a amostra ainda permanece muito sensível à irradiação do feixe.

Alguns polímeros necessitam de um pré-tratamento antes de se proceder à impregnação com um “corante eletrônico”. Os poliésteres, por exemplo, devem ser previamente tratados com hidrazina ou alil-amina para depois serem impregnados com OsO_4 [Sawyer e Grubb, 1985]. Estes polímeros podem ser impregnados com (RuO_4) com ou sem um tratamento anterior [Huong *et al.*, 1993]. A simplicidade do uso de vermelho de rutênio mostra que, se imagens de alta resolução não são necessárias, este composto pode ser usado para contrastação da PCL. Sugere-se a aplicação desta substância em outros polímeros, avaliando-se sua capacidade de impregnação, com o propósito de se desenvolver um método alternativo e simples para o estudo de blendas e copolímeros por microscopia eletrônica de transmissão.

A presença de limites angulosos, quase lineares, entre esferulitos adjacentes, como os que aparecem nas imagens tanto de varredura quanto de transmissão, indica que a nucleação e o crescimento destes ocorreu ao mesmo tempo [Sperling, 2001].

De um modo geral, os esferulitos observados na PCL possuem uma dimensão da ordem de 30-50 μm , apresentando fibrilas que são constituídas por cristais lamelares com dimensões nanométricas [Kressler *et al.*, 1997], conforme representado na Figura 33.

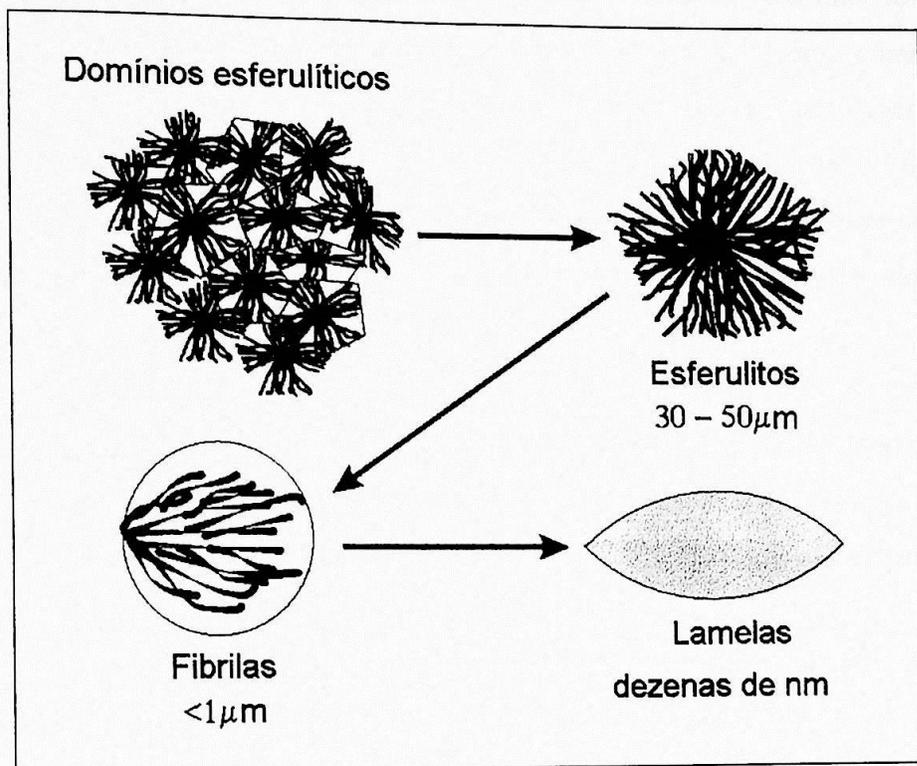


Figura 33 – Esquema estrutural dos esferulitos observados na PCL, indicando as dimensões aproximadas de cada estrutura

5- CONCLUSÕES

Os dados de difração de raios X e de espectroscopia no infravermelho permitiram uma caracterização qualitativa da policaprolactona que estudamos. Estes dados também mostram que haveria outros componentes presentes, cuja origem não foi determinada neste trabalho. O refinamento Rietveld é um método potencial para estudo de estruturas cristalinas, sendo a sua correta aplicação importante para futuros trabalhos quantitativos.

