



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
QUITECH - GRUPO DE PESQUISAS EM QUITINAS E APLICAÇÕES
TECNOLÓGICAS

***DESENVOLVIMENTO DE “SCAFFOLDS” A PARTIR
DE COMPÓSITOS CONTENDO BLENDA
POLIMÉRICAS À BASE DE QUITOSANA PARA
RECONSTITUIÇÃO TECIDUAL***

Acadêmica: Geneviève Kreibich Pinheiro
Orientador: Prof. Dr. Mauro César Marghetti Laranjeira

Florianópolis, junho de 2008.

GENEVIÈVE KREIBICH PINHEIRO

***DESENVOLVIMENTO DE “SCAFFOLDS” A PARTIR
DE COMPÓSITOS CONTENDO BLENDA
POLIMÉRICAS À BASE DE QUITOSANA PARA
RECONSTITUIÇÃO TECIDUAL***

Relatório apresentado ao Curso de Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, para a obtenção da aprovação na disciplina QMC5510 – Estágio Supervisionado sob orientação do Prof. Dr. Mauro César Marghetti Laranjeira.

Florianópolis, 2008.

Dedico esse trabalho a meus pais, minha irmã e minha vó, obrigada por tudo.

Agradecimentos

- A Universidade Federal de Santa Catarina.
- A Central de Análises pelas análises realizadas.
- A engenharia de matérias pelo suporte e análises efetuadas.
- A minha amiga mãe, que me fez ser uma pessoa forte e encarar todos os obstáculos, a meu pai mestre que é um dos homens mais sábios que eu já vi, a minha irmã pela força, a Nina e a Tiffany.
- Ao Professor Mauro, pela sua capacidade de orientação e pela confiança em mim depositada.
- Aos amigos do QUITTECH que sempre tiveram boa vontade para me ajudar quando foi preciso e, especialmente a Denice, que será o primeiro projeto de muitos em colaboração.
- Aos amigos que fiz durante o curso que serão pra vida inteira: Fabi, Isa, Ale, Lu, Edna, Japa, Mel, Rafa, Marcel, Tiaguinho, Julio, Morcilha, Isabel, Mirella, Mari, enfim todos os amigos.
- A Capes e a PIBIC pelo apoio financeiro

SUMÁRIO

<u>LISTA DE FIGURAS</u>	7
<u>LISTA DE TABELAS</u>	8
<u>LISTA DE ABREVIATURAS</u>	9
<u>1. RESUMO</u>	10
<u>2. INTRODUÇÃO</u>	11
<u>2.1. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</u>	11
<u>2.1.1. Engenharia de tecidos - scaffolds</u>	11
<u>2.1.2. Reconstituição tecidual</u>	13
<u>2.1.3. Blendas Poliméricas</u>	15
<u>2.1.4. Compósitos</u>	16
<u>2.1.5. Quitosana</u>	16
<u>2.1.6. PVA - Poli(álcool vinílico)</u>	19
<u>2.1.7. Aditivos</u>	20
<u>2.1.7.1. Aditivos plastificantes</u>	20
<u>2.1.7.2. Aditivos inorgânicos</u>	21
<u>3. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO</u>	23
<u>4. OBJETIVOS</u>	24
<u>4.1. Objetivo geral</u>	24
<u>4.2. Objetivos específicos</u>	24
<u>5. MATERIAIS E MÉTODOS</u>	25
<u>5.1. Materiais</u>	25
<u>5.2. Métodos</u>	25
<u>5.2.1 Preparação de nanopartículas de ZnO</u>	25
<u>5.2.2.Preparação dos filmes compósitos de QTS/PVA-ZnO em diferentes concentrações de TWEEN80 e diferentes tipos de ácidos</u>	26
<u>5.2.3.Preparação da solução de Hank</u>	26
<u>5.3. Caracterização</u>	27
<u>5.3.1. Espectroscopia de infravermelho</u>	27
<u>5.3.2. Análise Termogravimétrica (TGA)</u>	27

