



Patrícia Alexandra Alves de Jesus

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

**Desenvolvimento de um novo fio de
sutura à base de poliuretanos e
quitosano**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Professor Doutor João Paulo Borges, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Adelaide de Almeida Pedro de Jesus
Arguente: Prof. Doutora Célia Maria Reis Henriques
Vogais: Prof. Doutor João Paulo Miranda Ribeiro Borges



Patrícia Alexandra Alves de Jesus

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

**Desenvolvimento de um novo fio de
sutura à base de poliuretanos e
quitosano**

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para obtenção de Grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Professor Doutor João Paulo Borges, FCT/UNL



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Dezembro 2012

Copyright

Desenvolvimento de um novo fio de sutura à base de poliuretanos e quitosano

Copyright© 2012 - Todos os direitos reservados. Patrícia Alexandra Alves de Jesus.
Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*You can't always get what you want
But if you try sometimes, you just might find
You get what you need.*

The Rolling Stones

Agradecimentos

Em qualquer projecto de investigação científica são necessários a colaboração e apoio de outros, como em quase tudo na vida.

Gostaria de agradecer ao meu orientador, o Professor João Paulo Borges, pela oportunidade de realizar este projecto e pela disponibilidade e paciência demonstradas.

Agradeço, também, ao Grupo dos Materiais Poliméricos e Mesomorfos, por toda ajuda e atenção. Em especial, à Ana Baptista, por todo o tempo dispensado e pelo seu apoio, e ao João, pela sua ajuda e partilha de conhecimentos.

A todos os meus amigos, cujos nomes não precisam de ser mencionados, por terem estado sempre presentes, ajudando-me de forma directa ou indirecta, ao longo do meu percurso.

Por último, à minha família, os presentes e os ausentes, e em particularmente aos meus pais e irmão, que tiveram um papel fundamental na minha vida, agradeço por todo o seu amor.

Resumo

Os materiais de sutura desempenham um papel importante na recuperação de ferimentos, fornecendo suporte para a cicatrização dos tecidos. As propriedades físico-químicas e biológicas do material, a avaliação da ferida, a taxa de recuperação dos diferentes tecidos e a condição física do paciente devem ser tidos em conta aquando da selecção da sutura. Assim, existe uma necessidade de desenvolvimento de novos materiais, capazes de responder às diferentes situações.

O presente trabalho tem como objectivo o desenvolvimento de um novo fio de sutura à base de poliuretanos e de quitosano, combinando as vantagens oferecidas pelas propriedades físicas e biológicas dos dois polímeros.

Para o desenvolvimento das suturas foi produzido quitosano de baixo peso molecular através da despolimerização com peróxido de hidrogénio. O quitosano obtido foi caracterizado por ATR-FTIR e GPC, revelando que não sofreu modificações químicas e que o peso molecular foi reduzido com sucesso.

O CS resultante foi utilizado na síntese de um poliuretano à base de quitosano. O produto da reacção foi analisado por ATR-FTIR e ^1H -RMN. Os espectros comprovaram que o quitosano se encontrava ligado quimicamente na cadeia do poliuretano e que o material era o desejado.

Posteriormente, os parâmetros de electrofiação foram estudados, para determinar as condições adequadas para a formação das fibras com as propriedades morfológicas e diâmetros adequados. As membranas produzidas foram caracterizadas morfológicamente, por SEM, e foram avaliadas as suas propriedades mecânicas através de ensaios de tracção. As fibras possuíam diâmetros na ordem dos 0,600 μm e um módulo de Young de 15,20 MPa.

Palavras-chave: suturas; electrofiação; quitosano; poliuretanos.

Abstract

Suture materials play an important role in wound repair by providing support for healing tissues. The physical and biological properties of the material, assessment of the wound, the healing rate of different tissues, and the patient's physical condition should be taken into account when selecting a suture material. Therefore, a need exists for the development of new materials, capable of responding to different situations.

The present work aims to develop a novel polyurethane and chitosan based suture material, combining the advantages of the physical and biological properties of the two polymers.

For the development of these sutures, chitosan (CS) of low molecular weight was produced via depolymerization with hydrogen peroxide. The chitosan obtained was characterized by ATR-FTIR and GPC, revealing that chemical modification did not occur and that the molecular weight was reduced successfully.

The CS produced was used in the synthesis of a chitosan-based polyurethane. The reaction product was analyzed by ATR-FTIR and $^1\text{H-NMR}$. The spectra proved that chitosan was chemically bound in the polyurethane backbone and that the resulting material was as expected.

Afterwards, electrospinning parameters were evaluated to determine the suitable conditions for the formation of fibers with adequate diameters and morphological properties. The produced membranes were morphologically characterized by SEM and their mechanical properties were assessed by tensile tests. The fibers' diameters were around $0.600\ \mu\text{m}$ and a Young's modulus of $15.20\ \text{MPa}$.

Keywords: sutures; electrospinning; chitosan; polyurethanes.

Lista de Acrónimos e de Símbolos

ATR-FTIR	<i>Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy</i>
B_e	Número de Berry
C	Concentração
CS	Quitosano
d	Distância
d_{el}	Distância entre os eléctrodos
DMF	N,N-Dimetilformamida
DMPA	Ácido dimetilol propiónico
DMSO	Dimetilsulfóxido
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>
GD	Grau de desacetilação
GPC	<i>Gel permeation chromatography</i>
IPDI	Diisocianato de isoforona
LMWCS	<i>Low molecular weight chitosan</i>
m/v	Percentagem em massa
M_n	<i>Number Average Molecular Weight</i>
MW	<i>Molecular weight</i>
NaHSO_3	Bissulfito de sódio
NMP	N-metilpirrolidona
PCL	Poli(ϵ -caprolactona)
PGA	Ácido poliglicólico
PLA	Ácido poliláctico
PTMC	Poli(trimetileno carbonato)
PU	Poliuretano
r	Caudal
R^2	Factor de correlação das variáveis x e y
RMN	Ressonância magnética nuclear
SEM	<i>Scanning electron microscopy</i>
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano
V	Tensão
v/v	Percentagem em volume
$[\eta]$	Viscosidade intrínseca
ϵ	Deformação

η	Viscosidade
η_{rel}	Viscosidade relativa
η_{sp}	Viscosidade relativa
σ	Tensão

Índice

Agradecimentos	i
Resumo.....	iii
Abstract	v
Lista de Acrónimos e de Símbolos.....	vii
Índice.....	ix
Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas.....	xiii
Objectivos e Enquadramento.....	xv
Capítulo 1: Introdução.....	1
1.1. Suturas.....	3
1.1.1. Características dos materiais de sutura	3
1.1.2. Tipos de suturas	4
1.1.3. A evolução até ao presente.....	5
1.2. Electrofiação.....	7
1.2.1. Técnica de electrofiação.....	8
1.2.2. Efeitos dos vários parâmetros na electrofiação.....	10
1.2.3. Polímeros e solventes utilizados	10
1.3. Polímeros.....	11
1.3.1. Quitosano	11
1.3.2. Poliuretanos	13
Capítulo 2: Técnicas e Procedimentos	17
2.1. Despolimerização do quitosano com peróxido de hidrogénio	19
2.2. Síntese do poliuretano à base de quitosano.....	20
2.3. Caracterização química	23
2.3.1. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	23
2.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	24
2.3.3. Cromatografia de permeação em gel.....	24
2.4. Caracterização de soluções	25
2.4.1. Determinação da viscosidade intrínseca.....	25
2.4.2. Avaliação da viscosidade.....	26

2.5.	Produção e caracterização de membranas	27
2.5.1.	Electrofiação.....	27
2.5.2.	Microscopia electrónica de varrimento	28
2.5.3.	Ensaio de tracção.....	29
Capítulo 3: Resultados e Discussão		31
3.1.	Caracterização química	33
3.1.1.	Caracterização do quitosano	33
3.1.2.	Caracterização do poliuretano	34
3.2.	Caracterização de soluções	37
3.2.1.	Determinação da viscosidade intrínseca.....	37
3.2.2.	Avaliação da viscosidade	38
3.3.	Produção e caracterização de membranas	39
3.3.1.	Estudo dos parâmetros do processo de electrofiação	39
3.3.2.	Caracterização das propriedades mecânicas das membranas	47
Capítulo 4: Conclusões e Perspectivas Futuras		49
4.1.	Conclusões.....	51
4.2.	Perspectivas Futuras	52
Referências.....		53

Índice de Figuras

Figura 1.1: Representação esquemática das montagens típicas na técnica de electrofiação.....	8
Figura 1.2: Esquema ilustrativo do posicionamento dos eléctrodos paralelos (adaptada de [33]).	9
Figura 1.3: Estrutura química da celulose (adaptada de [40]).	11
Figura 1.4: Estrutura química do copolímero da quitina e do quitosano (retirada de [41]).	11
Figura 1.5: Ligação uretano (retirada de [70]).	14
Figura 1.6: Estrutura dos domínios rígidos e flexíveis dos PUs (adaptada de [75]).	15
Figura 2.1: Esquema da síntese do poliuretano (adaptada de [87]).	22
Figura 2.2: Montagem experimental para a síntese do PU, onde: 1) ampola de adição com equalizador de pressão; 2) termómetro; 3) banho de óleo; 4) placa de agitação e de aquecimento; 5) condensador; 6) agitador mecânico; 7) mangueira que permite a entrada de azoto; 8) reactor com quatro tubuladuras.	22
Figura 2.3: Curva de tensão para um material polimérico.	29
Figura 3.1: Espectros de ATR-FTIR do CS antes e depois da despolimerização com H ₂ O ₂ .	33
Figura 3.2: Estrutura química do PU à base de CS (retirada de [87]).	34
Figura 3.3: Espectros de ATR-FTIR do PCL, CS e PU à base de CS.	35
Figura 3.4: Espectro de ¹ H-NMR do PU à base de CS.	35
Figura 3.5: Representação gráfica de $\ln(\eta_{rel})/C$ e η_{sp}/C em função de C .	38
Figura 3.6: Gráfico da viscosidade em função da tensão de corte, para soluções com concentrações de 20, 25, 30, 35, 40 e 45% (m/v).	39
Figura 3.7: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 10\%$ (m/v), $V = 15$ kV, $d = 10$ cm e $r = 0,05$ mL h ⁻¹ .	40
Figura 3.8: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 20\%$ (m/v), $V = 15$ kV, $d = 15$ cm e $r = 0,10$ mL h ⁻¹ .	41
Figura 3.9: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 30\%$ (m/v), $V = 10$ kV, $d = 10$ cm e $r = 0,05$ mL h ⁻¹ .	41

Figura 3.10: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV, $d = 20$ cm e $r = 0,15$ mL h ⁻¹	42
Figura 3.11: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, cartão como substrato, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV, $d = 20$ cm e $r = 0,15$ mL h ⁻¹	43
Figura 3.12: Colector de eléctrodos paralelos.	44
Figura 3.13: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $del = 1$ cm, $d = 15$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h ⁻¹ , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.....	45
Figura 3.14: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $del = 1$ cm, $d = 20$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h ⁻¹ , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.....	45
Figura 3.15: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $del = 2$ cm, $d = 15$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h ⁻¹ , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.....	45
Figura 3.16: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $del = 2$ cm, $d = 20$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h ⁻¹ , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.....	46
Figura 3.17: Curva de tracção de uma membrana de poliuretano à base de quitosano.....	47

Índice de Tabelas

Tabela 1.1: Classificação dos fios de sutura.	4
Tabela 2.1: Materiais utilizados na reacção de síntese do PU, com os respectivos fabricantes e especificações.	21
Tabela 2.2: Equipamento, com o respectivo fabricante, usado na montagem para o processo de electrofiação.....	27
Tabela 3.1: Análise dos espectros de +ATR-FTIR do CS antes e após a despolimerização com H ₂ O ₂	34
Tabela 3.2: Análise do espectro de ATR-FTIR do PU à base de CS.	36
Tabela 3.3: Análise do espectro de ¹ H-NMR do PU à base de CS.	36
Tabela 3.4: Valores dos tempos médios de escoamento, a uma temperatura de 30,0±0,1°C, e respectivos valores de viscosidade relativa e específica.	37
Tabela 3.5: Diagrama dos ensaios realizados para o estudo da influência dos parâmetros no processo de electrofiação, utilizando um colector estático e concentrações de 10, 15, 20, 25, 30 e 35% (<i>m/v</i>).....	40
Tabela 3.6: Diagrama dos ensaios realizados para o estudo da influência dos parâmetros no processo de electrofiação utilizando um colector de estático e concentrações de 35, 40 e 45% (<i>m/v</i>).....	42
Tabela 3.7: Números de Berry para as respectivas concentrações e a morfologia das fibras correspondentes.	43
Tabela 3.8: Diagrama dos ensaios realizados para o estudo da influência dos parâmetros no processo de electrofiação utilizando um colector de eléctrodos paralelos.	44
Tabela 3.9: Diâmetros médios e desvios padrões das fibras produzidas por electrofiação utilizando um colector de eléctrodos paralelos.....	46

Objectivos e Enquadramento

Conforme o tipo de ferida ou incisão que necessita de ser suturada, o tipo de tecido em causa, a técnica de sutura a realizar, características do paciente (idade, infecção, estado inflamatório), determinados tipos de sutura com diferentes características (número de fibras, força e elasticidade, absorvibilidade e velocidade de degradação) serão seleccionados. Assim, existe uma necessidade de desenvolvimento de novos materiais para sutura, capazes de responder às diferentes situações.

Um fio de sutura deve ser biocompatível, atravessar os tecidos sem causar trauma, não ter propriedades de capilaridade e manter as suas propriedades após esterilização e durante o armazenamento.

O fio de sutura deverá ainda possuir uma taxa de degradação ajustada à taxa de recuperação do tecido na zona da ferida ou incisão e responder aos requisitos mecânicos, como elasticidade e força, inerentes aos materiais usados em sutura.

O presente projecto tem por objectivo o desenvolvimento de um novo fio de sutura à base de poliuretanos e de quitosano, combinando as vantagens oferecidas pelas propriedades físicas e biológicas dos dois polímeros.

O trabalho apresentado é resultado de investigação no Departamento de Ciência dos Materiais da FCT/UNL e encontra-se estruturado em quatro capítulos. No Capítulo 1, é feita uma introdução geral de modo a fornecer os fundamentos necessários para uma melhor compreensão do tema. No Capítulo 2, encontra-se uma breve descrição sobre as técnicas utilizadas, bem como os procedimentos experimentais seguidos. No Capítulo 3, apresentam-se e discutem-se os principais resultados obtidos. Por fim, no Capítulo 4, são referidas as conclusões mais importantes e algumas das perspectivas futuras.

Capítulo 1

Introdução

Introdução

Neste primeiro capítulo é feita uma introdução geral ao tema, abordando os conceitos-base necessários para uma melhor compreensão do presente trabalho.

1.1. Suturas

Uma sutura é um dispositivo médico, formado por um biomaterial natural e/ou sintético, usado para ligar vasos sanguíneos e juntar tecidos. Logo, a sua função principal é aproximar e segurar tecidos que sofreram uma separação por cirurgia ou trauma. Os objectivos do fechamento da ferida incluem a supressão de espaço morto, através de uma junção firme e hermética, a distribuição uniforme da tensão ao longo das linhas de sutura, a capacidade de manter a sua resistência à tracção até que a do tecido seja adequada, e aproximação da porção epitelial da oclusão [1], [2].

Apesar de existirem outros métodos para a oclusão mecânica de ferimentos, tais como agrafos, fita e adesivos, as suturas são, largamente, o mais usado [1].

1.1.1. Características dos materiais de sutura

A sutura ideal deveria possuir as seguintes características [3–5]:

- ✓ Ser de fácil manuseamento;
- ✓ Provocar uma reacção mínima dos tecidos;
- ✓ Possuir uma resistência à tracção adequada;
- ✓ Fácil de esterilizar;
- ✓ Não provocar reacções alérgicas;
- ✓ Capaz de produzir nós seguros;
- ✓ Não-electrolítica;
- ✓ Anticarcinogénica;
- ✓ Antibacteriana;
- ✓ Económica.

Assim, uma sutura deverá ser bastante forte, mas também capaz de se dissolver nos fluidos corporais, e deverá perder a sua força à mesma velocidade a que o tecido recupera. Não deve causar ou promover complicações, ou seja, tem de ser capaz fornecer uma oclusão dos tecidos feridos da forma mais segura possível, durante o período de tempo adequado, e produzir o mínimo de respostas adversas durante o processo de recuperação. A sutura deverá, também, ser capaz de se alongar para acomodar possíveis edemas [1], [6]. Factores adicionais como a presença de infecção, as características do tecido, a localização do ferimento, a tensão

nos bordos da ferida, idade, condição clínica do paciente, custos, etc., deverão também ser tidos em conta e são avaliados por Bennett [7].

Como é óbvio, não há uma sutura universal capaz de preencher todos estes requisitos. O cirurgião deverá escolher a sutura adequada de acordo com a situação, uma vez que diferentes tecidos têm diferentes necessidades de suporte, e tendo em conta a condição clínica do paciente [1], [2], [6].

Tendo várias escolhas, o cirurgião pode seleccionar o material de sutura baseando-se na sua disponibilidade e familiaridade, no entanto, há características essenciais a todas as suturas que incluem: esterilização; diâmetro e forma uniformes; maleabilidade, de forma a ser fácil de manusear e a produzir nós seguros; baixa variabilidade (ou ausência) nas propriedades mecânicas e não pode conter contaminantes que promovam uma resposta do tecido [1].

É essencial uma técnica de sutura apropriada para obter um bom resultado cosmético e para evitar cicatrizes ou uma má recuperação do tecido [1], [6].

1.1.2. Tipos de suturas

As suturas podem ser classificadas de acordo com o tipo de material, o tempo de vida do material no corpo e com a sua forma de fabrico [3], como apresentado na tabela 1.1.

Tabela 1.1: Classificação dos fios de sutura.

Tipo de material	Tempo de vida do material no corpo	Forma de fabrico
Natural	Absorvíveis	Monofilamentos
Sintético	Não-absorvíveis	Multifilamentos (torcidos ou entrançados)

As suturas absorvíveis decompõem-se por hidrólise, degradando-se em produtos que são utilizados ou excretados pelo corpo, ou através de acção enzimática. Por vezes, determinadas enzimas afectam a taxa de degradação de polímeros hidrolisáveis e, por esta razão, não se podem separar os processos, sendo mais rigoroso distinguir o processo dominante [2]. As suturas não-absorvíveis só podem ser removidas manualmente.

A diferença entre os mono e multifilamentos, como o nome indica, consiste no uso de um ou mais filamentos no fabrico do fio de sutura.

As vantagens dos monofilamentos residem na sua superfície lisa, que desliza bem através dos tecidos, e no facto de não possuírem capilaridade, reduzindo o risco de infecção.

Os seus inconvenientes consistem na segurança do nó reduzida, na dificuldade no seu manuseamento e no efeito de memória.

As suturas compostas por multifilamentos, que podem encontrar-se torcidos ou entrançados, são mais fáceis de manipular e fornecem maior segurança dos nós, mas a sua superfície irregular prejudica a passagem através dos tecidos, tendendo a arrastá-los, e possuem capilaridade elevada, o que provoca infecções, permitindo às bactérias a colonização dos espaços interiores da sutura [2], [3].

Para eliminar os problemas dos mono e multifilamentos, e tentando juntar as vantagens de ambos, têm sido desenvolvidos pseudofilamentos, i.e., suturas constituídas por multifilamentos revestidas. Com o revestimento ideal, a acção de capilaridade deixa de existir, a sutura passa pelos tecidos sem causar danos, e a segurança do nó aumenta sem diminuir a biocompatibilidade, a força e as propriedades de manuseamento [2].