Empregando o KOH como agente de erosão, conseguimos observar a morfologia dos esferulitos que compõem a amostra estudada por MEV, corroborando a característica lamelar destas estruturas quando o polímero é cristalizado a partir do estado fundido. A metodologia de corte e abrasão empregada para a preparação das amostras provocou deformações nas mesmas, mostrando-se inadequada para o seu estudo.

As observações realizadas no MET confirmam o carácter fibrilar dos esferulitos em filmes finos, produzidos a partir de soluções do polímero em clorofórmio. Tais observações foram possíveis com a utilização do vermelho de rutênio como “corante eletrônico” para a PCL; este tratamento conferiu maior contraste às imagens, mesmo usando tensão de aceleração de 120 ou 160kV. Verificamos também que o filme assim impregnado se torna mais resistente à erosão durante a irradiação do feixe de elétrons. Não foi reportada, até o momento, a utilização desta substância como “corante eletrônico” para este ou outros polímeros sintéticos.

A impregnação com vermelho de rutênio mostrou ser um método simples para observação da morfologia da PCL por MET, quando não se faz necessária alta resolução. Estudos podem ser realizados aplicando-se este método a outros polímeros, com o objetivo de verificar a sua utilização como uma metodologia alternativa para pesquisa de blendas e copolímeros de PCL.

6- REFERÊNCIAS

1. ALBOUFARAJ, M.; Ulrich, B.; Dahoun, A.; G'Sell, C., 1993 – Spherulitic morphology of isotactic polypropylene investigated by scanning electron microscopy, *Polymer* **34**(23): 4817-4825
2. BASSET, D.C.; Olley, R.H; Al Raheil, I.A.M., 1988 – On isolated lamellae of melt-crystallized polyethylene, *Polymer* **29**(9): 1539-1543
3. BEEKMANS, L.G.M.; Vancso, G.J, 2000 – Real-time crystallization study of poly(ϵ -caprolactone) by hot-stage atomic force microscopy, *Polymer* **41**(25): 8975-8981
4. BILLMAYER, F.W., 1971 – Textbook of Polymer Science, 2a. Edição, Wiley & Sons, New York
5. BITTIGER, H.; Marchessault, R.H., 1970 – Crystal structure of poly(ϵ -caprolactone), *Acta Crystallographica B* **26**: 1923-1927
6. BOWER, D.I., 2002 – An Introduction to Polymer Physics, 1a. Edição, Cambridge University Press, Cambridge
7. BRÜCKNER, S., 2000 – Pulwin: a program for analyzing powder X-ray diffraction patterns, *Powder Diffraction* **15**(4): 218-219
8. BRÜCKNER, S.; Immirzi, A., 1997 – Debin: a program for Rietveld refinement with generalized coordinate subjected to geometrical restraints, *Journal of Applied Crystallography* **30**: 207-208
9. CHATANI, Y.; Okita, Y.; Takadoro, H.; Yamashita, Y., 1970 – Structural studies of polyesters. III-Crystal structure of poly(ϵ -caprolactone), *Polymer Journal* **1**(5): 555-562
10. CHEN, D.R.; Bei, J.Z.; Wang, S.G., 2000 – Polycaprolactone microparticles and their biodegradation, *Polymer Degradation and Stability* **67**: 455-459
11. COLEMAN, M.M.; Zarian, J., 1979 – Fourier-Transform infrared studies of polymer blends. II- Poly(ϵ -caprolactone)-poly(vinyl chloride) system, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics* **17**:837-850
12. DORSET, D.L., 1997 – Direct determination of polymer crystal structures from fibre and powder X-ray data, *Polymer* **38**(2): 247-253
13. ELDSÄTER, C.; Erlandsson, B.; Renstad, R.; Albertsson, A.-C.; Karlsson, S., 2000 – The biodegradation of amorphous and crystalline regions in film-blown poly(ϵ -caprolactone), *Polymer* **41**(4): 1297-1304