<u>5.3.3. Ensaio Mecânico</u>	27
<u>5.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</u>	28
<u>5.3.5. Determinação do grau de intumescimento (GI%) dos filmes em água</u>	28
<u>5.3.6. Teste de degradação dos filmes</u>	28
<u>6. RESULTADOS E DISCUSSÕES</u>	29
<u>6.1. Espectroscopia de infravermelho</u>	29
<u>6.2. Análise Termogravimétrica (TGA)</u>	30
<u>6.3. Ensaio mecânico</u>	34
<u>6.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</u>	36
<u>6.5. Determinação do grau de intumescimento (GI) dos filmes em água</u>	42
<u>6.6. Teste de degradação dos filmes</u>	43
<u>7. CONCLUSÕES</u>	45
<u>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da técnica da engenharia de tecidos.....	12
Figura 2: Estruturas das unidades monoméricas: (a) quitina e (b) quitosana.....	17
Figura 3: Estrutura do monômero de PVA.....	19
Figura 4: Espectro de infravermelho (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, TWEEN80 5%, HCl, (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, TWEEN80 5%, HLa, (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, TWEEN80 5%, HAc.....	29
Figura 5: Curva de TGA dos filmes (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, TWEEN80 5%, HCl, (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, TWEEN80 5%, HLa, (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, TWEEN80 5%, HAc.....	31
Figura 6: Fotomicrografia de: a) superfície 1- QTS/PVA-ZnO; b) fratura 1- QTS/PVA-ZnO; c) superfície 2- QTS/PVA-ZnO; d) fratura 2- QTS/PVA-ZnO; e) superfície 3- QTS/PVA-ZnO; f) fratura 3- QTS/PVA-ZnO.....	37
Figura 7: Fotomicrografia de: a) superfície 4- QTS/PVA-ZnO; b) fratura 4- QTS/PVA-ZnO; c) superfície 5- QTS/PVA-ZnO; d) fratura 5- QTS/PVA-ZnO; e) superfície 6- QTS/PVA-ZnO; f) fratura 6- QTS/PVA-ZnO.....	39
Figura 8: Fotomicrografia de: a) superfície 7- QTS/PVA-ZnO; b) fratura 7- QTS/PVA-ZnO; c) superfície 8- QTS/PVA-ZnO; d) fratura 8- QTS/PVA-ZnO; e) superfície 9- QTS/PVA-ZnO; f) fratura 9- QTS/PVA-ZnO.....	41

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Descrição da composição dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO.....26

Tabela 2: Estágios de perda de massa observados nas análises termogravimétricas.....34

Tabela 3: Resultados dos ensaios mecânico dos filmes compósitos.....35

Tabela 4: Percentagem de perda de massa, devido à degradação dos filmes compósitos.....43

LISTA DE ABREVIATURAS

DR	Deformação na ruptura (mm)
GI	Grau de intumescimento (%)
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MY	Módulo de Young
PVA	Poli(vinil álcool)
QTS	Quitossana
TGA	Análise termogravimétrica
TM	Tensão máxima
HAc	Ácido Acético
HCl	Ácido Cítrico
HLa	Ácido Lático

1. RESUMO

Uma alternativa viável para reparar a estrutura biológica de um órgão ou tecido, é a reposição com um implante feito de um biomaterial. Dentre os materiais utilizados como implantes, os polímeros apresentam grande potencial de uso, pois são, geralmente, fáceis de preparar manusear e apresentam características mecânicas semelhantes aos dos materiais biológicos. Embora, muitos dispositivos protéticos artificiais estejam disponíveis, poucos podem substituir completamente todas as complexas funções biológicas. Em situações clínicas mais severas somente o transplante do órgão retoma as atividades orgânicas. Neste sentido, foi desenvolvido materiais para engenharia de tecidos com as seguintes características: biocompatíveis e bioreabsorvíveis com controlada velocidade de degradação e resorção para ajustar a substituição do tecido; ser porosa com uma rede de poros interconectados para o crescimento das células e transporte do fluxo dos nutrientes; ter superfície química apropriada para a fixação, proliferação e diferenciação das células; ter propriedades mecânicas para igualar às dos tecidos no sítio de implantação. De acordo com essas características foram preparados compósitos a partir de blendas de quitosana (QTS) contendo: Poli(vinil álcool) (PVA), glicerina, óxido de zinco (ZnO) e Tween 80 em diferentes soluções ácidas. Estes materiais compósitos foram caracterizados através das técnicas de análise por: Espectroscopia no Infra-Vermelho, Termogravimetria e Microscopia Eletrônica de Varredura. Os filmes dos compósitos obtidos em diferentes soluções ácidas foram submetidos a ensaios mecânicos e de degradação em solução de Hank. Os graus de intumescimento dos filmes também foram determinados. O aditivo plastificante, Tween 80 foi determinante para a produção de scaffolds com resistência mecânica elevada, boa elasticidade e retardo do tempo de degradação. A formação de microporos interconectados ocorre na presença dos aditivos Tween 80 e óxido de zinco na composição dos filmes de compósitos.