A caracterização dos materiais de sutura é feita através de diversos métodos que envolvem as propriedades físicas e mecânicas, as características de manuseamento e o seu comportamento biológico e de biodegradação. É sempre necessária a especificação relativa ao tamanho do material, bem como se é mono ou multifilamentos, etc. [1].

Actualmente, existem dois *standards* para descrever o tamanho do material de sutura: *United States Pharmacopeia* (USP) e *European Pharmacopoeia* (EP) [4].

1.1.3. A evolução até ao presente

As suturas são os materiais mais utilizados na oclusão de ferimentos e são usadas há vários séculos. Os médicos utilizam a técnica de suturação há pelo menos 4000 anos. Registos arqueológicos do Antigo Egipto e da Índia mostram o uso de linho, tendões de animais, cabelo, algodão, seda, cerdas de porcos e intestinos de animais para fechar feridas.

A primeira descrição detalhada de um processo de sutura e do material utilizado foi feita por Sushruta, em 500 a.C.. Sushruta utilizou materiais de sutura como cascas de árvores, cabelos, tendões e seda. O médico Claudius Galen (131–211 d.C.), da Grécia Antiga, foi o primeiro a descrever o uso de intestino animal como material de sutura [1].

O primeiro passo em direcção à esterilização de suturas feitas de intestino animal (*catgut*, em inglês) foi dado por Joseph Lister, em 1867, com a tentativa de tornar o material estéril com ácido carbólico (fenol). Mais tarde, para diminuir a taxa de absorção das suturas que era demasiado elevada, Lister juntou ácido crómico à sua fórmula, criando o *chromic catgut*. Apesar da utilização de ácido crómico ter sido adoptada por muitos produtores de suturas de intestino animal, o problema da esterilização ainda não estava resolvido e vários outros métodos foram tentados e descartados. Em 1902, Marius Claudius recomendou, pela primeira vez, o tratamento do intestino com iodo. Embora o método tenha sucedido na impregnação de um anti-séptico, não era claro se o fio estaria completamente permeado pelo iodo. Este método teve grande aceitação e rapidamente se tornou bastante popular, sendo adoptado como norma, juntamente com a técnica de ácido crómico, no fabrico de suturas de

intestino animal. O processo de esterilização só foi totalmente conseguido em 1907, por Franz Kuhn, cujas inovações chave eram a desinfecção dos intestinos antes da torção e os cuidados tomados para prevenir a contaminação durante o armazenamento. Como meio de desinfecção, Kuhn usava iodo [8].

Até 1930s, as suturas dominantes eram as de seda e de intestino animal [1], [4]. Devido às reacções adversas provocadas, resistência mecânica relativamente baixa (especialmente após hidratação) e capilaridade, foi estimulada a procura de novos materiais. A epidemia de BSE (do acrónimo inglês *bovine spongiform encephalopathy*, também conhecida como “doença das vacas loucas”) teve um forte impacto na utilização de intestinos como material de sutura, e foi proibido o seu uso em vários países [2].

Com o desenvolvimento na produção de fibras sintéticas nos anos 1940s-1960s, começaram a ser utilizadas fibras mais biocompatíveis em cirurgia, tais como poliamida, poliéster e polipropileno, expandido a escolha de suturas não-absorvíveis, no entanto, para suturas absorvíveis, a única opção continuava a ser intestino animal [4].

Um dos grandes avanços na produção de suturas foi a introdução da esterilização por radiação, em 1960, usando o isótopo de cobalto 60. Esta técnica permitiu a esterilização das suturas já dentro das embalagens seladas, eliminando os perigos e as dificuldades das transferências assépticas [9].

Com o desenvolvimento da sutura sintética e absorvível de ácido poliglicólico (PGA), no início da década de 70, um novo capítulo nas suturas absorvíveis foi aberto, com sucesso comercial sem precedentes [1]. No entanto, a taxa de degradação destas suturas era bastante elevada e, para prolongar o seu tempo de degradação, foram desenvolvidos copolímeros de PLA/PGA na proporção de 10:90 (*polyglactin 910*) [10]. Uma vez que estes materiais podem ser produzidos sob condições controladas em que a composição química é uniforme, demonstram uma força e degradabilidade em ambientes biológicos mais fiável que os produtos naturais, como o intestino animal. Ainda mais importante, é o facto de estes materiais não possuírem proteínas, o que implica uma menor reacção do tecido, o que por sua vez promove uma cicatrização mais rápida [11].

Apesar destes avanços, havia necessidade de uma sutura sintética e absorvível que fosse de monofilamento. A resposta deu-se em 1980s, com a introdução de novos polímeros: o polímero de polidioxanona (*polydioxanone*) e o copolímero de poli(glicolida-co-trimetileno carbonato) (*polyglyconate*).

À medida que a evolução das suturas continua, os cirurgiões procuraram refinamento dos materiais sintéticos e absorvíveis para ampliar as aplicações de uso. Apesar dos novos monofilamentos oferecerem uma excelente força e taxas de absorção previsíveis, os tempos de absorção eram demasiado longos para várias aplicações. Para além disso, os novos materiais tendiam a ser relativamente rígidos e mais difíceis de manusear em comparação com as suturas de multifilamentos. Progressos na área dos biomateriais levaram à introdução de copolímeros em blocos de segmentos rígidos e flexíveis. Estes materiais incluem o copolímero de PGA e poli(ϵ -caprolactona) (PCL) (*poliglecaprone 25*); o copolímero de PGA, polidioxanona e poli(trimetileno carbonato) (PTMC) (*polylycomer 631*); e o copolímero de PGA, PCL, PTMC e

PLA (*polyglytone 6211*), introduzido em 2002. Os segmentos flexíveis fornecem as propriedades de manuseamento como a maleabilidade, enquanto os segmentos rígidos providenciam a resistência à tracção [4].

A quitina e o quitosano são candidatos promissores a material de sutura, uma vez que possuem propriedades de agentes cicatrizantes e o quitosano possui actividade antimicrobiana, mas apesar do seu aparente potencial, ainda não há produção comercial de suturas destes polímeros, devido à sua elasticidade insuficiente e às limitações no processamento na forma de fibras [10], [12], [13]. Pillai *et al.* fizeram uma revisão das estratégias para superar alguns destes obstáculos [14].

Zia *et al.*[15] sintetizaram elastómeros de poliuretanos (PUs) biodegradáveis, usando poli(ϵ -caprolactona), 4,4'-diisocianato de difenilmetano (MDI) e, como extensores de cadeia, quitina e 1,4-butanodiol (BDO) em diferentes rácios. Os resultados mostram que os produtos sintetizados são candidatos promissores a aplicações biomédicas como suturas não-absorvíveis. Previamente tinham sido investigadas *in vitro* as suas propriedades de biocompatibilidade e não-toxicidade [16].

A presença de infecção é um problema comum em todos os tipos de ferimentos e o uso de suturas antimicrobianas pode fornecer uma solução a esta situação. Várias abordagens têm sido relatadas no desenvolvimento de suturas antimicrobianas, sendo a incorporação de prata na superfície uma das adoptadas [17]. A área das suturas antimicrobianas está em expansão, tendo sido objecto de interesse de vários grupos [18–21].

Uma vez que o quitosano oferece vantagens no processamento e possui actividade antimicrobiana (ver secção 1.3.1), no presente trabalho foram desenvolvidas membranas de poliuretano à base de quitosano, por electrofiação, combinando as vantagens proporcionadas pelos dois polímeros, com o objectivo de produzir um novo material de sutura.

1.2. Electrofiação

A técnica de electrofiação (*electrospinning*, em inglês) é bastante utilizada para a produção de fibras, sobretudo poliméricas, com diâmetros na ordem dos micrómetros aos nanómetros, através de forças eléctricas. As fibras podem ser obtidas a partir de polímeros sintéticos e/ou naturais, quer em solução ou fundidos [22], [23].

Esta técnica foi, pela primeira vez, observada em 1982 por Rayleigh [24], estudada detalhadamente em electrospray por Zeleny, em 1914 [25], e patenteada por Formhals em 1934 [26]. Em 1969, o trabalho de Taylor [27] sobre jactos accionados electricamente estabeleceu as bases para a técnica. Desde 1980s, e especialmente nos últimos anos, a electrofiação tem cativado bastante interesse, possivelmente devido ao crescimento da nanotecnologia, uma vez que produz facilmente várias fibras poliméricas com diâmetros na ordem dos submicrons e dos nanómetros.

As fibras produzidas por electrofiação apresentam várias vantagens, como um rácio superfície/volume bastante elevado, maleabilidade, porosidade variável, a possibilidade de

controlar a sua composição para obter a funcionalidade e propriedades desejadas e a possibilidade de serem produzidas em grande escala. Assim, estas fibras possuem diversas aplicações, tais como filtração, sensores, vestuário de protecção, matrizes biológicas, libertação de fármacos, pensos para feridas, entre outras [23], [28], [29].

1.2.1. Técnica de electrofiação

O sistema de electrofiação consiste, basicamente, em três componentes principais: uma fonte de alta tensão, um dispositivo produtor do fio (geralmente uma agulha metálica colocada numa seringa) e um colector (um condutor ligado à terra).

Actualmente, há dois *setups* padrão para a electrofiação: horizontal e vertical. Mas com a expansão da tecnologia, foram desenvolvidos sistemas mais sofisticados que produzem estruturas complexas de nanofibras. Uma representação esquemática é apresentada na figura 1.1.

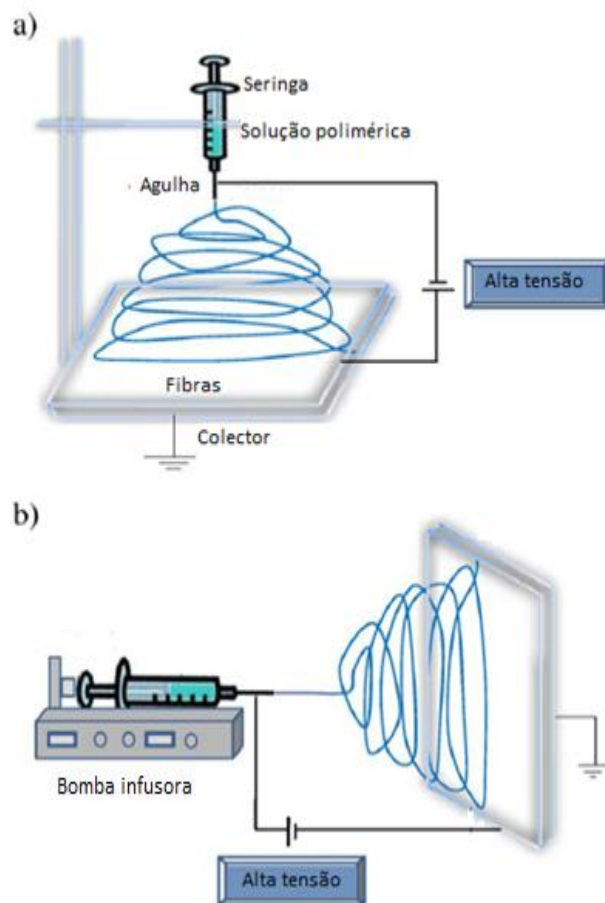


Figura 1.1: Representação esquemática das montagens típicas na técnica de electrofiação. a) Montagem vertical. b) Montagem horizontal (adaptada de [29]).

A solução está contida numa seringa e é colocada uma agulha na sua extremidade. O conjunto seringa-agulha é colocado numa bomba infusora que controla o caudal de solução ejectada. A alta tensão é utilizada para criar um jacto de solução polimérica carregada electricamente. Um fio condutor é colocado na agulha e outro no colector, para o ligar à terra. O campo eléctrico induz carga na solução e, como resultado, a gota formada na ponta da agulha sofre duas forças opostas: a de à tensão superficial e a de repulsão devida às cargas que se acumulam à superfície da gota. Devido à acção destas duas forças electrostáticas, há uma deformação da gota numa forma cónica, conhecida como cone de Taylor. Quando o campo eléctrico aplicado atinge um valor crítico, as forças repulsivas superam a tensão superficial e, eventualmente, um jacto carregado é ejectado da ponta do cone de Taylor em direcção ao colector. O jacto sofre um processo de instabilidade e alongação. Enquanto o jacto é continuamente estirado e o solvente é evaporado, há uma redução significativa no diâmetro das fibras. Atraídas pelo colector, as fibras carregadas depositam-se, tipicamente, de forma aleatória, dando origem a uma membrana de textura não-tecida (*non-woven*). A electrofiação é, geralmente, conduzido à temperatura ambiente com condições atmosféricas [23], [28], [30].

É também possível colectar as fibras alinhadas paralelamente. Para este efeito, é comum utilizar um cilindro rotatório como colector, mas estas fibras podem também ser colectadas no ar, entre dois eléctrodos paralelos [31] (figura 1.2). O campo eléctrico entre estes provoca o alinhamento perpendicular das fibras bem como o seu estiramento. Este método expande as aplicações da electrofiação [32].

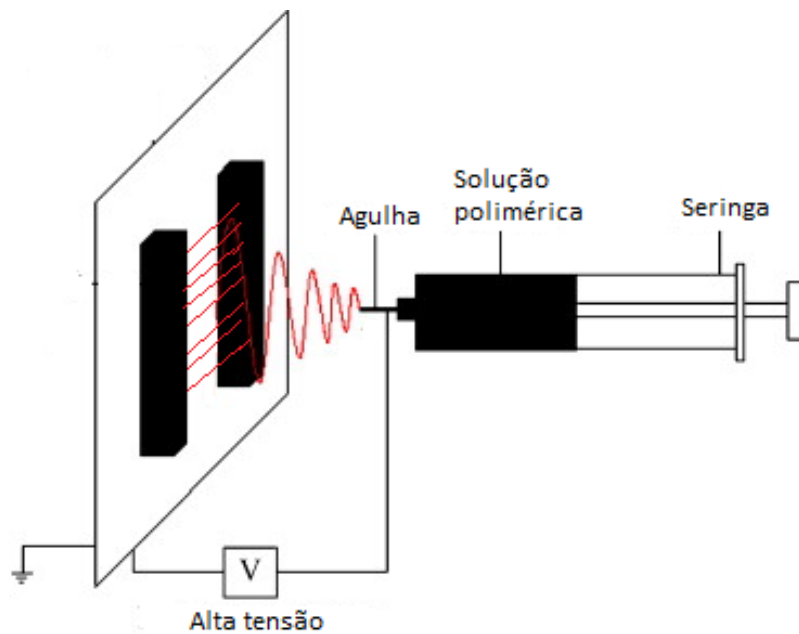


Figura 1.2: Esquema ilustrativo do posicionamento dos eléctrodos paralelos (adaptada de [33]).

1.2.2. *Efeitos dos vários parâmetros na electrofiação*

Embora o mecanismo de electrofiação seja bastante simples, a morfologia e diâmetro das fibras são controlados por diversos parâmetros, que podem ser classificados de uma forma geral como parâmetros de solução, de processo e ambientais.

Os parâmetros de solução incluem peso molecular do polímero, concentração, viscosidade, tensão superficial e condutividade.

Os de processo incluem tensão aplicada, caudal, diâmetro interno da agulha, tipos de colector e distância entre a ponta do capilar e o alvo.

Por fim, os parâmetros ambientais, que incluem a humidade e a temperatura [29], [34].

1.2.3. *Polímeros e solventes utilizados*

Há uma vasta panóplia de polímeros usados em electrofiação que são capazes de produzir fibras na ordem dos nano e dos micrómetros. Estes polímeros podem ser naturais, sintéticos ou até mesmo uma mistura dos dois. Ao longo dos anos, mais de 200 polímeros foram usados, com sucesso, na técnica de electrofiação e caracterizados em relação à sua aplicação.

Os polímeros naturais, geralmente, apresentam uma melhor biocompatibilidade e baixa imunogenicidade, comparados com os polímeros sintéticos, quando usados em aplicações biomédicas.

Os polímeros sintéticos oferecem outras vantagens, como a possibilidade de serem adaptados de forma a apresentarem as características desejadas, tais como a taxa de degradação e as propriedades mecânicas.

A electrofiação com combinações de polímeros oferece um melhoramento das propriedades dos materiais poliméricos, incluindo a modificação da estabilidade térmica, das propriedades mecânicas, biodegradabilidade, morfologia, estrutura, afinidade celular, etc.. O seu uso permite, assim, uma boa forma de gerar novos materiais com as propriedades desejadas e a seu desempenho pode ser significativamente melhorado em comparação com os polímeros de origem.

Os solventes utilizados na electrofiação têm duas funções a desempenhar: dissolver o polímero para formar o jacto carregado e transportar as moléculas de polímero até ao colector, desempenhando um papel crucial na capacidade de haver, ou não, fiação. Os solventes devem possuir algumas características tais como volatilidade, pressão de vapor e ponto de ebulição adequados e devem, ainda, manter a integridade da solução. É, portanto, necessária uma escolha apropriada do solvente [29].

1.3. Polímeros

No presente trabalho, foi utilizado um poliuretano à base de quitosano, na produção de membranas por electrofiação, combinando as vantagens oferecidas pelos dois polímeros, para se atingir uma melhoria nas propriedades físicas e mecânicas, biocompatibilidade e biodegradabilidade.

1.3.1. Quitosano

A história do quitosano (CS) remonta ao século XIX, quando Rouget discutiu as formas desacetiladas da quitina em 1858 [35]. Nos últimos 20 anos, foi efectuada bastante investigação sobre o quitosano e o seu potencial em aplicações biomédicas.

A quitina é um glicoseaminoglicano, e é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, a seguir à celulose. A quitina encontra-se presente nos exosqueletos de crustáceos e de insectos, na parede celular de alguns fungos, etc., e é constituída por unidades 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosose ligadas por uma ligação β -(1-4). A sua imunogenicidade é extremamente baixa, apesar da presença de azoto. É um material semelhante à celulose, com o grupo hidroxilo substituído por um grupo acetamida na posição C-2, bastante insolúvel, de baixa reactividade química e é um polissacarídeo com função estrutural. A quitina é um polissacarídeo branco, duro, inelástico e azotado, sendo a principal fonte de poluição nas áreas costeais [36–38].

Quitina pura, com 100% de acetilação, não existe na natureza. A quitina e o seu derivado N-desacetilado, quitosano, são na realidade copolímeros constituídos pelas unidades referidas acima, mas em proporções distintas [36]. Quando o grau de desacetilação (GD), rácio entre as unidades estruturais 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosose e o número total de unidades, é maior que 50%, o copolímero é denominado quitosano [36], [39]. A estrutura da celulose é apresentada na figura 1.3 e a do copolímero da quitina e do quitosano na figura 1.4.

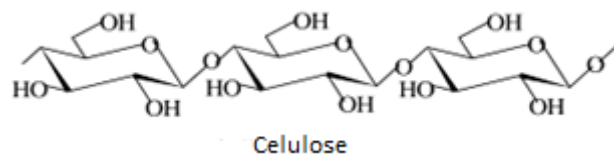


Figura 1.3: Estrutura química da celulose (adaptada de [40]).

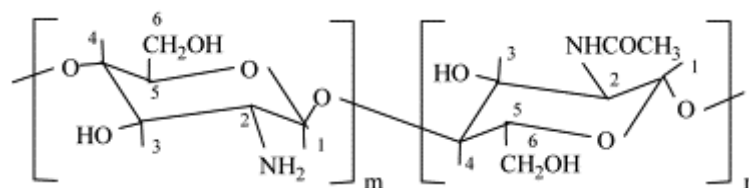


Figura 1.4: Estrutura química do copolímero da quitina e do quitosano (retirada de [41]).