14. GOODHEW, P.J., 1974 – Specimen Preparation in Materials Science *em*: Glauert, A.M., ed. – Practical Methods in Electron Microscopy, Vol. 1, parte 1, 2a. Edição, North-Holland, Amsterdam
15. HAYAT, M.A., 1975 – Positive Staining for Electron Microscopy, 1a. Edição, Van Nostrand Reinhold Company, New York
16. HAYAT, M.A., 1977 – Principles and Techniques of Electron Microscopy, Biological Applications, Vol. 7, 1a. Edição, Van Nostrand Reinhold Company, New York
17. HU, H.; Dorset, D.L., 1990 – Crystal structure of poly(ϵ -caprolactone), *Macromolecules* **23**: 4604-4607
18. HUMMEL, D.O., 1991 – Atlas of Polymer and Plastics Analysis, Vol. 1 Part A Band 1, 3a. Edição
19. HUONG, D.M.; Drechsler, M.; Cantow, H.-J.; Möller, M., 1993 – Novel staining method for transmission electron microscopy investigations of semicrystalline polyesters, *Macromolecules* **26**: 864-866
20. KAY, D.M.; Cosslet, V.S., 1965 – Techniques for Electron Microscopy, 2a. Edição, Blackwell Sci. Pub.
21. KHOR, K.L.; Ng, K.W.; Schantz, J.T.; Phan, T.-T.; Lim, T.C.; Teoh, S.H.; Hutmacher, D.W., 2002 - Poly(ϵ -caprolactone) films as potential substrate for tissue engineering an epidermal equivalent, *Materials Science and Engineering C* **20**: 71-75
22. KRESSLER, J.; Wang, C.; Kammer, H.W., 1997 – Structure formation in thin poly(ϵ -caprolactone) films, *Langmuir* **13**: 4407-4412
23. LEWIS, P.R.; Knight, D.P.; 1974 – Staining Methods For Sectioned Material *em*: Glauert, A.M., ed. – Practical Methods in Electron Microscopy, Vol. 5, parte 1, 6a. Edição, North-Holland, Amsterdam
24. LI, B.; Yu, J.; Jung, J.; Ree, M., 1999 – Amidolysis of some biodegradable polymers, *Polymer Degradation and Stability* **65**: 161-163
25. LI, J.X.; Cheung, W.L., 1999 – RuO₄ staining and lamellar structure of α - and β -PP, *Journal of Applied Polymer Science* **72**: 1529-1538
26. LI, J.X.; Ness, J.N.; Cheung, W.L., 1996 – Lamellar structure of POM spherulites imaged by two-stage RuO₄ staining technique, *Journal of Applied Polymer Science* **59**: 1733-1740