Palavras-chaves: Engenharia de tecidos, quitosana, blendas, compósitos, reconstituição de tecidos.

2. INTRODUÇÃO

2.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1. Engenharia de tecidos -Scaffolds

No caso da estrutura biológica de um órgão ou tecido não ser reparada, a alternativa viável para o restabelecimento das funções normais do paciente é repô-la com um implante feito de um biomaterial. Dentre os materiais utilizados como implantes, os polímeros apresentam grande potencial de uso, pois são, geralmente, fáceis de preparar, manusear e apresentam características mecânicas semelhantes aos dos materiais biológicos. Embora muitos dispositivos protéticos artificiais estejam disponíveis, poucos podem substituir completamente todas as complexas funções biológicas. Em situações clínicas mais severas somente o transplante do órgão retoma as atividades orgânicas. Assim, de uma forma idealizada, a melhor alternativa seria obter um novo órgão ou tecido, substituindo aquele que não desempenha normalmente suas funções. Nos dias de hoje, a idéia da reconstrução de órgãos e tecidos criados em laboratório é amplamente difundida e investigada no mundo todo^[1,2].

A técnica, conhecida como Engenharia de Tecidos, consiste na regeneração de órgãos e tecidos vivos, através do recrutamento de tecido do próprio paciente, que são dissociados em células e cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos, conhecidos como scaffolds (suportes, matrizes tridimensionais, arcabouços, estruturas, etc), para então serem re-inseridos no paciente^[3].

A engenharia de tecidos emergiu como um campo multidisciplinar que combina a biologia, bioquímica, ciência de materiais, e a reconstrução cirúrgica, para fornecer produtos de tecidos vivos que possam restaurar, manter, ou melhorar a função de tecidos danificados. Esta aproximação surgiu primeiramente devido a limitação de fornecedores de órgãos e tecidos, posteriormente porque oferece a possibilidade de poder expandir as habilidades de reparar tecidos,

desenvolver procedimentos cirúrgicos mais eficientes, e melhorar significativamente a qualidade de vida.

A figura abaixo ilustra o desenvolvimento idealizado da técnica da engenharia de tecidos^[4].

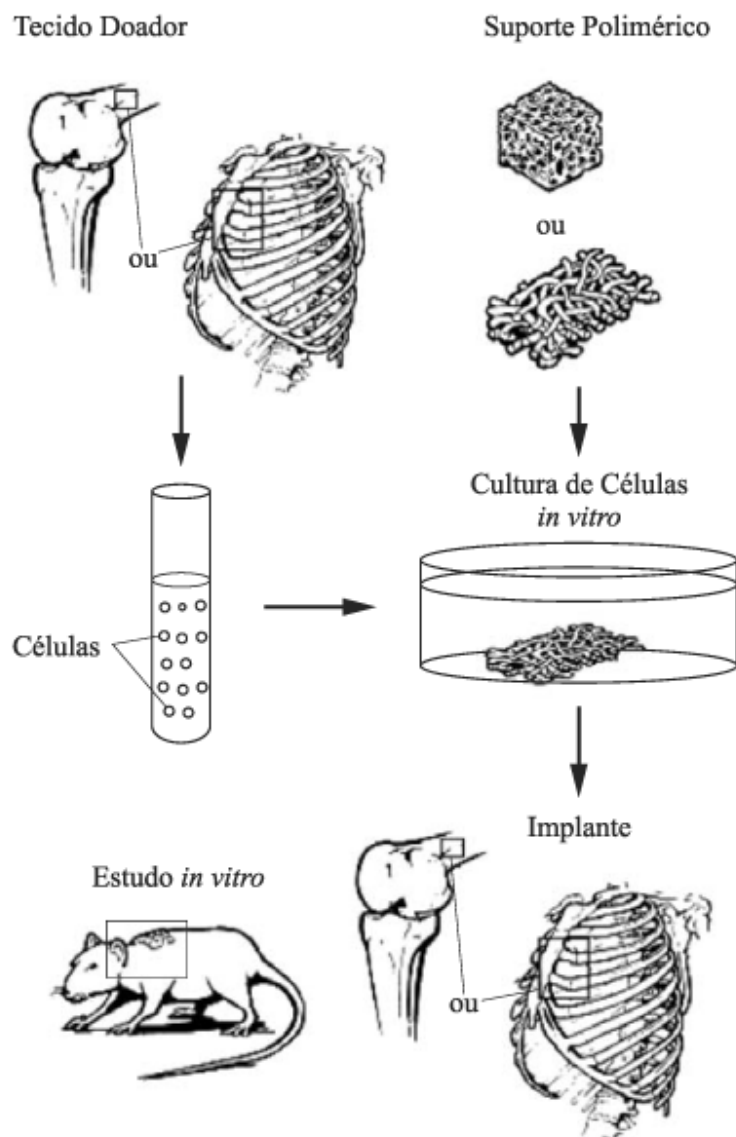


Figura 1. Representação esquemática da técnica da engenharia de tecidos.