A produção de quitina e quitosano baseia-se, sobretudo, nas cascas de camarão e caranguejo descartadas pelas indústrias de conservas e frotas de pesca. A produção de quitosano através de desperdícios da indústria alimentar é economicamente vantajosa e bastante acessível [37], [42]. O quitosano é, geralmente, obtido por desacetilação termoquímica alcalina, mas também se encontra presente naturalmente em certos fungos [43]. Embora este processo de obtenção seja mais dispendioso que a desacetilação da quitina, o quitosano pode ser isolado sem tratamentos agressivos com bases fortes, e é uma abordagem que se poderá tornar importante no futuro [44]. As condições utilizadas para a desacetilação determinam o peso molecular (MW, *molecular weight*) e o grau de desacetilação do polímero [45].

Devido à fraca solubilidade da quitina em água e solventes orgânicos, esta não possui aplicações práticas, enquanto o quitosano é um material mais adequado.

Nas últimas décadas houve um progresso substancial na pesquisa sobre a tecnologia do quitosano. O quitosano é um óptimo candidato a um largo espectro de aplicações, uma vez que tem propriedades biológicas únicas tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade, afinidade para proteínas, é antibacteriano, antifúngico, hemostático, antitumoral, anticolesterémico e agente cicatrizante [38], [46], [47]. O quitosano pode, assim, ser usado em diversas aplicações, tais como remoção de iões metálicos de águas residuais [48], sistema de libertação de fármacos [49], engenharia dos tecidos [46], cicatrização de feridas [47], biossensores [50], indústria alimentar [51] e muitas outras.

1.3.1.1. Aspectos gerais do quitosano: características estruturais e funcionais

O quitosano é um aminopolissacarídeo que possui uma estrutura única, propriedades multidimensionais, elevada funcionalidade e diversas aplicações em biomédica e outras áreas industriais. Este polímero é um polieletrólito catiónico com grupos funcionais reactivos (um grupo amina e dois grupos hidroxilo), capacidade de formar géis e elevada capacidade de adsorção.

A selecção da quitina e do seu processo de isolamento são também factores que influenciam a qualidade do quitosano de forma significativa [52]. Existem três formas polimórficas conhecidas de quitina: α , β , γ [36], [53]. O quitosano é semi-cristalino [39] e apresenta polimorfismo dependendo do seu estado físico. Dependendo da origem do polímero e do método de extracção, a cristalinidade pode variar. A cristalinidade do quitosano é dependente do GD, e é máxima para os graus de desacetilação mais baixos e mais altos, sendo mínima nos graus de desacetilação intermédios [54], [55].

A amina primária na molécula, sendo reactiva, fornece locais para a ligação de grupos laterais, sob condições moderadas. A possibilidade de modificação química dos grupos amina (e também dos grupos hidroxilo) do quitosano torna-o um candidato ideal para a biofabricação [56]. Os grupos laterais ligados ao quitosano possibilitam a obtenção de materiais versáteis com funcionalidade específica, alterando as propriedades biológicas e físicas.

É importante ter em consideração que o termo “quitosano” não se refere a uma estrutura única e bem definida, uma vez que os quitosanos podem diferir no peso molecular, grau de desacetilação e na sua sequência, i.e., os resíduos acetilados podem estar distribuídos ao longo da cadeia principal numa forma aleatória ou em blocos. Como resultado destas variações estruturais, as suas propriedades podem também variar [56]. As características com maior influência nas propriedades do quitosano são o grau de desacetilação, o peso molecular, a polidispersão e a cristalinidade[54].

A maioria dos polissacarídeos naturais são ácidos ou neutros, enquanto a quitina e o quitosano são altamente básicos [37], [38]. A quitina é bastante hidrofóbica e é insolúvel na maioria dos solventes orgânicos, enquanto que o quitosano é solúvel em soluções aquosas ácidas (com $\text{pH} < 6,0$) devido à quaternização dos grupos amina que possuem um pK_a de 6,3. A presença dos grupos amina indica que o pH altera substancialmente o estado de carga e as propriedades do quitosano. A baixo pH, as aminas ficam protonadas e tornam-se positivamente carregadas, tornando o quitosano num polieletrólito catiónico solúvel em água. À medida que o pH aumenta acima dos 6, os grupos amina tornam-se desprotonados e o polímero perde a sua carga e torna-se insolúvel. Como o valor de pK_a é fortemente dependente do grau de desacetilação, a solubilidade do quitosano é, também, dependente do GD e do método de desacetilação utilizado. Para além do GD, o peso molecular é também um parâmetro que desempenha um papel importante na solubilidade, bem como outras propriedades. A solubilidade do polímero em água aumenta com a diminuição do seu peso molecular, sendo o quitosano de baixo peso molecular solúvel em água[57–59].

É importante compreender a taxa de degradação, uma vez que é essencial em aplicações biomédicas. A degradação aumenta com a diminuição do GD [60], [61]. Foi ainda observado que a degradação é inversamente proporcional à cristalinidade, que é controlada principalmente pelo GD [42], [62] e que a distribuição dos grupos acetil é, também, um factor com influência; se estes grupos estiverem homoganeamente distribuídos (de forma aleatória e não em blocos) há uma baixa taxa de degradação enzimática [63], [64]. Vários estudos reportam a influência do peso molecular (comprimento das cadeias), defendendo que a degradação aumenta com a diminuição do peso molecular, embora este factor não tenha tanto peso como o GD [65], [66].

Quanto à biocompatibilidade, foi observado que com o aumento do grau de desacetilação, há um aumento da adesão das células e que a sua proliferação também é influenciada [67].

Outras propriedades biológicas, tais como antimicrobiana, hemostática, antitumoral e anticolesterémicas são reportadas em diversos trabalhos [37], [68], [69].

1.3.2. Poliuretanos

Os poliuretanos formam uma grande família de materiais poliméricos com uma enorme diversidade de propriedades e composições químicas. São materiais com inúmeras aplicações em áreas tecnológicas e em produtos do dia-a-dia tais como vestuário (sendo a

Lycra® um exemplo bastante conhecido), partes automóveis, calçado, mobília, construção civil, tintas e revestimentos para electrodomésticos, etc. A versatilidade das suas propriedades também atraiu a atenção da área biomédica que viu potencial na sua flexibilidade combinada com a sua elevada resistência ao rasgo [70–73].

Os poliuretanos são uma família de copolímeros, em que as unidades estruturais se ligam através de ligações uretano (figura 1.5). Os grupos uretano, normalmente, não constituem a maioria dos grupos funcionais deste copolímero. É a possibilidade de incorporar outros grupos funcionais na cadeia polimérica que permite o largo espectro de propriedades exibidas por estes materiais. Assim, os poliuretanos variam materiais rígidos termoendurecíveis a elastómeros flexíveis.

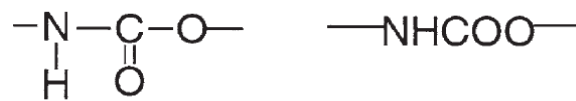


Figura 1.5: Ligação uretano (retirada de [70]).

Geralmente, os poliuretanos termoplásticos, que constituem o grupo mais importante para dispositivos implantáveis, têm resistência à tracção elevada, resistência à abrasão e à degradação, e são biocompatíveis o que lhes permite serem usados como biomateriais.

Até às décadas de 20 e 30, do século passado, as poucas indústrias que dependiam de materiais poliméricos baseavam-se em materiais naturais ou nas modificações destes. Só na década de 1930 é que a ciência dos polímeros emergiu, e o crescimento significativo da tecnologia dos polímeros sintéticos é ainda posterior [74].

O passo inicial que desencadeou o interesse global em poliuretanos foi dado por Otto Bayer da I.G. Farbenindustrie, Leverkusen, Alemanha, em 1937. O trabalho que originou esta descoberta tinha como objectivo sintetizar novos materiais que não fossem abrangidos pelas patentes das poliamidas de Nylon, obtida por Carothers da E.I. du Pont de Nemours & Co, mas que tivessem propriedades semelhantes [74]. Bayer desenvolveu o processo de poliadição de diisocianatos e a patente alemã, DRP 728981, “Um processo para a produção de poliuretanos e poliureias”, foi publicada a 13 de Novembro de 1937. Em 1938, Heinrich Rinke, um colega da equipa de Otto Bayer, produziu um polímero com octametilendiisocianato e 1,4-butanodiol, a que ele chamou de poliuretano [75]. As primeiras borrachas de poliuretano foram produzidas em 1940, por Piten [75]. Estes materiais foram utilizados como substitutos à borracha natural durante a Segunda Guerra Mundial, que na altura era cara e de difícil obtenção. Durante a Guerra, outras aplicações foram desenvolvidas, sobretudo como revestimentos, desde acabamentos de aviões a vestuário resistente.

Na década de 1950, os poliuretanos já eram usados em adesivos, elastómeros, espumas rígidas e, mais tarde na mesma década, em espumas flexíveis para amortecimento semelhantes às usadas na actualidade.

Nas décadas seguintes seguiram-se ainda vários desenvolvimentos e, hoje em dia, os poliuretanos estão presentes em toda a parte [72].

1.3.2.1. Aspectos gerais dos poliuretanos: características estruturais e funcionais

Os copolímeros de poliuretano são uma subclasse importante da família dos elastómeros termoplásticos.

Os PUs possuem uma estrutura química que, tipicamente, compreende três monómeros: um diisocianato, um macrodiol e um extensor de cadeia. Devido a estes três “graus de liberdade”, é possível obter inúmeros materiais com características físico-químicas e mecânicas diferentes, uma vez que há várias opções disponíveis aquando da escolha dos componentes, a nível químico e de peso molecular, bem como os rácios com que se faz a reacção. Os PUs são compostos por blocos alternados e polidispersos, de segmentos flexíveis e rígidos (figura 1.6). Por esta razão, os poliuretanos são frequentemente referidos como copolímeros em blocos[70], [74].

O segmento flexível é composto por sequências de unidades do polioliol, geralmente de peso molecular entre os 400 e os 5000 e com baixa temperatura de transição vítrea (T_g). O segmento rígido tem, normalmente, elevada temperatura de transição vítrea e é constituído por um diisocianato ligado a um extensor de cadeia de baixo peso molecular. Os extensores de cadeia costumam consistir em dióis ou diaminas, que produzem segmentos uretano e uretano-ureia, respectivamente.

Para se entender o comportamento físico dos poliuretanos há que ter em conta a sua estrutura molecular. Há alguma imiscibilidade entre os segmentos rígidos de uretano e os segmentos flexíveis de polioliol, o que implica que, apesar do seu aspecto macroscopicamente ser isotrópico, microscopicamente os poliuretanos não são estruturalmente homogêneos. Assim, apesar de haver alguma mistura entre os segmentos rígidos e flexíveis, existe separação de fase, produzindo uma estrutura que pode ser vista como domínios de segmentos rígidos dispersos numa matriz de segmentos flexíveis. Deste tipo de estrutura resultam as suas propriedades físicas e mecânicas únicas, e pensa-se que contribui para a sua biocompatibilidade [74].

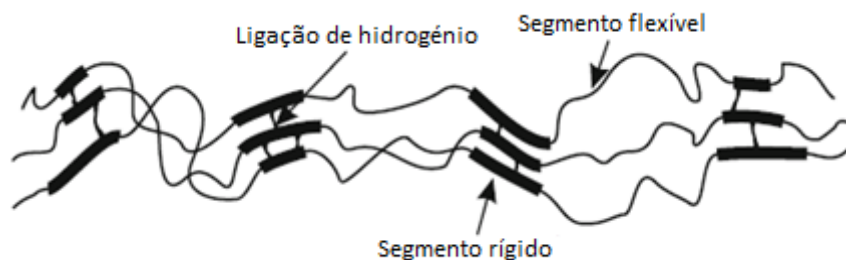


Figura 1.6: Estrutura dos domínios rígidos e flexíveis dos PUs (adaptada de [75]).

Embora o nome destes polímeros seja dado devido à presença da unidade repetitiva uretano na cadeia, os grupos uretano não se encontram nos precursores da reacção, são formados durante a polimerização. Outros grupos funcionais podem estar presentes, geralmente em maior número. Os grupos, para além dos uretanos, podem incluir éteres, alofanatos, ureias, biuretos, carbodiimidas, isocianuratos, acilureias, bem como anéis aromáticos e cadeias alifáticas. Através das várias etapas na síntese do poliuretano, a rigidez, cristalinidade e flexibilidade do polímero, a capacidade de orientação das cadeias, de formarem ligações intermoleculares e ligações cruzadas podem ser influenciadas [74].

A biodegradabilidade dos PUs pode ser modificada através da selecção de diferentes segmentos rígidos e flexíveis e da sua quantidade relativa. Tipicamente, os segmentos rígidos usados em PUs para aplicações em que se pretenda durabilidade e resistência à degradação são sintetizados a partir de diisocianatos aromáticos [76], enquanto os PUs degradáveis são, geralmente, feitos a partir de diisocianatos alifáticos. Através de diisocianatos L-lisina (LDI) também se pode ajustar a degradação dos segmentos rígidos [77], [78]. De modo geral, utilizam-se os segmentos flexíveis para variar a taxa de degradação dos PUs [76]. Aumentando o comprimento e o carácter hidrofílico dos segmentos flexíveis, aumenta-se a degradação [79]. A combinação de diferentes segmentos flexíveis é uma estratégia eficaz para melhorar as propriedades gerais [80]. Adicionalmente, variações estruturais no extensor de cadeia podem ser utilizadas para ajustar as propriedades de degradação [80–84].

Os PUs aromáticos tradicionais podem degradar-se em produtos tóxicos, no entanto, muitos dos PUs alifáticos biodegradáveis e vários da família do 4,4'-diisocianato de difenilmetano (MDI), diisocianato aromático, mostraram-se não tóxicos, tanto como polímeros como os seus produtos de degradação[85].

Capítulo 2

Técnicas e Procedimentos

Técnicas e Procedimentos

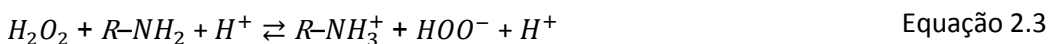
Neste capítulo é apresentada uma breve descrição das diferentes técnicas e procedimentos experimentais que foram utilizados ao longo deste trabalho. Inicialmente, foi necessária a produção de quitosano de baixo peso molecular, que foi utilizado na síntese do poliuretano à base de quitosano, assim como a caracterização química dos materiais obtidos. Foi também efectuada a caracterização das soluções poliméricas utilizadas no processo de electrofiação. Posteriormente, foi realizada a produção de membranas de poliuretanos à base de quitosano, através da técnica de electrofiação, e a sua respectiva caracterização morfológica e mecânica.

2.1. Despolimerização do quitosano com peróxido de hidrogénio

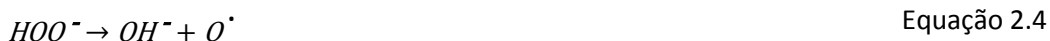
O quitosano com elevado peso molecular não é solúvel em solventes orgânicos, logo, usá-lo como extensor de cadeia na síntese do poliuretano representaria uma dificuldade. Uma das maneiras de solucionar o problema é através da despolimerização do quitosano, até este atingir um peso molecular baixo, i.e., inferior a 30000, com oxidantes tais como O_3 , $NaNO_2$ e H_2O_2 .

Na despolimerização do CS, as ligações glicosídicas β -(1-4) na cadeia polimérica são quebradas, o que leva à diminuição do peso molecular. No caso do tratamento com peróxido de hidrogénio, a despolimerização dá-se, predominantemente, por um mecanismo radicalar.

No sistema de despolimerização do quitosano com H_2O_2 , os equilíbrios existem como mostrados nas equações 2.1 e 2.2, e a reacção total é apresentada na equação 2.3.



O anião hidroperóxido é muito instável e é facilmente decomposto no radical altamente reactivo HO^\cdot (equações 2.4 e 2.5).



O radical hidroxilo reage com o quitosano (representado por $(GlcN)_m-(GlcNAc)_n$) rapidamente e a reacção é apresentada nas equações 2.6 e 2.7. O radical HO^\bullet retira e combina-se com um átomo de hidrogénio do quitosano para formar água.



Durante o tratamento com peróxido de hidrogénio, o $R-NH_2$ reage preferencialmente com H^+ para produzir $R-NH_3^+$, levando a uma diminuição de $[H^+]$ e ao aumento do pH. Adicionalmente, H_2O_2 é rapidamente decomposto em HO^\bullet , o que significa que o H_2O_2 é continuamente decomposto como mostrado na equação 2.3. Estes radicais continuam a reagir formando produtos de oxidação solúveis em água com baixo peso molecular [86].

2.1.1. Procedimento experimental

Foram colocadas 2g de quitosano (Cognis S) num balão volumétrico juntamente com 200mL de uma solução de peróxido de hidrogénio (35%, da Valente e Ribeiro, Lda) em água destilada, numa razão de 1:3 (v/v). A solução foi deixada em agitação contínua, à temperatura ambiente, durante 8 dias. O quitosano de baixo peso molecular (LMWCS, *low molecular weight chitosan*) foi reprecipitado adicionando acetona e, seguidamente, filtrado em vácuo. Depois de filtrado, o quitosano foi posto em água destilada e, novamente, foi adicionada acetona e fez-se a filtração em vácuo. Por fim, foi seco sob vácuo.

2.2. Síntese do poliuretano à base de quitosano

A síntese dos poliuretanos faz-se através de uma reacção de polimerização por passos.

Esta reacção pode ser feita por várias técnicas, tendo como resultado diferentes materiais. Em laboratório, geralmente, usa-se um procedimento com duas etapas:

Primeiro, forma-se um pré-polímero com terminações isocianato através da reacção do poliálcool com diisocianato em excesso. Depois, adiciona-se o extensor de cadeia (diálcool ou diamina) que irá reagir com o pré-polímero, formando um polímero de elevado peso molecular [70], [74].

Para produzir um novo material de sutura à base de quitosano foi sintetizado um poliuretano, reagindo poli(ϵ -caprolactona)diálcool (PCL diálcool) e diisocianato de isoforona (IPDI) e usando como extensores de cadeia quitosano e ácido dimetilol propiónico (DMPA), numa razão de 50:50 em termos de grupos funcionais, criando assim um poliuretano à base de quitosano.

2.2.1. Materiais

Os materiais utilizados na reacção, para além do LMWCS produzido, bem como os seus fabricantes e especificações, são listados na tabela 2.1.

Tabela 2.1: Materiais utilizados na reacção de síntese do PU, com os respectivos fabricantes e especificações.

Material	Fabricante e especificações
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Merck
PCL diol	Acros Organics, $M_n=2000$
<i>N</i> -metilpirrolidona (NMP)	Acros Organics, 99%
DMPA	Acros Organics, 99%
Bissulfito de sódio (fórmula molecular: NaHSO_3)	Acros Organics, $MW=104,06$
IPDI	Huls
Trietilamina (TEA)	Fluka

2.2.2. Procedimento experimental

O PCL diol e o DMPA foram secos a 80°C sob vácuo, 24 horas antes de serem utilizados, para assegurar a remoção de bolhas de ar e de humidade que pudessem reagir com o diisocianato. O LMWCS foi dissolvido em DMSO 24 horas antes da reacção.

Utiliza-se um reactor com quatro tubuladuras, colocado num banho de óleo e equipado com um agitador mecânico, um condensador, uma ampola de adição com equalizador de pressão e uma mangueira que permita a entrada de azoto. São colocadas 20 g de PCL diol no reactor e aumenta-se a temperatura do banho para 60°C. De seguida, introduz-se 8,95 g de IPDI, gota-a-gota, e aumenta-se a temperatura para 90°C. A mistura é aquecida durante 3 h, para se obter o pré-polímero com terminações NCO. Junta-se a solução de 1,34 g de DMPA em NMP e mantém-se em agitação durante 1 h. Então, adicionam-se 1,01 g de TEA e a solução de 1,12 g de quitosano em DMSO e baixa-se a temperatura para 65°C. Junta-se NaHSO_3 e deixa-se em agitação mais 30 min. Nesta etapa, aumenta-se a velocidade de agitação para prevenir a formação de um gel. Para finalizar, junta-se água destilada, gota-a-gota, enquanto a agitação se mantém.