27. LI, Z.; Ma, D.; Cheng, X.; Luo, X.; Zhang, G., 2001 – Crystallization behavior and spherulite morphology of hard soft segments in butilene terephthalate- ϵ -caprolactone copolyesters, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics* **39**:634-644
28. LIU, L.; Li, S.; Garreau, H.; Vert, M., 2000 – Selective enzymatic degradations of poly(L-lactide) and poly(ϵ -caprolactone) blend films, *Biomacromolecules* **1**: 350-359
29. MAGILL, J.H., 2001 – Review spherulites: a personal perspective, *Journal of Materials Science* **36**: 3143-3164
30. MANO, E.B.; Mendes, L.C., 1999 – Introdução a Polímeros, 2a. Edição, Ed. Edgar Blücher, São Paulo.
31. MARK, J.E., 1999 – Polymer Data Handbook (versão online), www.oup-usa.org/pdh, Oxford University Press Inc.
32. MECERREYES, D.; Stevens, R.; Nguyen, C.; Pomposo, J.A.; Bengoetxea, M.; Grande, H., 2002 – Synthesis and characterization of polypyrrole-graft-poly(ϵ -caprolactone) copolymers: new electrically conductive nanocomposites, *Synthetic Metals* **126**: 173-178
33. NOJIMA, S.; Hashizume, K.; Rohadi, A. ; Sasaki, S., 1997 – Crystallization of ϵ -caprolactone blocks within a crosslinked microdomain structure of poly(ϵ -caprolactone)-block-polybutadieno, *Polymer* **38**(11): 2711-2718
34. REIMER, L., 1975 – Review of the radiation damage problem of organic specimens in electron microscopy *em*: Siegel, B.M.; Beaman, D.R.; ed. – Physical Aspects of Electron Microscopy and Microbeam analysis, Wiley, New York
35. RIZZI, S.C.; Heath, D.T.; Coombes, A.G.A.; Bock, N.; Textor, M.; Downes, S., 2001 – Biodegradable polymer/hydroxyapatite composites: surface analysis and initial attachment of human osteoblasts, *Journal of Biomedical Materials Research* **55**(4): 475-486
36. SAWYER, L.C.; Grubb, D.T., 1987 – Polymer Microscopy, 1a. Edição, Chapman & Hall, New York
37. SCHEIRS, J.; Bigger, S.W.; Delatycki, O., 1991 – Structural morphology and compaction of nascent high-density polyethylene produced by supported catalysts, *Journal of Materials Science* **26**: 3171-3179

38. SHABANA, H.M.; Olley, R.H.; Bassett, D.C.; Jungnickel, B.-J., 2000 – Phase separation induced by crystallization in blends of polycaprolactone and polystyrene: an investigation by etching and electron microscopy, *Polymer* **41**(14): 5513-5523
39. SPERLING, L.H., 2001 – Introduction to Physical Polymer Science, 3a. Edição, Wiley & Sons, New York
40. TODA, A., 1992 – Growth of polyethylene single crystals from the melt: change in lateral habit and regime I-II transition, *Colloid & Polymer Science* **270**: 667-681
41. TRENT, J.S.; Scheinbeim, J.I.; Couchman, P.R., 1983 – Ruthenium tetroxide staining of polymer for electron microscopy, *Macromolecules* **16**: 589-598
42. TSUBOKAWA, N.; Tsuchida, M.; Chen, J.; Nakazawa, Y., 2001 – A novel contamination sensor in solution: the response of the electric resistance of a composite based on crystalline polymer-grafted carbon black, *Sensor and Actuators B* **79**: 92-97
43. TSUJI, M.; Fujita, M.; Shimizu, T.; Kohjiya, S., 2001 – Fine structures of curved edge-on lamellae in crystalline thin films of isotactic polystyrene as revealed by transmission electron microscopy, *Macromolecules* **34**: 4827-4833
44. VESELY, D., 1977 – The electron beam damage of synthetic polymers *em*: Misell, D.L.; ed. – Developments in Electron Microscopy and Analysis, Conference Series 36, Institute of Physics, Bristol
45. WUNDERLICH, B., 1973 – Macromolecular Physics, Vol. 1, 1a. Edição, Academic Press, New York
46. YE, W.P.; Du, F.S.; Jin, W.H.; Yang, J.Y.; Xu, Y., 1997 – In vitro degradation of polycaprolactone, polylactide and their block copolymers: influence of composition, temperature and morphology, *Reactive and Functional Polymers* **32**: 161-168
47. YOSHIMOTO, H.; Shin, Y.M.; Terai, H.; Vacanti, J.P., 2003 – A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering, *Biomaterials* **24**: 2077-2082
48. YOUNG, R.A., 1996 – The Rietveld Method, 1 a. Edição, Oxford University Press, New York