Buscando uma padronização tanto na terminologia como na metodologia de pesquisa e aplicação dos produtos preparados pela engenharia de tecidos, a

regulamentação vem sendo feita por órgãos governamentais de países da Europa, Japão, Canadá e outros^[5]. De uma forma geral, a preparação dos produtos da engenharia de tecidos segue as seguintes etapas:

- Seleção e processamento do suporte (scaffold)
- Inoculação da população celular sobre o suporte
- Crescimento do tecido prematuro
- Crescimento do tecido maturado em sistema fisiológico (bioreator)
- Re-Implante cirúrgico
- Assimilação do produto.

Os scaffolds permitem a penetração de células, nutrientes e fatores osteoindutivos, bem como, a fixação, migração, diferenciação proliferação e crescimento das células, além da remoção de resíduos metabólicos, e impedem a penetração de tecidos indesejáveis^[6].

Os scaffolds apresentam como propriedades essenciais: biocompatibilidade para evitar resposta imune e infecção; porosidade e interconectividade dos poros para permitir a difusão dos nutrientes e gases, a remoção dos metabólicos, bem como, a vascularização tecidual; propriedades químicas e topográficas superficiais adequadas para permitir a adesão e proliferação celular; resistência mecânica para suportar a pressão hidrostática e manter a estrutura adequada para a proliferação celular e formação da matriz; e biodegradabilidade adequada para que a taxa de degradação esteja ajustada à taxa de crescimento do novo tecido^[6,7].

2.1.2. Reconstituição tecidual

Reconstituição de tecido é um processo fisiológico e dinâmico que restaura a continuidade dos tecidos. Após ocorrer lesão de um tecido, imediatamente iniciam-se fenômenos dinâmicos conhecidos como cicatrização, que é uma seqüência de respostas dos mais variados tipos de células (epiteliais, inflamatórias, plaquetas e fibroblastos), que interagem para o restabelecimento da integridade dos tecidos. A cicatrização pode ocorrer em feridas limpas, com perda mínima de tecido; em feridas abertas com perdas teciduais e em feridas infectadas

com ou sem perda de tecido. Na seqüência da cicatrização um suprimento de oxigênio é essencial para a síntese de formação de colágeno^[8,9].

As estatísticas realizadas nos Estados Unidos demonstram que cerca de 2,1 milhões de pacientes por ano apresentam úlceras de pressão; 500 mil pacientes fazem tratamento de úlcera arterial e/ou venosa e 3 milhões de diabéticos possuem lesões em membros inferiores. O gasto anual aproxima-se de 1 bilhão de dólares com úlceras diabéticas; as lesões crônicas representam um gasto de 1.335 bilhões de dólares sem contar o gasto com antibioticoterapia.

No Brasil não há uma estatística precisa, porém o número de idosos acima de 65 anos tem aumentado, elevando assim, a população com risco em desenvolver úlceras de pressão e lesões de pele.

Os medicamentos mais utilizados são à base de PVP-I (complexo de polivinilpirrolidona e iodo na forma aquosa ou com detergente) e gluconato de clorhexidina, e que já evidenciaram toxicidade provocando um retardo no processo de cicatrização.

Desta maneira, esforços têm sido realizados na pesquisa procurando desenvolver materiais alternativos que além da ação não tóxica, há uma boa atividade antimicrobiana.

Muitas membranas poliméricas foram investigadas com a finalidade de recobrimento de lesões como o poli(ácido láctico), poliacrilonitrila, borracha de silicone e polímeros naturais tais como o alginato, quitosana, gelatina e colágeno^[10,11].