Na figura 2.1 é apresentado um esquema da síntese e na figura 2.2 uma imagem da montagem experimental.

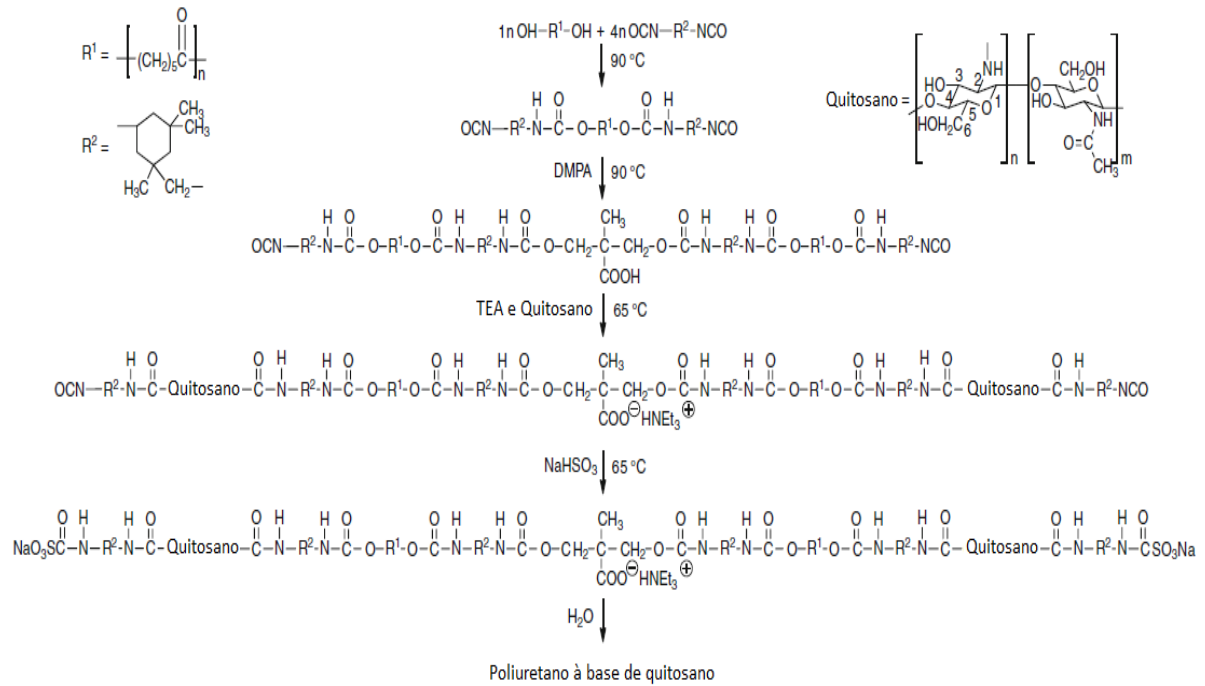


Figura 2.1: Esquema da síntese do poliuretano (adaptada de [87]).

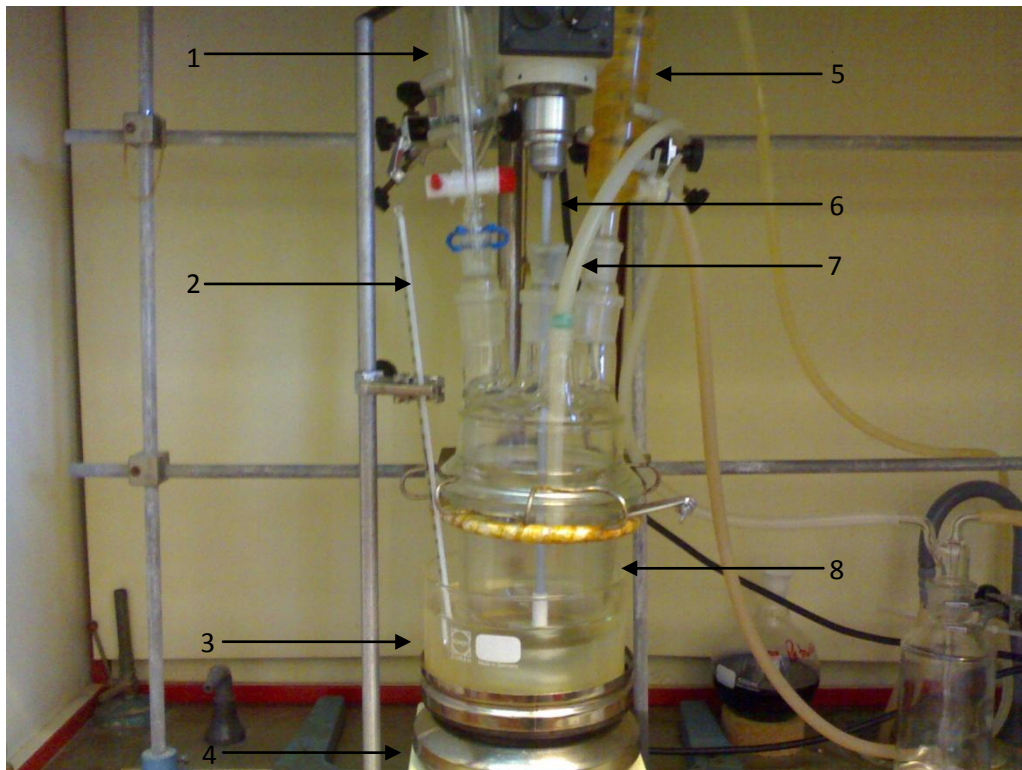


Figura 2.2: Montagem experimental para a síntese do PU, onde: 1) ampola de adição com equalizador de pressão; 2) termómetro; 3) banho de óleo; 4) placa de agitação e de aquecimento; 5) condensador; 6) agitador mecânico; 7) mangueira que permite a entrada de azoto; 8) reactor com quatro tubuladuras.

2.3. Caracterização química

2.3.1. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

A espectroscopia no infravermelho permite identificar quais as moléculas presentes numa amostra, sendo por isso uma ferramenta de análise química bastante útil. Existem vários métodos de espectroscopia no infravermelho, mas o mais comum é por transformada de Fourier (FTIR, *Fourier Transform Infrared*) [88].

Na espectroscopia no infravermelho, a absorção de radiação está relacionada com a excitação de vibrações moleculares. As ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, logo, há uma relação entre as frequências de absorção e a estrutura [89]. O espectro é, normalmente, obtido pela passagem de radiação electromagnética na zona do infravermelho através de uma amostra e determinando qual a fracção de radiação incidente absorvida numa energia particular. Essa energia corresponde a uma frequência de vibração característica, permitindo assim a identificação de determinadas ligações. Um espectrómetro de infravermelho, geralmente, regista a energia da radiação electromagnética que é absorvida ou transmitida pela amostra como função do número de onda. Actualmente, o espectro total é analisado por um processo de interferência e convertido em números de onda através do processo matemático conhecido como transformada de Fourier [90].

É importante notar que quase todos os elementos estruturais apresentam absorções em várias zonas do espectro, pois são excitados vários tipos de vibrações, o que significa que uma determinada frequência característica vem sempre acompanhada de outras frequências de absorção. Só quando todas essas frequências aparecem no espectro, é que se pode atribuir a presença no espectro do elemento estrutural que lhes corresponde [89].

2.3.1.1. Procedimento experimental

A técnica de FTIR foi utilizada para avaliar a estrutura química do quitosano e do poliuretano produzidos.

O espectro do quitosano antes e após o processo de despolimerização foi obtido com o polímero em pó e a do poliuretano em filme. O aparelho utilizado para a aquisição do espectro foi um espectrómetro FT-IR Nicolet 6700, da *Thermo Electron Corporation*, em modo ATR (*attenuated total reflectance*).

Fez-se uma aquisição prévia do *background* (sem a amostra posicionada) que consistiu na linha de base que foi subtraída durante a aquisição do espectro. Em seguida, colocou-se a amostra a analisar e efectua-se a medição.

2.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é uma técnica eficiente na análise de compostos orgânicos.

O espectro de ressonância é obtido por absorção de radiação electromagnética por núcleos atômicos magnéticos situados num campo magnético exterior estático. Quando um tal núcleo se encontra na presença de um campo magnético estático, o seu momento magnético tem diversas possibilidades de se orientar. Um campo electromagnético periódico, cujo vector magnético seja perpendicular ao campo magnético estático, consegue uma reorientação do momento nuclear, absorvendo-se energia do campo de alta frequência (ressonância nuclear). Esta energia e a correspondente frequência de radiação absorvida dependem das propriedades magnéticas do núcleo atômico e é proporcional à intensidade do campo magnético aplicado.

Para medir as condições de ressonância coloca-se uma amostra da substância a examinar (líquida ou em solução), no campo magnético estático. A amostra é colocada numa bobina de indução, na qual se gera um campo electromagnético de alta frequência. Mantendo-se a frequência constante, varia-se continuamente intensidade do campo, até se verificar a ressonância. Neste momento, a substância absorve energia do campo electromagnético periódico, o que se manifesta numa variação da corrente que é utilizada para gerar o campo electromagnético periódico. Essa variação de corrente (sinal de ressonância) pode ser medida e registada. Obtém-se assim o espectro de ressonância magnética nuclear (RMN).

Se o núcleo estiver protegido por meio dos electrões que o rodeiam, então o campo magnético na vizinhança do núcleo é enfraquecido pelos electrões, e o sinal de ressonância só aparece quando se atinge uma intensidade de campo maior que aquela que seria necessária se o núcleo não estivesse protegido. Esse efeito é designado por desvio (ou deslocamento) químico ("*chemical shift*"), visto depender da vizinhança electrónica, i.e., da vizinhança química do núcleo. Na prática, o sinal de ressonância refere-se sempre ao desvio químico duma substância padrão, que é adicionada à solução (padrão interno) [89].

2.3.2.1. Procedimento experimental

Foi efectuada uma espectroscopia de ressonância magnética de protão ($^1\text{H-NMR}$), numa solução de DMSO- d_6 , para caracterizar o produto da reacção de síntese do poliuretano. Foi utilizado um espectrómetro *Bruker Avance III 400*. Os desvios químicos (δ) são dados em ppm (partes por milhão) e foi usado tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

2.3.3. Cromatografia de permeação em gel

A cromatografia de permeação em gel (GPC, *gel permeation chromatography*) é uma técnica bastante utilizada para determinar o peso molecular médio de um polímero, bem como a sua respectiva distribuição, através de um processo de separação de tamanhos.

Na técnica de GPC, o polímero é dissolvido num solvente apropriado e é injectado numa corrente contínua de eluente (fase móvel) que é, geralmente, o mesmo que o utilizado para dissolver o polímero. A fase móvel elui numa coluna que contém partículas porosas (fase estacionária), cujos poros possuem dimensões bem definidas e estão disponíveis numa determinada gama de tamanhos.

As moléculas que são demasiados grandes para passarem pelos poros, fluem pelo espaço intersticial ou vazio da coluna. À medida que o tamanho molecular do polímero diminui, até atingir o tamanho médio dos poros, as moléculas começam a penetrá-los acedendo a um maior volume disponível, como resultado, demoram mais tempo a percorrer a coluna. As moléculas pequenas que podem movimentar-se livremente para fora e para dentro dos poros eluem através do volume total disponível na coluna. As moléculas de maior peso molecular atravessam primeiro, seguindo-se as de menor peso molecular [91].

2.3.3.1. Procedimento experimental

O peso molecular médio ponderal do quitosano de baixo peso molecular produzido foi medido através da técnica de GPC.

Para realizar as medições foram usados um sistema de GPC *Smartline*, da *Knauer* e uma coluna *Varian PL aquagel-OH MIXED bed column*. O eluente utilizado foi uma solução tampão AcOH/AcONa (pH≈4) e o caudal mantido nos 1,0 mL min⁻¹. A temperatura da coluna era de 25 °C (temperatura ambiente).

O eluente foi monitorizado por um detector de índice refração, a concentração da amostra era de 5 mg mL⁻¹, e os padrões utilizados para calibrar a coluna foram padrões de *Pullulan* (*Varian*). Todos os dados disponibilizados pelo sistema de GPC foram colectados e analisados com o *software Clarity* (v.2.0.0.70).

2.4. Caracterização de soluções

2.4.1. Determinação da viscosidade intrínseca

Uma das formas de medição da viscosidade intrínseca, $[\eta]$, de um sistema polímero-solução é através de um viscosímetro *Ubbelohde*. Este viscosímetro consiste, basicamente, num tubo de vidro em forma de U, seguro verticalmente num banho de temperatura controlada. Num dos lados existe um reservatório e, no outro, um capilar com um bolbo de medição, onde existem duas marcas, uma acima e outra abaixo. O viscosímetro *Ubbelohde* possui ainda um terceiro braço que funciona como um equalizador de pressão, que assegura que a única diferença de pressão entre o topo do bolbo e o fim do capilar é a devida à pressão hidrostática. A solução é introduzida no reservatório e sugada até ao bolbo, é então permitido à solução fazer o percurso inverso, escoando pelo capilar. O tempo de escoamento entre as duas marcas é proporcional à viscosidade.

Através da comparação entre o tempo de escoamento da solução polimérica (t) e o tempo de escoamento do solvente (t_0), obtém-se a viscosidade relativa, η_{rel} :

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t}{t_0} \quad \text{Equação 2.8}$$

É também possível determinar a viscosidade específica, η_{sp} , que está relacionada com o aumento da viscosidade devido à adição de um polímero:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1 = \frac{t}{t_0} - 1 \quad \text{Equação 2.9}$$

A partir do gráfico de $\ln(\eta_{rel})/C$ vs C , ou do gráfico de η_{sp}/C vs C , em que C é a concentração, obtém-se o valor da viscosidade intrínseca através da extrapolação para $C = 0$, $[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_{rel}}{C}$ [92].

2.4.1.1. Procedimento experimental

Para determinar a viscosidade intrínseca do sistema de PU em N,N-Dimetilformamida (DMF), da Emplura, e tetrahidrofurano (THF), da Panreac, numa razão de 30:70 (v/v), respectivamente, foram preparadas cinco soluções, de 15mL cada, com concentrações de 0,001; 0,002; 0,003; 0,004 e 0,005 g mL⁻¹, e foram, também, utilizados 15mL do sistema de solventes apenas.

As medições foram feitas, de forma automática, num viscosímetro *Ubbelohde AVS 400* fornecido pela *Schott Gerate*. Foram medidos os tempos de escoamento automaticamente para as diferentes concentrações, a uma temperatura constante de $30,0 \pm 0,1$ °C, com uma resolução de $\pm 0,01$ s. Cada medida foi repetida dez vezes.

2.4.2. Avaliação da viscosidade

A viscosidade, η , de um material expressa a sua resistência ao escoamento e é definida quantitativamente como sendo a razão entre a tensão de corte (τ) e a viscosidade de corte ($\dot{\gamma}$):

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad \text{Equação 2.10}$$

Quando a maioria dos materiais é sujeita a uma taxa de corte constante (ou tensão de corte constante), a uma determinada temperatura, um valor estacionário de tensão de corte (ou de taxa de corte) é estabelecido. Esta relação entre a tensão de corte e a taxa de corte é conhecida como curva de fluxo.

A lei de Newton da viscosidade estabelece que a tensão de corte é directamente proporcional à taxa de corte, sendo a constante de proporcionalidade a viscosidade:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad \text{Equação 2.11}$$

Os fluidos que obedecem a esta hipótese são designados newtonianos.

Uma das formas de medir as quantidades η , τ e $\dot{\gamma}$ é com um reómetro rotacional com geometria de cone e prato, onde a amostra sofre uma deformação por corte entre um prato raso e um cone com um ângulo pequeno, cujo vértice contacta com o prato. Geralmente, o cone possui um movimento de rotação com velocidade angular conhecida e o torque causado pelo fluido é medido [93], [94].

2.4.2.1. Procedimento experimental

Para avaliar a viscosidade do sistema de PU em DMF/THF numa razão de 30:70 (v/v), foram usadas as soluções com concentrações de 20, 25, 30, 35, 40 e 45% (m/v).

Para a aquisição das medições foi utilizado um reómetro rotacional com geometria cone e prato *Bohlin Gemini HR nano* (com diâmetro de 40 mm e ângulo de 2°).

2.5. Produção e caracterização de membranas

2.5.1. Electrofiação

Para a prossecução dos objectivos deste trabalho, foram produzidas membranas de nanofibras, de poliuretano, por electrofiação (ver secção 1.2).

2.5.1.1. Procedimento experimental

Na tabela 2.2 enuncia-se o equipamento e respectivo fabricante, empregue na montagem experimental.

Tabela 2.2: Equipamento, com o respectivo fabricante, usado na montagem para o processo de electrofiação.

Equipamento	Fabricante
Bomba infusora	<i>Kd Scientific</i>
Seringa graduada 1 mL	<i>B Braun</i>
Agulha	<i>Nordson EFD, calibre 21G</i>
Fonte de Tensão	<i>Glassman High Voltage, inc.</i>

A concentração da solução, a distância entre a agulha e o colector, o tipo de colector, o caudal e a tensão aplicada são parâmetros importantes no processo de electrofiação, que influenciam fortemente a morfologia das fibras. Estudos prévios devem ser realizados de modo a seleccionar as melhores condições para a produção de uma membrana com o mínimo possível de defeitos e com a morfologia mais adequada.

Foram utilizadas soluções de poliuretano, com concentrações de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45% (m/v), em DMF/THF numa razão de 30:70 (v/v).

Cada solução foi introduzida numa seringa de 1 mL, removendo manualmente o ar residual presente e, seguidamente, inseriu-se a agulha. Colocou-se a seringa numa montagem idêntica à da figura 1.1. A seringa é fixada na bomba infusora, na qual se programa o diâmetro da seringa utilizada e o caudal que se pretende. Foram utilizados caudais de 0,05; 0,10 e 0,15 mL h⁻¹. A fonte de alta tensão foi conectada à agulha e por sua vez o colector foi conectado à terra. Utilizaram-se tensões de 10, 15 e 20 kV, e mais que um tipo de colector (estático e de eléctrodos paralelos). A distância entre o colector e a ponta da agulha também foi variada, sendo de 10, 15 e 20 cm.

A electrofiação das soluções ocorreu à temperatura ambiente e com humidade entre 45-55%.

A duração do processo dependeu da espessura da membrana pretendida.

2.5.2. Microscopia electrónica de varrimento

Na microscopia electrónica de varrimento (SEM, *scanning electron microscopy*), um feixe de electrões altamente energético é usado para gerar uma variedade de sinais na superfície de um espécime sólido. Estes sinais são originados através de interacções electrão-amostra e revelam informação acerca da morfologia externa, da topografia da superfície e da composição química dos materiais constituintes da amostra [95].

Quando o feixe de electrões altamente energético varre a superfície da amostra, de forma sistemática, ocorrem interacções de onde resultam sinais que incluem electrões secundários, electrões retrodifundidos, raios-X e electrões de Auger. O sinal com maior relevância é o emitido pelos electrões secundários, que são importantes para mostrar a morfologia e a topografia das amostras, mas os retrodifundidos também fornecem informação útil para a produção de imagem, revelando contrastes nas composições de amostras polifásicas. Estes sinais electrónicos são convertidos em imagem [95], [96].

2.5.2.1. Procedimento experimental

A morfologia das fibras obtidas pela técnica de electrofiação foi avaliada através da técnica de SEM.

Amostras de membranas produzidas foram colocadas num porta-amostras, e através de uma fita de carbono estabeleceu-se contacto eléctrico entre a superfície da amostra e este. As amostras foram revestidas com uma película de ouro, que evita acumulação de campos electrostáticos e providencia aumento no contraste da imagem. A observação foi feita num microscópio electrónico de varrimento *Zeiss DSM-9*, do CENIMAT/I3N.

2.5.3. Ensaios de tracção

A caracterização mecânica das membranas foi feita através de ensaios de tracção.

Num ensaio de tracção, um corpo de prova é sujeito a uma força que tende a alongá-lo até à rotura.

O corpo de prova é fixado numa máquina de ensaios que aplica uma carga crescente na sua direcção axial, sendo medidas as deformações correspondentes. As cargas são medidas na própria máquina e, normalmente, o ensaio ocorre até a rotura do material (ensaio destrutivo). Estes dados permitem a construção curvas de tensão nas quais se pode avaliar o comportamento do material durante o ensaio.

A tensão corresponde à intensidade da força (F) por unidade de área de secção (A), equação 2.12, e a deformação é dada pela razão entre o alongamento (Δl) e o comprimento inicial (l_0) do corpo de prova, equação 2.13.

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad \text{Equação 2.12}$$

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0} = \frac{l - l_0}{l_0} \quad \text{Equação 2.13}$$

Na figura 2.3 é apresentada uma curva de tensão típica para materiais poliméricos.

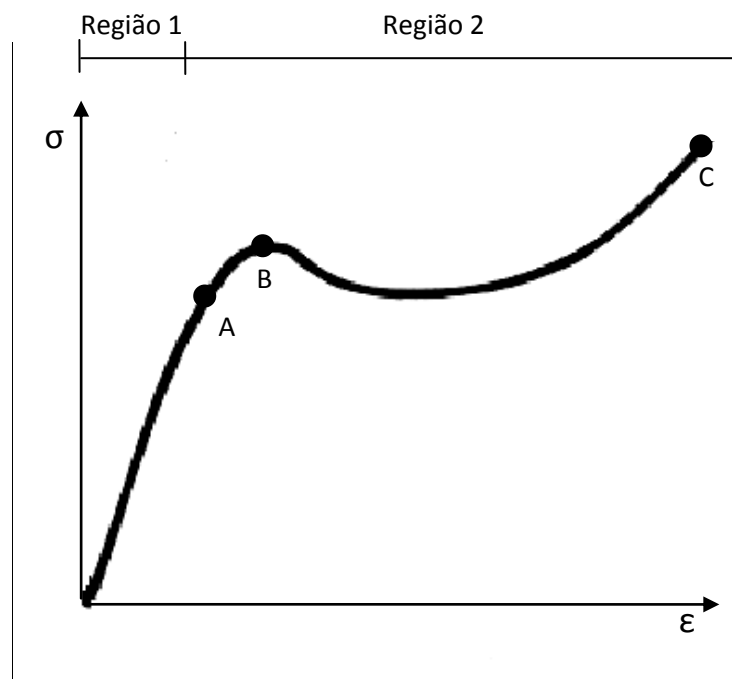


Figura 2.3: Curva de tensão para um material polimérico.

No gráfico podem observar-se duas regiões distintas. A região 1 corresponde à região de deformação elástica, onde as deformações não são permanentes e o material recupera a sua forma inicial quando a carga aplicada é removida. Nesta região existe uma proporcionalidade entre a deformação e a tensão, dada pela lei de Hooke (equação 2.14). A região 2 corresponde à região de deformação plástica e surge acima do limite de elasticidade (dado pelo ponto A – a tensão de cedência), nesta região a deformação do material é permanente. Durante a deformação plástica, a tensão necessária para deformar um material aumenta até a um ponto máximo (ponto B), neste momento ocorre estricção e a deformação é localizada e ocorre até à rotura (ponto C).

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad \text{Equação 2.14}$$

A constante de proporcionalidade E , da lei de Hooke, designa-se por módulo de Young, ou módulo de elasticidade, e fornece uma indicação da rigidez do material. Quanto maior for o módulo, menor será a deformação elástica resultante da aplicação de uma tensão [97], [98].

2.5.3.1. Procedimento experimental

Os ensaios de tracção das membranas produzidas foram realizados numa máquina de tracção *Minimat Control Software (version 1.60)*, da *Reometric Scientific*, à temperatura ambiente. Foram tracionadas, pelo menos, 3 membranas a uma velocidade de 2 mm min^{-1} .

Capítulo 3

Resultados e Discussão

Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os principais resultados obtidos ao longo do trabalho realizado.

Numa primeira fase, é realizada a caracterização química do quitosano de baixo peso, obtido pelo processo de despolimerização com peróxido de hidrogénio, e do poliuretano sintetizado.

Posteriormente, as soluções utilizadas na técnica de electrofiação são caracterizadas e é determinado o conjunto de parâmetros mais favorável para o processo.

Por fim, procedeu-se à caracterização morfológica e das propriedades mecânicas das membranas obtidas.

3.1. Caracterização química

3.1.1. Caracterização do quitosano

Foram realizadas análises de ATR-FTIR antes e após a despolimerização do quitosano com peróxido de hidrogénio, para confirmar que não houve modificação química do polímero. Os espectros são apresentados na figura 3.1.

Não existem alterações nos grupos funcionais presentes, significando que o tratamento com o peróxido de hidrogénio não induziu alterações químicas no quitosano. A análise do espectro é apresentada na tabela 3.1.

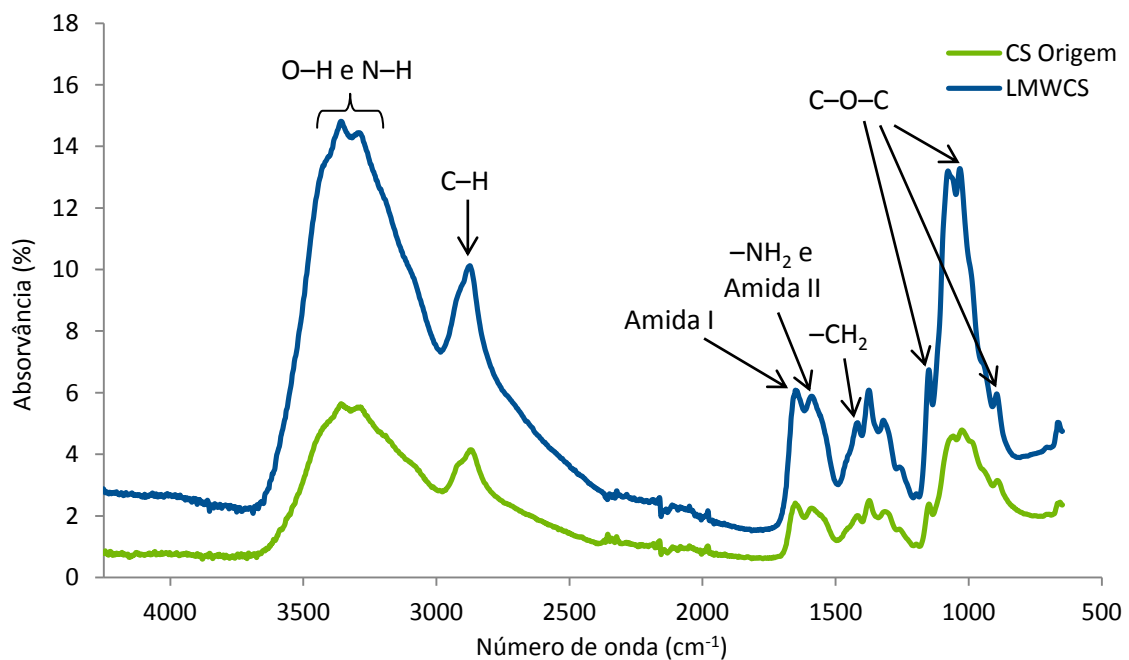


Figura 3.1: Espectros de ATR-FTIR do CS antes e depois da despolimerização com H_2O_2 .

Tabela 3.1: Análise dos espectros de +ATR-FTIR do CS antes e após a despolimerização com H₂O₂.

Nº de onda (cm ⁻¹)	Tipo de vibração [86], [90], [99]
3200-3400	Estiramento das ligações O–H e N–H
2872	Estiramento das ligações C–H
1652	Amida I
1591	–NH ₂ e Amida II
1417	Flexão dos grupos –CH ₂
1030	Estiramento das ligações C–O–C do anel
1150 e 893	Ligação glicosídica β-(1–4)

O quitosano de origem possuía um grau de desacetilação de 75,5% e um peso molecular médio ponderal de 499000. Para determinar o peso molecular do quitosano após a despolimerização com peróxido de hidrogénio foi realizada uma cromatografia de permeação em gel. Os resultados indicam que o peso molecular médio ponderal é de 29000, o que comprova que o processo de despolimerização ocorreu com sucesso.

3.1.2. Caracterização do poliuretano

Após a realização da reacção de síntese do poliuretano estendido com CS e DMPA, numa proporção de 50:50 em termos de grupos funcionais, foram realizadas análises de caracterização química, para garantir que o produto da reacção era o pretendido. Os espectros de ATR-FTIR e ¹H-NMR são apresentados nas figuras 3.3 e 3.4, respectivamente, e a análise dos espectros é apresentada nas tabelas 3.2 e 3.3. Na figura 3.2 apresenta-se a estrutura química do composto.

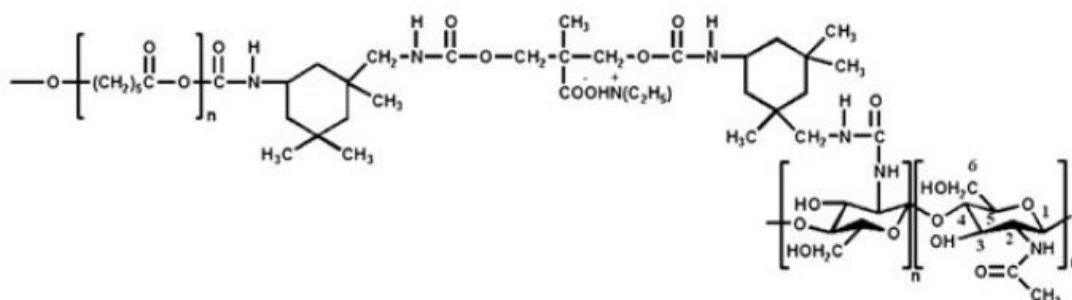


Figura 3.2: Estrutura química do PU à base de CS (retirada de [87]).

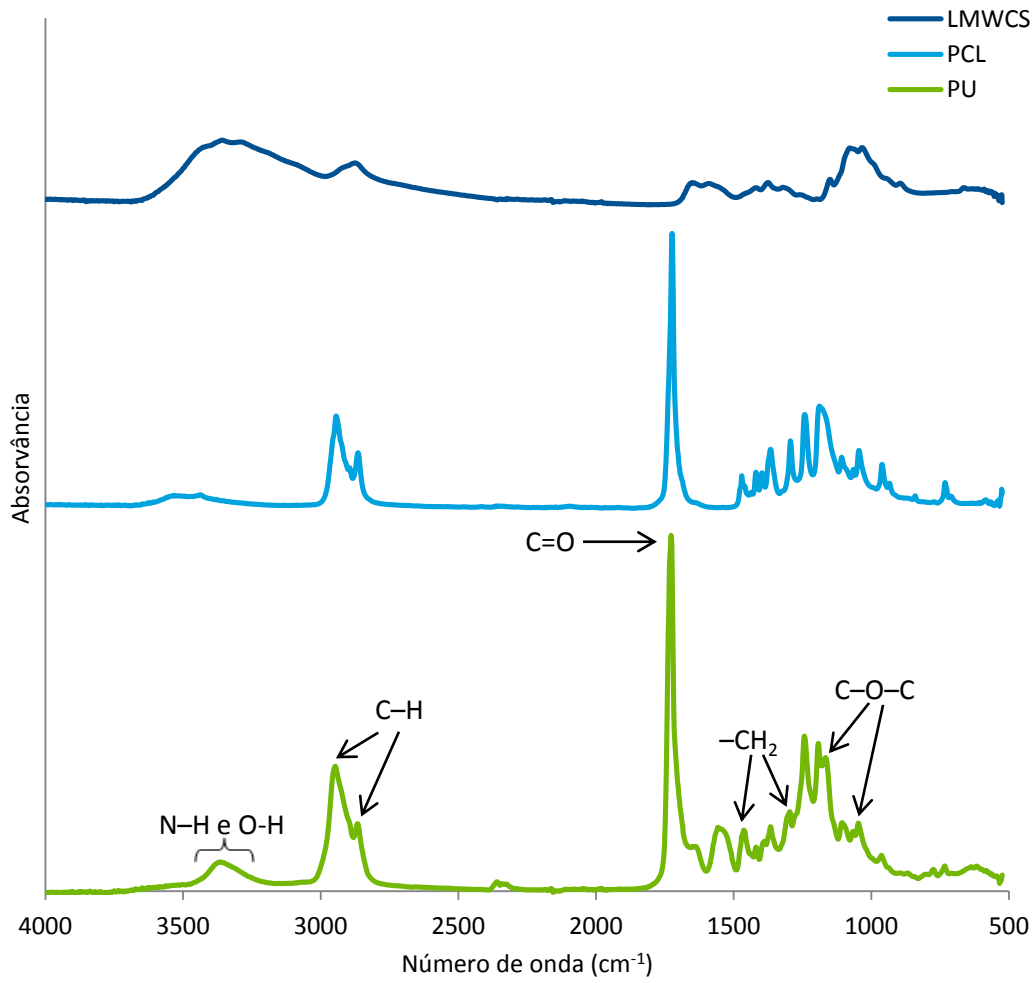


Figura 3.3: Espectros de ATR-FTIR do PCL, CS e PU à base de CS.

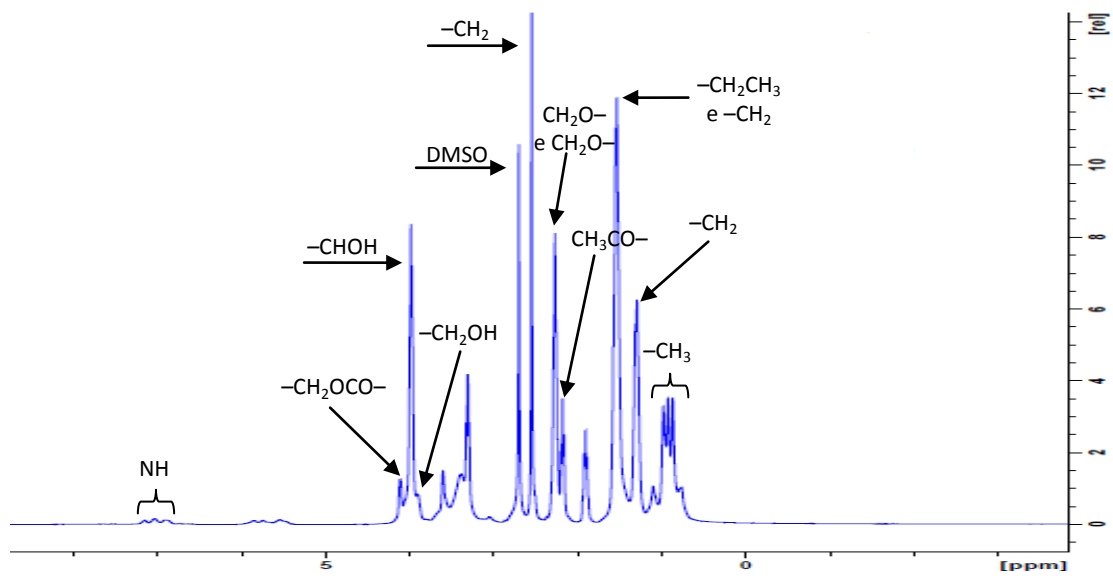


Figura 3.4: Espectro de $^1\text{H-NMR}$ do PU à base de CS.

Tabela 3.2: Análise do espectro de ATR-FTIR do PU à base de CS.

Nº de onda (cm ⁻¹)	Tipo de vibração [87], [89], [100]
3200-3400	Estiramento das ligações N–H e O–H
2948	Estiramento simétrico ligações C–H dos grupos CH ₂
2867	Estiramento anti-simétrico ligações C–H dos grupos CH ₂
1727	Estiramento das ligações C=O (PCL e ligações uretano)
1645	Amida I
1558	Deformação das ligações N–H
1463	Flexão do grupo CH ₂
1366	Flexão da ligação C–H
1296	Balanço do grupo CH ₂
1167	Estiramento das ligações C–O–C (ligação glicosídica do CS)
1047	Estiramento das ligações C–O–C (anel do CS)

Tabela 3.3: Análise do espectro de ¹H-NMR do PU à base de CS.

Desvio químico, δ (ppm)	Grupo [87], [89]
0,81–0,92	–CH ₃ do IPDI
1,24	–CH ₂ da PCL
1,47–1,49	–CH ₂ CH ₃ da TEA e outros grupos –CH ₂
2,12	CH ₃ CO–
2,21	CH ₂ O– e CH ₂ O– do PCL
2,49	–CH ₂ do IPDI
3,84	–CH ₂ OH do CS
3,92	–CHOH do CS
4,05	–CH ₂ OCO–
6,85–7,10	NH do CS e dos grupos uretano

O espectro de $^1\text{H-NMR}$ revela todos os picos esperados para o composto pretendido. No espectro de ATR-FTIR também se podem observar as bandas características do material. O aumento da banda centrada nos 1727 cm^{-1} , comparativamente ao espectro do PCL, é atribuído à formação de ligações uretano, e o deslocamento da banda da amida I para os 1645 cm^{-1} , comparativamente ao espectro do CS, onde surge nos 1652 cm^{-1} , sugere a formação de ligações de hidrogénio entre o CS e o PU. Existe também uma diminuição da banda dos $3200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$, comparativamente ao espectro do CS. Assim, comprova-se que o quitosano ficou ligado na cadeia principal do poliuretano.

3.2. Caracterização de soluções

3.2.1. Determinação da viscosidade intrínseca

Para a caracterização do sistema de PU em DMF/THF numa razão de 30:70 (v/v), determinou-se o valor da viscosidade intrínseca, $[\eta]$.

Na tabela 3.4 são apresentados os valores dos tempos médios de escoamento para as soluções poliméricas, e para o sistema de solventes, t_0 , tendo sido efectuada uma média de 10 tempos de escoamento para cada, bem como os respectivos valores de viscosidade relativa e específica, calculadas através das equações 2.8 e 2.9, apresentadas na secção 2.4.1.

A representação gráfica de $\ln(\eta_{rel})/C$ e η_{sp}/C em função de C , que permite a determinação da viscosidade intrínseca, é mostrada na figura 3.5.

Tabela 3.4: Valores dos tempos médios de escoamento, a uma temperatura de $30,0\pm 0,1^\circ\text{C}$, e respectivos valores de viscosidade relativa e específica.

C (g mL^{-1})	t_i (s)	η_{rel}	η_{sp}
0,001	134,669	1,015	0,015
0,002	137,202	1,034	0,034
0,003	141,576	1,067	0,067
0,004	145,419	1,096	0,096
0,005	150,345	1,133	0,133
	$t_0 = 132,653$		

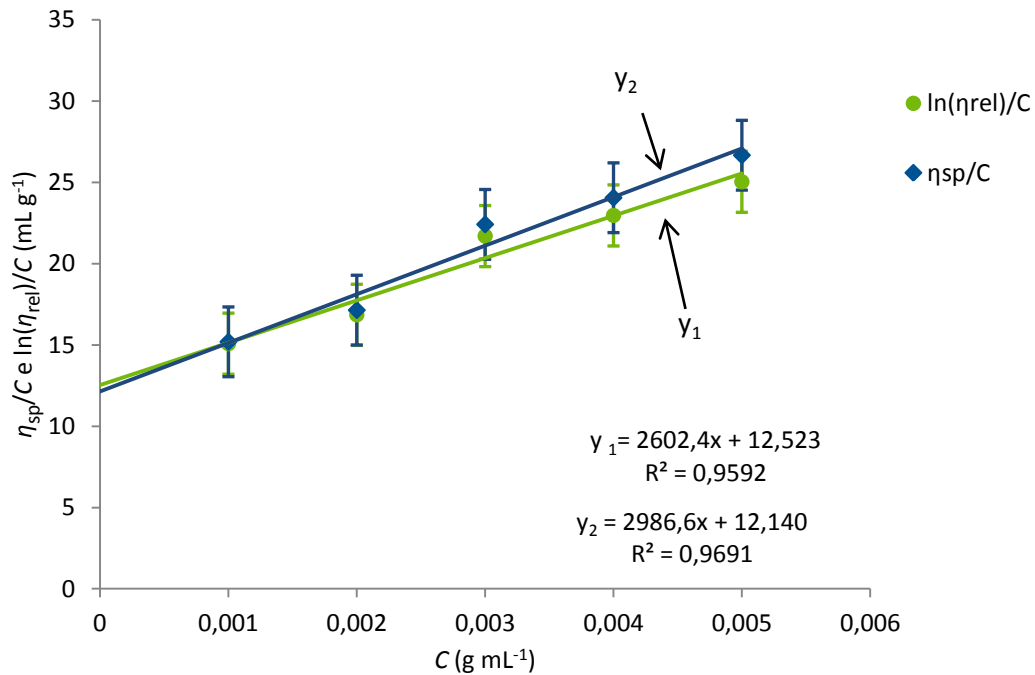


Figura 3.5: Representação gráfica de $\ln(\eta_{rel})/C$ e η_{sp}/C em função de C .

A partir do gráfico obtém-se o valor da viscosidade intrínseca através da extrapolação das funções para $C = 0$, sendo $[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_{rel}}{C}$.

Fazendo uma média dos dois valores obtidos, tem-se $[\eta] = 12,33 \text{ mL g}^{-1}$.

Verifica-se que, mantendo o sistema de solventes e aumentando a concentração de polímero na solução, as viscosidades relativa e específica aumentam de forma linear com o aumento da concentração.

A concentração crítica, C^* , é a concentração necessária para que exista enovelamento das cadeias poliméricas na solução. Quando $C \geq C^*$ as cadeias deixam de estar isoladas e começam a sobrepor-se, ocorrendo interações inter-cadeias. Geralmente, C^* é calculada por $C^* = 1/[\eta]$ [101]. No caso do sistema utilizado têm-se $C^* = 8,11\% (m/v)$.

3.2.2. Avaliação da viscosidade

Ainda a respeito da caracterização de soluções, foi avaliada a variação da viscosidade das soluções com diferentes concentrações (20, 25, 30, 35, 40 e 45% (m/v)). Os resultados obtidos são apresentados na figura 3.6.

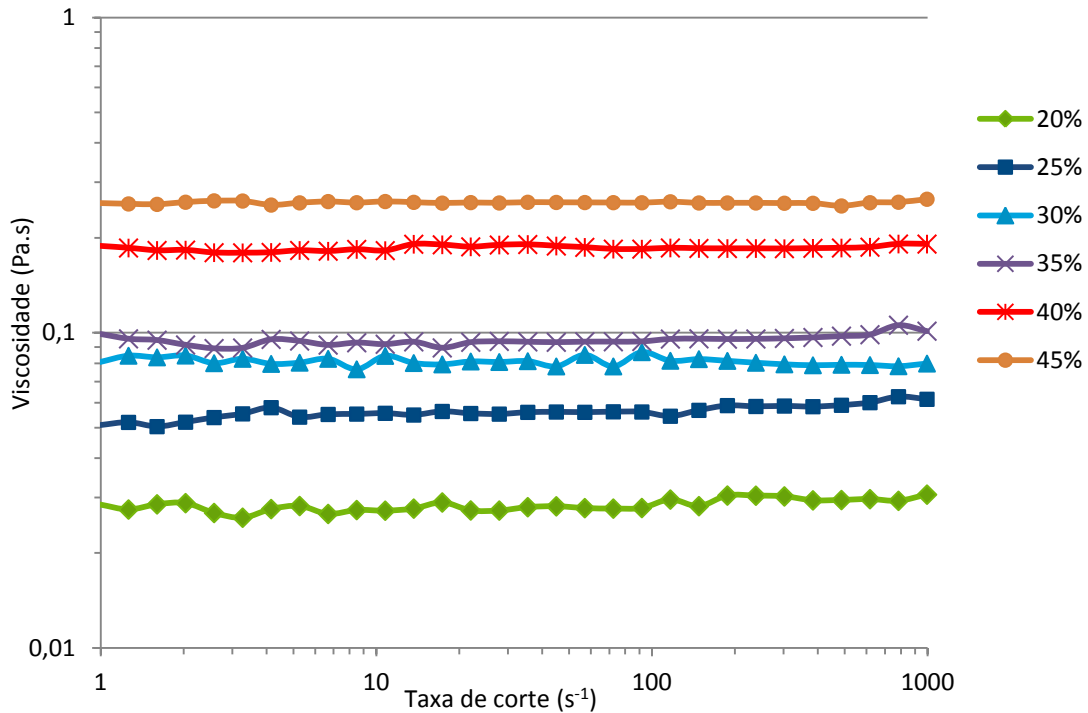


Figura 3.6: Gráfico da viscosidade em função da tensão de corte, para soluções com concentrações de 20, 25, 30, 35, 40 e 45% (*m/v*).

Pode observar-se que com o aumento da concentração, há um aumento da viscosidade. Verifica-se, também, que as soluções se comportam como fluidos newtonianos, uma vez que não há variação da viscosidade com a taxa de corte, obedecendo assim ao estabelecido pela lei de Newton da viscosidade (equação 2.11 da secção 2.4.2).

3.3. Produção e caracterização de membranas

3.3.1. Estudo dos parâmetros do processo de electrofiação

A concentração da solução, a distância entre a agulha e o colector, o tipo de colector, o caudal e a tensão aplicada são parâmetros importantes no processo de electrofiação, que influenciam fortemente a morfologia das fibras. Assim, foi realizado um estudo prévio de modo a seleccionar as melhores condições para a produção de uma membrana com o mínimo de defeitos possíveis e com a morfologia mais adequada.

A tabela 3.5 esquematiza o diagrama de experiências iniciais efectuadas para a electrofiação utilizando um colector estático e papel de alumínio como substrato. Foram estudados dois potenciais ($V_1 = 10$ e $V_2 = 15$ kV), seis concentrações ($C_1 = 10$, $C_2 = 15$, $C_3 = 20$, $C_4 = 25$, $C_5 = 30$, $C_6 = 35\%$ (*m/v*)), duas distâncias ($d_1 = 10$ e $d_2 = 15$ cm) e três caudais ($r_1 = 0,05$; $r_2 = 0,10$ e $r_3 = 0,15$ mL h⁻¹).

Tabela 3.5: Diagrama dos ensaios realizados para o estudo da influência dos parâmetros no processo de electrofiação, utilizando um colector estático e concentrações de 10, 15, 20, 25, 30 e 35% (m/v).

C_i	V_1	d_1	r_1
			r_2
			r_3
		d_2	r_1
			r_2
			r_3
	V_2	d_1	r_1
			r_2
			r_3
d_2		r_1	
		r_2	
		r_3	

Independentemente da variação dos restantes parâmetros, utilizando concentrações de 10 e 15% obtinham-se, sobretudo, contas e projecções. Na figura 3.7 é apresentada uma imagem representativa para estas concentrações.

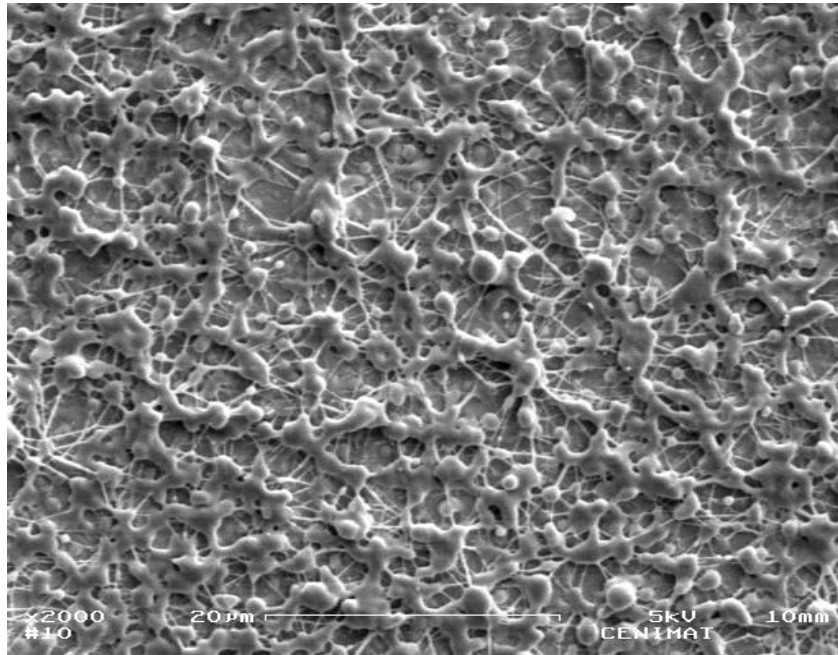


Figura 3.7: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 10\%$ (m/v), $V = 15$ kV, $d = 10$ cm e $r = 0,05$ mL h^{-1} .

Utilizando as concentrações de 20 e 25%, houve um maior aparecimento de fibras e uma redução nos defeitos, no entanto, continuavam a formar-se contas. Na figura 3.8 é apresentada uma imagem representativa para estas concentrações.

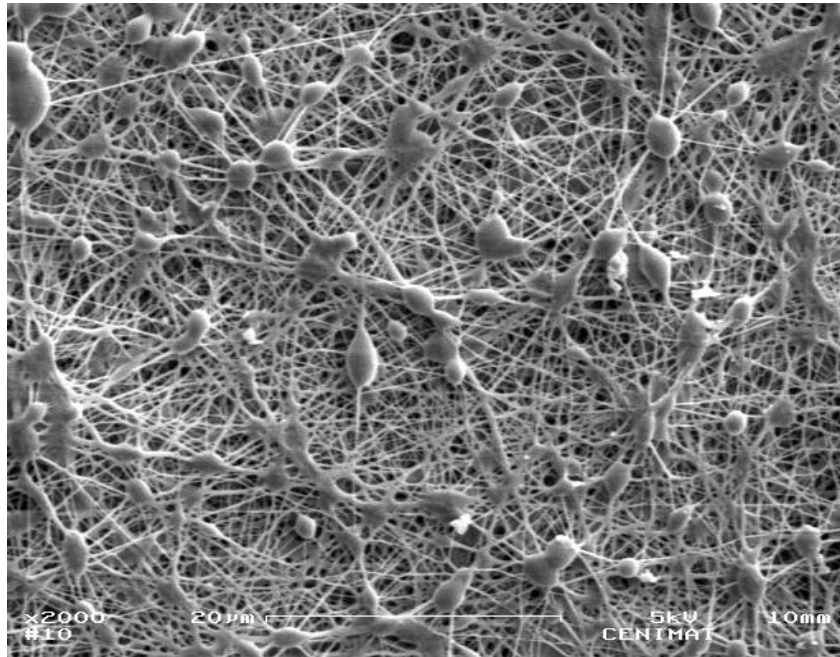


Figura 3.8: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 20\%$ (m/v), $V = 15$ kV, $d = 15$ cm e $r = 0,10$ mL h^{-1} .

A partir da concentração de 30% deixaram de formar-se contas. No entanto, tanto para esta concentração como para a de 35% as fibras apresentavam alguma fusão e elevada dispersão de diâmetros. Na figura 3.9 é apresentada uma imagem representativa para estas concentrações.

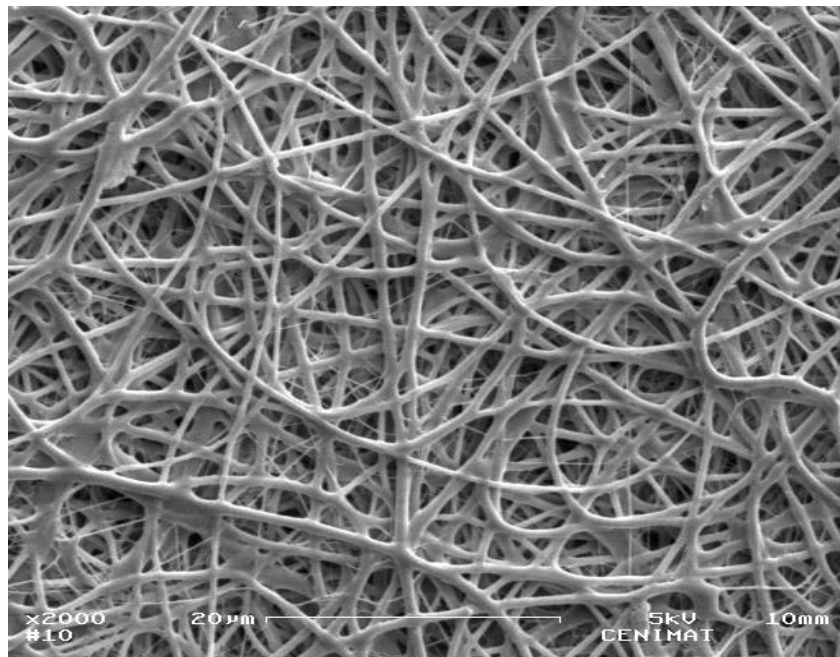


Figura 3.9: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 30\%$ (m/v), $V = 10$ kV, $d = 10$ cm e $r = 0,05$ mL h^{-1} .

Para tentar resolver o problema da elevada dispersão de diâmetros e da fusão das fibras, foram realizados novos ensaios, novamente com o colector estático, mas usando dois tipos de substratos diferentes (papel de alumínio, S_1 , e cartão, S_2) e uma relação tensão/distância de 1 kV/1 cm, utilizando assim $V_2 = 15$ kV e $d_2 = 15$ cm, e $V_3 = 20$ kV e $d_3 = 20$ cm. Foram estudadas três concentrações ($C_6 = 35$, $C_7 = 40$, $C_8 = 45\%$ (m/v)) e três caudais ($r_1 = 0,05$, $r_2 = 0,10$ e $r_3 = 0,15$ mL h^{-1}). A tabela 3.6 esquematiza o diagrama de experiências realizadas nesta etapa.

Tabela 3.6: Diagrama dos ensaios realizados para o estudo da influência dos parâmetros no processo de electrofiação utilizando um colector de estático e concentrações de 35, 40 e 45% (m/v).

C_i	S_1	V_2, d_2	r_1
			r_2
			r_3
		V_3, d_3	r_1
			r_2
			r_3
	S_2	V_2, d_2	r_1
			r_2
			r_3
V_3, d_3		r_1	
		r_2	
		r_3	

Os problemas persistiram, apesar da utilização de novos parâmetros. Nas figuras 3.10 e 3.11 são apresentadas imagens das fibras utilizando como substrato papel de alumínio e cartão, respectivamente, uma concentração de 45% (m/v), tensão de 20 kV, distância de 20 cm e caudal de 0,15 mL h^{-1} , verificando-se que não há nenhuma alteração significativa.

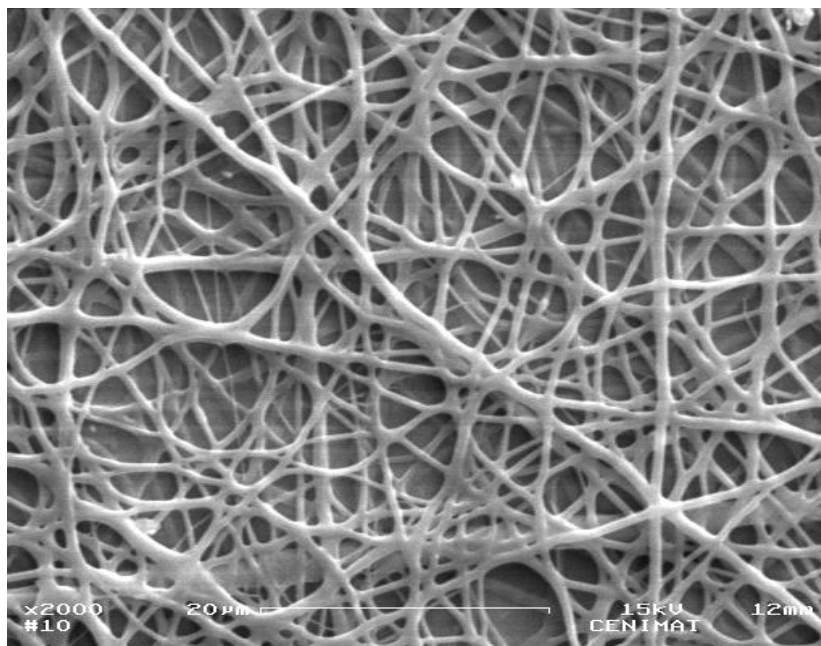


Figura 3.10: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, papel de alumínio como substrato, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV, $d = 20$ cm e $r = 0,15$ mL h^{-1} .

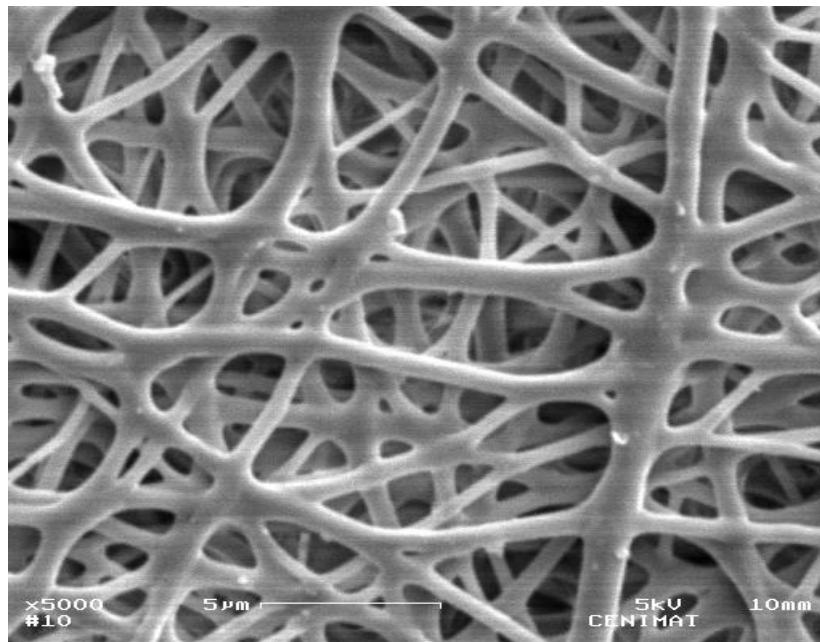


Figura 3.11: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo estático, cartão como substrato, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV, $d = 20$ cm e $r = 0,15$ mL h⁻¹.

A morfologia e diâmetro das fibras dependem do enovelamento das cadeias poliméricas em solução, que está relacionado com o número de Berry, B_e [102]:

$$B_e = [\eta]C \quad \text{Equação 3.1}$$

Na tabela 3.7 são apresentados os números de Berry para as respectivas concentrações e a morfologia das fibras correspondentes.

Tabela 3.7: Números de Berry para as respectivas concentrações e a morfologia das fibras correspondentes.

C (g.ml ⁻¹)	B_e	Morfologia
0,10	1,23	Contas e projecções
0,15	1,85	
0,20	2,47	Fibras com contas
0,25	3,08	
0,30	3,70	Fibras fundidas
0,35	4,32	
0,40	4,93	
0,45	5,55	

Pode observar-se que para valores de número de Berry inferiores a 2 não há formação de fibras. Por outro lado, para valores entre 2 e 4 observa-se a produção de fibras, mas com contos. Para valores superiores a 4 existe fusão de fibras.

Uma vez que não foi possível eliminar todos os defeitos das fibras, e a concentração já era bastante elevada, foi tentada uma nova abordagem. Em vez de ser utilizado um colector estático, usou-se um colector de eléctrodos paralelos (figura 3.12), produzindo assim fibras alinhadas e suspensas. Foi utilizada a concentração $C_8 = 45\%$ (m/v), a tensão $V_3 = 20$ kV, o caudal $r_3 = 0,15$ mL h⁻¹, duas distâncias entre a ponta da agulha e o colector ($d_2 = 15$ e $d_3 = 20$ cm) e duas distâncias entre os eléctrodos ($d_{el1} = 1$ e $d_{el2} = 2$ cm). A tabela 3.8 esquematiza o diagrama de experiências realizadas nesta etapa.



Figura 3.12: Colector de eléctrodos paralelos.

Tabela 3.8: Diagrama dos ensaios realizados para o estudo da influência dos parâmetros no processo de electrofiação utilizando um colector de eléctrodos paralelos.

C_8, V_3, r_3	d_2	d_{el1}
		d_{el2}
	d_3	d_{el1}
		d_{el2}

Para qualquer um dos ensaios foram obtidas fibras sem defeitos e com uma dispersão de diâmetros menor (figuras 3.13, 3.14, 3.15 e 3.16).

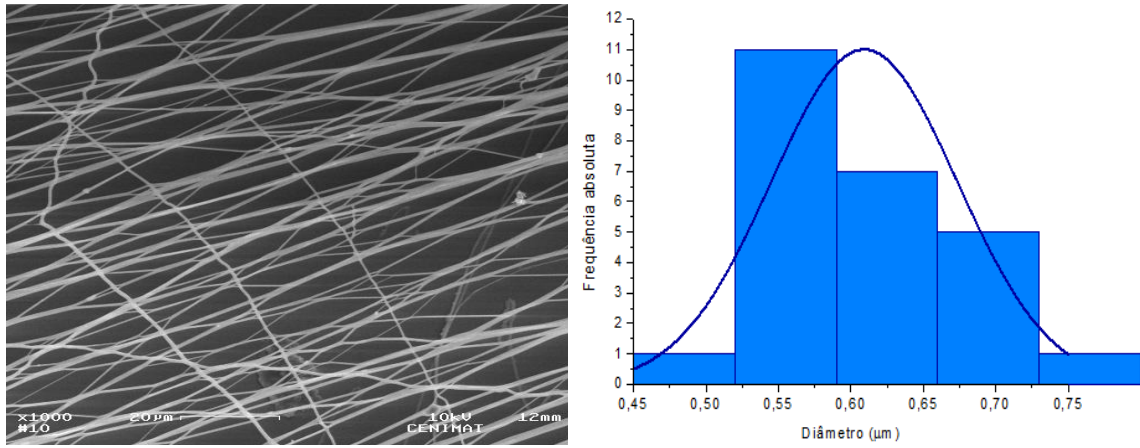


Figura 3.13: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofição utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $d_{el} = 1$ cm, $d = 15$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h^{-1} , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.

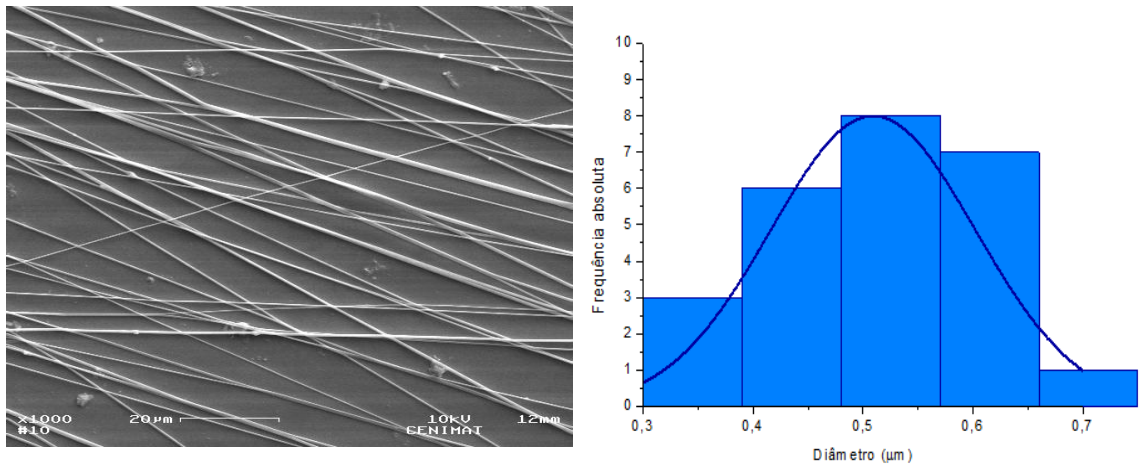


Figura 3.14: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofição utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $d_{el} = 1$ cm, $d = 20$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h^{-1} , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.

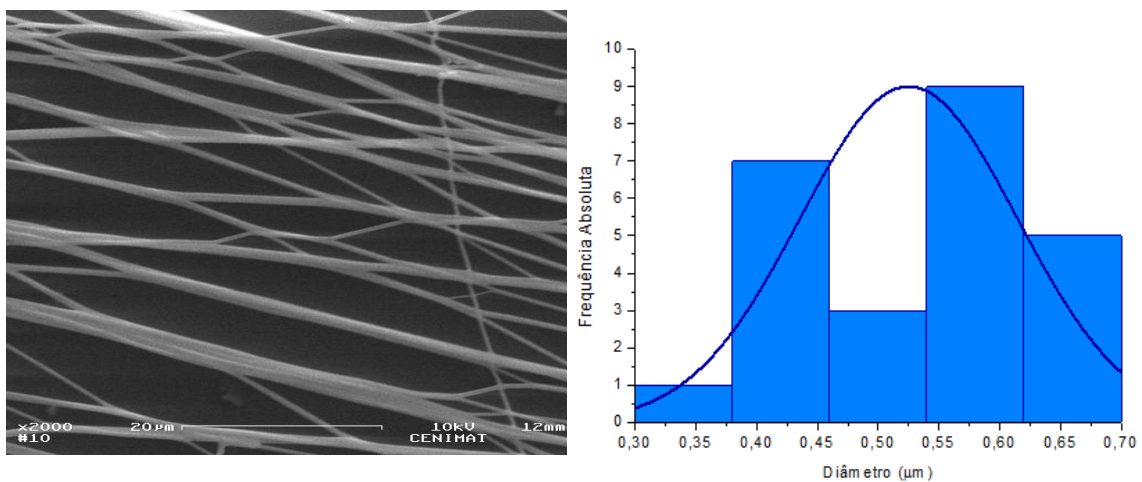


Figura 3.15: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofição utilizando alvo de eléctrodos paralelos, $d_{el} = 2$ cm, $d = 15$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h^{-1} , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.

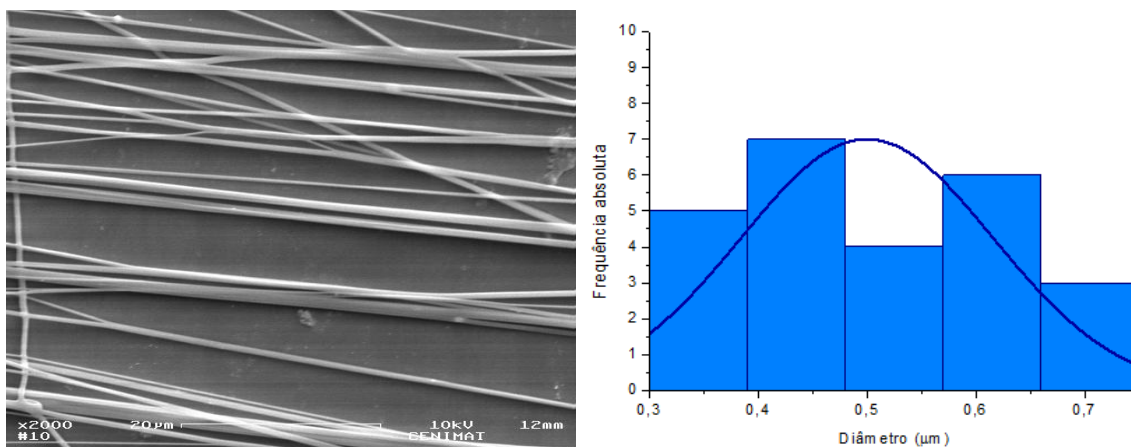


Figura 3.16: Imagem SEM das fibras produzidas por electrofiação utilizando alvo de eléctrodos paralelos, , $d_{el} = 2$ cm, $d = 20$ cm, $C = 45\%$ (m/v), $V = 20$ kV e $r = 0,15$ mL h^{-1} , e respectivo histograma dos valores de diâmetro.

A tabela 3.9 apresenta os diâmetros médios e respectivos desvios padrões das fibras obtidas.

Tabela 3.9: Diâmetros médios e desvios padrões das fibras produzidas por electrofiação utilizando um colector de eléctrodos paralelos.

Distância do colector (cm)	Distância dos eléctrodos (cm)	Diâmetros (μm)
15	1	$0,609 \pm 0,064$
	2	$0,509 \pm 0,093$
20	1	$0,525 \pm 0,089$
	2	$0,500 \pm 0,116$

Analisando a tabela, observa-se que o diâmetro diminui com o aumento da distância entre a agulha e o colector e com o aumento da distância entre os eléctrodos. Tipicamente, o aumento da distância do capilar ao colector origina fibras de maiores diâmetros. A tendência inversa aqui verificada pode ser devida a alterações das linhas de campo, por terem sido utilizados eléctrodos paralelos como colector. No que diz respeito à variação do diâmetro em

função da distância entre os eléctrodos, os resultados obtidos são os esperados, uma vez que o aumento da distância entre os eléctrodos provoca um maior estiramento das fibras.

Foram testadas distâncias maiores entre os eléctrodos para a concentração de 45% (m/v), tensão de 20 kV, distância entre a ponta da agulha e o colector de 15 cm, e caudal de $0,15 \text{ mL h}^{-1}$, não havendo formação de fibras suspensas. As fibras tornam-se demasiado finas para suportarem o próprio peso.

Uma vez que se pretendem fibras sem defeitos e com a menor dispersão de diâmetros possível, concluiu-se que os parâmetros ideais para o processo de electrofiação de membranas de poliuretano à base de quitosano são um alvo de eléctrodos paralelos, uma concentração de 45% (m/v), uma distância entre a ponta da agulha e o colector de 15 cm, uma distância entre eléctrodos de 1 cm e um caudal de $0,15 \text{ mL h}^{-1}$.

3.3.2. Caracterização das propriedades mecânicas das membranas

Para caracterizar as propriedades mecânicas das membranas obtidas pelo processo de electrofiação foram determinados o módulo de Young e a resistência à tracção.

Na figura 3.17 é apresentada uma curva de tracção típica das membranas de poliuretano à base de quitosano produzidas.

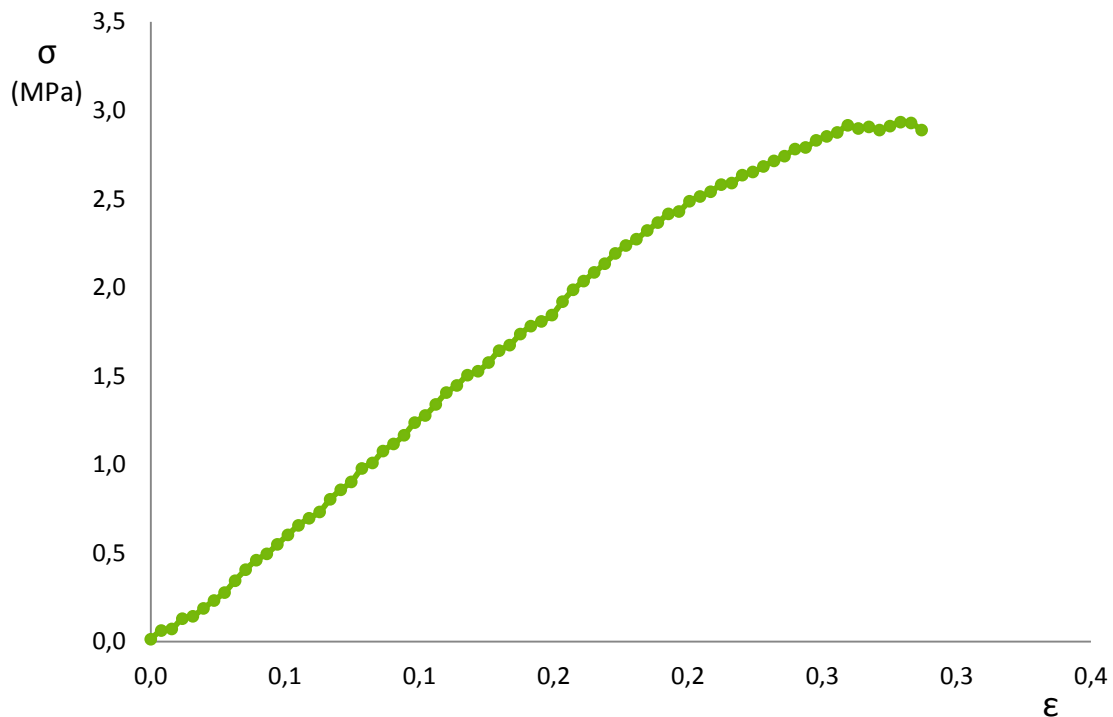


Figura 3.17: Curva de tracção de uma membrana de poliuretano à base de quitosano.

Pela observação do gráfico, verifica-se que o material possui sobretudo um comportamento elástico, apresentando uma região plástica reduzida antes de alcançar a rotura.

A resistência à tracção é determinada directamente a partir do gráfico e verificou-se ser de $(2,58 \pm 0,35)$ MPa.

O módulo de Young foi determinado a partir da relação de proporcionalidade entre a deformação e a tensão, dada pela lei de Hooke (equação 2.14 da secção 2.5.3), da região de deformação elástica identificada em cada gráfico. O módulo de Young obtido foi de $(15,20 \pm 3,32)$ MPa.

Embora este valor para o módulo de Young seja relativamente baixo comparando com os materiais de sutura disponíveis, que costuma encontrar-se entre os 100 e os 300 MPa [103], esta propriedade poderá ser alterada ajustando o rácio de quitosano utilizado para a síntese do poliuretano.

Capítulo 4

Conclusões e Perspectivas Futuras

Conclusões e Perspectivas Futuras

Neste capítulo são apresentados as principais conclusões deste trabalho. Para finalizar, é dada uma perspectiva quanto ao trabalho que ainda está por realizar e são feitas algumas sugestões.

4.1. Conclusões

O presente projecto tinha por objectivo o desenvolvimento de um fio de sutura à base de poliuretanos e de quitosano.

O quitosano possui propriedades biológicas benéficas na regeneração de tecidos, mas as propriedades físicas das fibras compostas unicamente por este polímero não são as desejadas para um fio de sutura, devido à sua rigidez e falta de elasticidade. Assim, foi desenvolvida uma nova abordagem para a produção da sutura, usando como material um poliuretano à base de quitosano, combinando as vantagens oferecidas pelas propriedades físicas e biológicas dos dois polímeros. Deste material foram produzidas membranas através do processo de electrofiação com potencial para serem utilizadas na produção de fios de sutura.

Tendo em atenção o objectivo final, iniciou-se o projecto com a produção de quitosano de baixo peso molecular, recorrendo ao processo de despolimerização com peróxido de hidrogénio. O quitosano obtido foi caracterizado por análise de ATR-FTIR e GPC, revelando que não tinha sido modificado quimicamente e que tinha sofrido uma redução no peso molecular. O quitosano de baixo peso molecular produzido foi, então, utilizado na síntese de um poliuretano à base de quitosano. Pela caracterização química realizada ao produto final da reacção, através de análises de ATR-FTIR e $^1\text{H-RMN}$, verificou-se que o quitosano se encontrava quimicamente ligado no poliuretano e que o produto era o desejado.

Depois desta etapa, as soluções a usar na técnica de electrofiação foram caracterizadas e foi realizado um estudo dos parâmetros mais favoráveis ao processo. Concluiu-se que estes correspondiam a uma concentração de 45% (m/v) para o sistema de solventes de DMF/THF numa razão de 30:70 (v/v), utilizando um alvo de eléctrodos paralelos, com uma distância de 1 cm entre os eléctrodos e uma distância de 15 cm à ponta da agulha, uma tensão de 20 kV e um caudal de 15 mL h^{-1} . As fibras, produzidas por este processo, possuíam um diâmetro de $(0,609 \pm 0,064) \mu\text{m}$.

As propriedades mecânicas das membranas produzidas foram avaliadas através de ensaios de tracção. Verificou-se que as membranas de poliuretano à base de quitosano possuíam um módulo de Young e uma resistência à tracção de $(15,20 \pm 3,32)$ e $(2,58 \pm 0,35)$ MPa, respectivamente.

Embora este valor para o módulo de Young seja relativamente baixo comparando com os materiais de sutura disponíveis, que costuma encontrar-se entre os 100 e os 300 MPa [103], esta propriedade poderá ser alterada ajustando o rácio de quitosano utilizado para a síntese do poliuretano.

4.2. Perspectivas Futuras

Embora se trate de um estudo inicial, este trabalho sugere o potencial de membranas de poliuretano à base de quitosano, obtidas por electrofiação, na produção de fios de sutura.

No entanto, foi verificado ao longo dos estudos efectuados a dificuldade em se produzir membranas com espessura e dimensões satisfatórias, pelo que existe a necessidade de otimizar o processo de electrofiação de modo a serem obtidas membranas mais viáveis para a realização de testes e para a produção do fio.

É ainda necessário aprofundar os estudos sobre as propriedades biológicas das membranas. Apesar de os polímeros utilizados serem biocompatíveis e utilizados em aplicações biomédicas, seria importante realizar testes de biocompatibilidade, bem como de biodegradação, para determinar a durabilidade do material no corpo.

Seria, também, interessante estudar o efeito da variação do rácio do quitosano nas propriedades biológicas e mecânicas do material com a variação do rácio de quitosano, de modo a poderem ser optimizadas, sobretudo, por forma a atingir-se um valor para o módulo de Young mais elevado.

Por fim, uma vez que as membranas se destinam à produção de fios de sutura, seria importante:

- ✓ realizar estudos mais aprofundados das suas propriedades mecânicas;
- ✓ avaliar a capilaridade;
- ✓ determinar as características de manuseamento do fio e a sua segurança nos nós, através do uso de um protótipo.

Referências

- [1] C. K. S. Pillai and C. P. Sharma, "Review Paper: Absorbable Polymeric Surgical Sutures: Chemistry, Production, Properties, Biodegradability, and Performance," *Journal of Biomaterials Applications*, vol. 25, no. 4, pp. 291–366, 2010.
- [2] V. A. Zhukovskii, "Problems and prospects for development and production of surgical suture materials," *Fibre Chemistry*, vol. 40, no. 3, pp. 208–216, 2008.
- [3] K. A. Patel and W. E. G. Thomas, "Sutures, ligatures and staples," *Surgery (Oxford)*, vol. 23, no. 2, pp. 56–60, 2005.
- [4] J. A. Greenberg and R. M. Clark, "Advances in Suture Material for Obstetric and Gynecologic Surgery," *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, vol. 2, no. 3, pp. 146–158, 2009.
- [5] M. H. Kudur, S. B. Pai, H. Sripathi, and S. Prabhu, "Sutures and suturing techniques in skin closure," *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, vol. 75, no. 4, pp. 425–434, 2009.
- [6] R. L. Moy, B. Waldman, and D. W. Hein, "A review of sutures and suturing techniques," *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, vol. 18, no. 9, pp. 785–795, 1992.
- [7] R. G. Bennett, "Selection of wound closure materials," *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 18, no. 4, pp. 619–637, 1988.
- [8] U. A. Dietz, F. Kehl, W. Hamelmann, and C. Weisser, "On the 100th anniversary of sterile catgut kuhn: Franz Kuhn (1866-1929) and the epistemology of catgut sterilization," *World Journal of Surgery*, vol. 31, no. 12, pp. 2275–2283, 2007.
- [9] D. Mackenzie, "The History of Sutures," *Medical History*, vol. 17, no. 2, pp. 158–168, 1973.
- [10] P. Ducheyne, Ed., *Comprehensive Biomaterials*. 2011.
- [11] R. E. Barham, G. W. Butz, and J. S. Ansell, "Comparison of wound strength in normal, radiated and infected tissues closed with polyglycolic and chromic catgut sutures.," *Surgery, Gynecology & Ibstetrics*, vol. 146, no. 6, pp. 901–907, 1978.
- [12] G. M. Mikhailov and M. F. Lebedeva, "Procedures for preparing chitin-based fibers," *Russian Journal of Applied Chemistry*, vol. 80, no. 5, pp. 685–694, 2007.
- [13] M. Nakajima, K. Atsumi, K. Kifune, K. Miura, and H. Kanamaru, "Chitin is an effective material for sutures," *The Japanese Journal of Surgery*, vol. 16, no. 6, pp. 418–424, 1986.
- [14] C. K. S. Pillai, W. Paul, and C. P. Sharma, "Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation," *Progress in Polymer Science*, vol. 34, no. 7, pp. 641–678, 2009.

- [15] K. M. Zia, M. Barikani, M. Zuber, I. A. Bhatti, and M. Barmar, "Surface characteristics of polyurethane elastomers based on chitin/1,4-butane diol blends," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 44, no. 2, pp. 182–185, 2009.
- [16] K. M. Zia, M. Zuber, I. A. Bhatti, M. Barikani, and M. A. Sheikh, "Evaluation of biocompatibility and mechanical behavior of polyurethane elastomers based on chitin/1,4-butane diol blends," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 44, no. 1, pp. 18–22, 2009.
- [17] Chu C. C., *High-Tech Fibrous Materials*, vol. 457. American Chemical Society, 1991, pp. 167–211.
- [18] B. Gupta, R. Jain, N. Anjum, and H. Singh, "Preparation of antimicrobial sutures by preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament. III. Hydrolysis of the grafted suture," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 94, no. 6, pp. 2509–2516, 2004.
- [19] M. B. Fedorov, G. A. Vikhoreva, N. R. Kil'deeva, O. N. Mokhova, G. A. Bonartseva, and L. S. Gal'braikh, "Antimicrobial activity of core-sheath surgical sutures modified with poly-3-hydroxybutyrate," *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 43, no. 6, pp. 611–615, 2007.
- [20] N. Anjum, S. K. H. Gulrez, H. Singh, and B. Gupta, "Development of antimicrobial polypropylene sutures by graft polymerization. I. Influence of grafting conditions and characterization," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 101, no. 6, pp. 3895–3901, 2006.
- [21] J.-C. Harnet, E. Le Guen, V. Ball, H. Tenenbaum, J. Ogier, Y. Haikel, and C. Vodouhê, "Antibacterial protection of suture material by chlorhexidine-functionalized polyelectrolyte multilayer films," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 20, no. 1, pp. 185–193, 2009.
- [22] A. Greiner and J. H. Wendorff, "Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 46, no. 30, pp. 5670–5703, 2007.
- [23] D. Li and Y. Xia, "Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel?," *Advanced Materials*, vol. 16, no. 14, pp. 1151–1170, 2004.
- [24] Lord Rayleigh, "On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity," *Philosophical Magazine Series 5*, vol. 14, no. 87, pp. 184–186, 1882.
- [25] J. Zeleny, "The Electrical Discharge from Liquid Points, and a Hydrostatic Method of Measuring the Electric Intensity at Their Surfaces," *Physical Review*, vol. 3, no. 2, pp. 69–91, 1914.
- [26] A. Formhals, "Process and apparatus for preparing artificial threads," U.S. Patent 1975504, 1934.
- [27] G. Taylor, "Electrically Driven Jets," *Proceedings of Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, vol. 313, no. 1515, pp. 453–475, 1969.

- [28] Z.-M. Huang, Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites," *Composites Science and Technology*, vol. 63, no. 15, pp. 2223–2253, 2003.
- [29] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, "Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnology Advances*, vol. 28, no. 3, pp. 325–347, 2010.
- [30] P. Q. Franco, J. Silva, and J. P. Borges, "Produção de fibras de hidroxiapatite por electrofiação," *Ciência & Tecnologia dos Materiais*, vol. 22, no. 1/2, pp. 57–64, 2010.
- [31] D. Li, Y. Wang, and Y. Xia, "Electrospinning of Polymeric and Ceramic Nanofibers as Uniaxially Aligned Arrays," *Nano Letters*, vol. 3, no. 8, pp. 1167–1171, 2003.
- [32] V. Beachley and X. Wen, "Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 29, no. 3, pp. 663–668, 2009.
- [33] H. Wang, H. Tang, J. He, and Q. Wang, "Fabrication of aligned ferrite nanofibers by magnetic-field-assisted electrospinning coupled with oxygen plasma treatment," *Materials Research Bulletin*, vol. 44, no. 8, pp. 1676–1680, 2009.
- [34] J. S. Neto, *Produção e Caracterização de Biobaterias a partir de Matrizes de Nano-Microfibras*. Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2010.
- [35] C. Rouget, "Des substances amylicées dans les tissus des animaux, spécialement des Articulés (chitine)," *Compte Rendus*, vol. 48, pp. 792–795, 1859.
- [36] M. A. Meyers, P.-Y. Chen, A. Y.-M. Lin, and Y. Seki, "Biological materials: Structure and mechanical properties," *Progress in Materials Science*, vol. 53, no. 1, pp. 1–206, 2008.
- [37] M. N. . Ravi Kumar, "A review of chitin and chitosan applications," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 46, no. 1, pp. 1–27, 2000.
- [38] P. K. Dutta, J. Dutta, and V. S. Tripathi, "Chitin and chitosan : Chemistry , properties and applications," *Journal of Scientific & Industrial Research*, vol. 63, pp. 20–31, 2004.
- [39] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: Properties and applications," *Progress in Polymer Science*, vol. 31, no. 7, pp. 603–632, 2006.
- [40] B. Krajewska, "Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 35, no. 2–3, pp. 126–139, 2004.
- [41] F. Tian, Y. Liu, K. Hu, and B. Zhao, "Study of the depolymerization behavior of chitosan by hydrogen peroxide," *Carbohydrate Polymers*, vol. 57, no. 1, pp. 31–37, 2004.
- [42] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, and E. Chiellini, "Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications," *Progress in Polymer Science*, vol. 36, no. 8, pp. 981–1014, 2011.

- [43] K. P. Kannan, T. S. George, K. S. S. Guru, and N. S. Vasanthi, "Extraction, purification and characterization of chitosan from endophytic fungi isolated from medicinal plants," *World Journal of Science and Technology*, vol. 1, no. 4, pp. 43–48, 2011.
- [44] K. Kurita, "Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans," *Marine Biotechnology*, vol. 8, no. 3, pp. 203–226, 2006.
- [45] A. Tolaimate, J. Desbrières, M. Rhazi, A. Alagui, M. Vincendon, and P. Vottero, "On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin," *Polymer*, vol. 41, no. 7, pp. 2463–2469, 2000.
- [46] I.-Y. Kim, S.-J. Seo, H.-S. Moon, M.-K. Yoo, I.-Y. Park, B.-C. Kim, and C.-S. Cho, "Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications," *Biotechnology Advances*, vol. 26, no. 1, pp. 1–21, 2008.
- [47] A. K. Azad, N. Sermsintham, S. Chandkrachang, and W. F. Stevens, "Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application.," *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, vol. 69, no. 2, pp. 216–222, 2004.
- [48] S. P. Ramnani and S. Sabharwal, "Adsorption behavior of Cr(VI) onto radiation crosslinked chitosan and its possible application for the treatment of wastewater containing Cr(VI)," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 66, no. 9, pp. 902–909, 2006.
- [49] J. H. Park, G. Saravanakumar, K. Kim, and I. C. Kwon, "Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 62, no. 1, pp. 28–41, 2010.
- [50] Y. Du, X.-L. Luo, J.-J. Xu, and H.-Y. Chen, "A simple method to fabricate a chitosan-gold nanoparticles film and its application in glucose biosensor," *Bioelectrochemistry*, vol. 70, no. 2, pp. 342–347, 2007.
- [51] Shahidi F., Arachchi J.K.V., and Jeon Y.-J., "Food applications of chitin and chitosans," *Trends in Food Science and Technology*, vol. 10, no. 2, pp. 37–51, 1999.
- [52] G. Galed, B. Miralles, I. Panos, A. Santiago, and A. Heras, "N-Deacetylation and depolymerization reactions of chitin/chitosan: Influence of the source of chitin," *Carbohydrate Polymers*, vol. 62, no. 4, pp. 316–320, 2005.
- [53] M.-K. Jang, B.-G. Kong, Y.-I. Jeong, C. H. Lee, and J.-W. Nah, "Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources," *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, vol. 42, no. 14, pp. 3423–3432, 2004.
- [54] I. Aranaz, M. Mengíbar, R. Harris, I. Paños, B. Miralles, N. Acosta, G. Galed, and Á. Heras, "Functional Characterization of Chitin and Chitosan," *Current Chemical Biology*, vol. 3, no. 2, pp. 203–230, 2009.
- [55] S. Senel and S. J. McClure, "Potential applications of chitosan in veterinary medicine," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, no. 10, pp. 1467–1480, 2004.

- [56] H. Yi, L.-Q. Wu, W. E. Bentley, R. Ghodssi, G. W. Rubloff, J. N. Culver, and G. F. Payne, "Biofabrication with Chitosan," *Biomacromolecules*, vol. 6, no. 6, pp. 2881–2894, 2005.
- [57] W.-S. Choi, K.-J. Ahn, D.-W. Lee, M.-W. Byun, and H.-J. Park, "Preparation of chitosan oligomers by irradiation," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 78, no. 3, pp. 533–538, 2002.
- [58] Z. Jia and D. Shen, "Effect of reaction temperature and reaction time on the preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid," *Carbohydrate Polymers*, vol. 49, no. 4, pp. 393–396, 2002.
- [59] J.-W. Nah and M.-K. Jang, "Spectroscopic characterization and preparation of low molecular, water-soluble chitosan with free-amine group by novel method," *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, vol. 40, no. 21, pp. 3796–3803, 2002.
- [60] Y. M. Yang, W. Hu, X. D. Wang, and X. S. Gu, "The controlling biodegradation of chitosan fibers by N-acetylation in vitro and in vivo," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 18, no. 11, pp. 2117–2121, 2007.
- [61] K. Kurita, Y. Kaji, T. Mori, and Y. Nishiyama, "Enzymatic degradation of β -chitin: susceptibility and the influence of deacetylation," *Carbohydrate Polymers*, vol. 42, no. 1, pp. 19–21, 2000.
- [62] B. Sarmiento and J. Neves, Eds., *Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: Delivery, Targeting and Polymer Therapeutics*. 2012.
- [63] S. Aiba, "Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially N-acetylated chitosans," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 14, no. 4, pp. 225–228, 1992.
- [64] Y. Shigemasa, K. Saito, H. Sashiwa, and H. Saimoto, "Enzymatic degradation of chitins and partially deacetylated chitins," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 16, no. 1, pp. 43–49, 1994.
- [65] H. Zhang and S. H. Neau, "In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation," *Biomaterials*, vol. 22, no. 12, pp. 1653–1658, 2001.
- [66] M. Huang, E. Khor, and L.-Y. Lim, "Uptake and Cytotoxicity of Chitosan Molecules and Nanoparticles: Effects of Molecular Weight and Degree of Deacetylation," *Pharmaceutical Research*, vol. 21, no. 2, pp. 344–353, 2004.
- [67] C. Chatelet, O. Damour, and A. Domard, "Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films," *Biomaterials*, vol. 22, no. 3, pp. 261–268, 2001.
- [68] S. S. Koide, "Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks," *Nutrition Research*, vol. 18, no. 6, pp. 1091–1101, 1998.

- [69] M. N. V. R. Kumar, R. a a Muzzarelli, C. Muzzarelli, H. Sashiwa, and a J. Domb, "Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives," *Chemical Reviews*, vol. 104, no. 12, pp. 6017–6084, 2004.
- [70] P. Vermette, H. J. Griesser, G. Laroche, and R. Guidoin, *Biomedical Applications of Polyurethanes (Tissue Engineering Intelligence Unit 6)*. 2001.
- [71] G. T. Howard, "Biodegradation of polyurethane: a review," *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 49, no. 4, pp. 245–252, 2002.
- [72] "Polyurethanes." [Online]. Available: <http://www.polyurethanes.org/>. [Accessed: 13-Aug-2012].
- [73] "Polyurethanes - American Chemistry Council." [Online]. Available: <http://polyurethane.americanchemistry.com/>. [Accessed: 14-Aug-2012].
- [74] N. M. K. Lamba, K. A. Woodhouse, and S. L. Cooper, *Polyurethanes in Biomedical Applications*. 1997.
- [75] C. Prisacariu, *Polyurethane Elastomers From Morphology to Mechanical Aspects*. 2011.
- [76] J. P. Santerre, K. Woodhouse, G. Laroche, and R. S. Labow, "Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials," *Biomaterials*, vol. 26, no. 35, pp. 7457–7470, 2005.
- [77] G. A. Skarja and K. A. Woodhouse, "Structure-property relationships of degradable polyurethane elastomers containing an amino acid-based chain extender," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 75, no. 12, pp. 1522–1534, 2000.
- [78] Z. Wang, L. Yu, M. Ding, H. Tan, J. Li, and Q. Fu, "Preparation and rapid degradation of nontoxic biodegradable polyurethanes based on poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) and l-lysine diisocyanate," *Polymer Chemistry*, vol. 2, no. 3, pp. 601–607, 2011.
- [79] K. Gisselält, B. Edberg, and P. Flodin, "Synthesis and Properties of Degradable Poly(urethane urea)s To Be Used for Ligament Reconstructions," *Biomacromolecules*, vol. 3, no. 5, pp. 951–958, 2002.
- [80] J. Guan, M. S. Sacks, E. J. Beckman, and W. R. Wagner, "Biodegradable poly(ether ester urethane)urea elastomers based on poly(ether ester) triblock copolymers and putrescine: synthesis, characterization and cytocompatibility," *Biomaterials*, vol. 25, no. 1, pp. 85–96, 2004.
- [81] G. A. Skarja and K. A. Woodhouse, "In vitro degradation and erosion of degradable, segmented polyurethanes containing an amino acid-based chain extender," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 12, no. 8, pp. 851–873, 2001.
- [82] L. Tatai, T. G. Moore, R. Adhikari, F. Malherbe, R. Jayasekara, I. Griffiths, and P. A. Gunatillake, "Thermoplastic biodegradable polyurethanes: the effect of chain extender structure on properties and in-vitro degradation," *Biomaterials*, vol. 28, no. 36, pp. 5407–5417, 2007.

- [83] M. Ding, J. Li, X. Fu, J. Zhou, H. Tan, Q. Gu, and Q. Fu, "Synthesis, Degradation, and Cytotoxicity of Multiblock Poly(ϵ -caprolactone urethane)s Containing Gemini Quaternary Ammonium Cationic Groups," *Biomacromolecules*, vol. 10, no. 10, pp. 2857–2865, 2009.
- [84] C. Zhang, N. Zhang, and X. Wen, "Improving the elasticity and cytophilicity of biodegradable polyurethane by changing chain extender," *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 79B, no. 2, pp. 335–344, 2006.
- [85] J. A. Burdick and R. L. Mauck, Eds., *Biomaterials for Tissue Engineering Applications: A Review of the Past and Future Trends*. 2011.
- [86] F. Tian, Y. U. Liu, K. Hu, and B. Zhao, "The depolymerization mechanism of chitosan by hydrogen peroxide," *Journal of Materials Science*, vol. 38, no. 23, pp. 4709–4712, 2003.
- [87] M. Barikani, H. Honarkar, and M. Barikani, "Synthesis and characterization of chitosan-based polyurethane elastomer dispersions," *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, vol. 141, no. 6, pp. 653–659, 2010.
- [88] B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Second Edition*. 2011.
- [89] H. G. O. Becker, *Organikum: Química Orgânica Experimental*. 1997.
- [90] J. Kumirska, M. Czerwicka, Z. Kaczyński, A. Bychowska, K. Brzozowski, J. Thöming, and P. Stepnowski, "Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan," *Marine drugs*, vol. 8, no. 5, pp. 1567–1636, 2010.
- [91] S. Mori and H. G. Barth, *Size Exclusion Chromatography*. 1999.
- [92] R. Pamies, J. G. H. Cifre, M. del C. L. Martínez, and J. G. de la Torre, "Determination of intrinsic viscosities of macromolecules and nanoparticles. Comparison of single-point and dilution procedures," *Colloid and Polymer Science*, vol. 286, no. 11, pp. 1223–1231, 2008.
- [93] S. Sahin and S. G. Sumnu, *Physical Properties of Foods*. 2006.
- [94] S. L. Rosen, *Fundamental Principles of Polymeric Materials, 2nd Edition (Spe Monographs)*. 1993.
- [95] "Scanning Electron Microscopy (SEM)." [Online]. Available: http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/SEM.html. [Accessed: 30-Aug-2012].
- [96] W. Zhou and Z. L. Wang, Eds., *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*. 2006.
- [97] C. F. C. João, *Produção de microfibras compósitas de quitosano e hidroxapatite pela técnica de fiação húmida*. Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2010.

- [98] G. B. Dalcin, *Ensaio dos Materiais*. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, 2007.
- [99] G. Lawrie, I. Keen, B. Drew, A. Chandler-Temple, L. Rintoul, P. Fredericks, and L. Grøndahl, "Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS," *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 8, pp. 2533–2541, 2007.
- [100] M. Barikani, H. Honarkar, and M. Barikani, "Synthesis and characterization of polyurethane elastomers based on chitosan and poly(ϵ -caprolactone)," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 112, no. 5, pp. 3157–3165, 2009.
- [101] J. W. Qian, X. J. Xiang, W. Y. Yang, M. Wang, and B. Q. Zheng, "Flocculation performance of different polyacrylamide and the relation between optimal dose and critical concentration," *European Polymer Journal*, vol. 40, no. 8, pp. 1699–1704, 2004.
- [102] J. Tao and S. Shivkumar, "Molecular weight dependent structural regimes during the electrospinning of PVA," *Materials Letters*, vol. 61, no. 11–12, pp. 2325–2328, 2007.
- [103] D. Greenwald, S. Shumway, P. Albear, and L. Gottlieb, "Mechanical comparison of 10 suture materials before and after in vivo incubation," *Journal of Surgical Research*, vol. 56, no. 4, pp. 372–377, 1994.