Dados recentes demonstram a incorporação do antibiótico sulfadiazina de prata (AgSD) em membrana assimétrica de quitosana. A membrana assimétrica de quitosana foi preparada pelo método de separação de fases por via seca ou úmida para serem usadas como curativos no tratamento de lesões causadas por queimaduras severas. Esta membrana é constituída de uma película densa e de uma fase porosa que permite a permeabilidade do oxigênio, controle da evaporação de água e a drenagem das feridas dos exsudatos. Também a capacidade de intumescimento das membranas de quitosana assimétricas, habilita as membranas deste polímero para serem usadas como curativos em lesões

desta ordem. Além disso, as membranas assimétricas de quitosana podem agir como um reservatório regulador para liberar o fármaco de maneira controlada e inibindo a colonização bacteriana. Os resultados comprovaram a diminuição da toxicidade da AgSD quando incorporada em membranas de quitosana em relação à sua formulação tradicional, e também a inibição a longo prazo do crescimento de alguns tipos de bactérias^[12].

2.1.3. Blendas Poliméricas

Blendas poliméricas são misturas de dois ou mais polímeros ou copolímeros. Os objetivos de se obter uma blenda são normalmente econômicos, quais sejam: adicionar um polímero de baixo custo a um polímero de engenharia mantendo um bom desempenho do material resultante; combinar as propriedades dos polímeros componentes da blenda a fim de atingir um alto desempenho; obter uma melhor processabilidade da blenda em relação a um dos polímeros puros.

A mistura física de polímeros pode dar origem a um sistema miscível, o qual é favorecido na presença de interações intermoleculares, resultando em uma mistura homogênea. Entretanto, predominam sistemas imiscíveis, com a formação de duas ou mais fases, cujas propriedades e performance das blendas dependem da dispersão dos domínios na matriz e das forças de interação entre eles. A adição de um agente compatibilizante que atue na interface das fases modificando as propriedades mecânicas é bastante comum.

As propriedades mecânicas dos materiais poliméricos são de grande importância e interesse científico e tecnológico, devido aos requisitos ou exigências que os diversos polímeros existentes devem atender na maior parte de suas aplicações. Valores de propriedades mecânicas tais como, resistência a tensão, módulo de elasticidade, alongação, entre outros, podem servir como base de comparação de desempenho mecânico dos diferentes polímeros, assim como para a avaliação dos efeitos decorrentes da modificação do polímero-base (reforços, cargas, aditivos, plastificantes) para especificações, entre outros^[13].

2.1.4. Compósitos

Os compósitos passaram a ser conhecidos a partir do trabalho pioneiro de Bonfield et al.^[14] em 1981 como uma alternativa válida para uso em medicina como biomateriais.

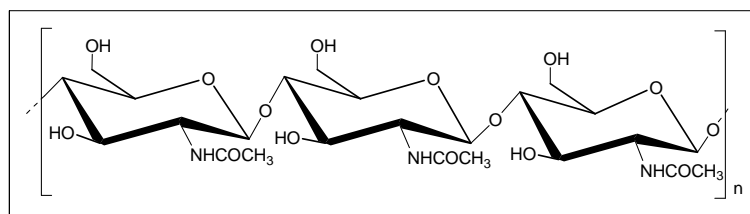
Os compósitos são definidos como materiais formados por dois ou mais constituintes, com distintas composições, estruturas e propriedades, separados por uma interface. Esse conceito muito amplo pode incluir um grande número de materiais que usualmente não são chamados de compósitos, como as ligas metálicas. Embora uma definição exata não seja comumente empregada, considera-se compósito um sistema constituído de materiais que têm suas propriedades individuais drasticamente afetadas pela introdução de quantidades insignificantes de um segundo constituinte^[15].

O compósito bioativo envolve geralmente a presença de uma matriz polimérica – que confere adequadas propriedades mecânicas, físicas e químicas ao implante – e uma fase bioativa como exemplo, uma biocerâmica, que assegura biocompatibilidade adequada com interação favorável implante-hospedeiro^[16].

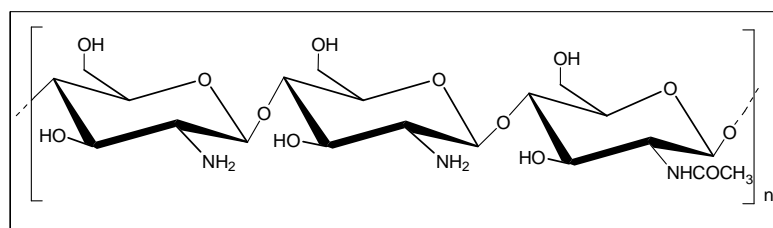
2.1.5. Quitosana

A quitosana é um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental. As carapaças de crustáceos são resíduos abundantes e rejeitados pela indústria pesqueira, que em muitos casos as consideram poluentes. Sua utilização reduz o impacto ambiental causado pelo acúmulo nos locais onde é gerado ou estocado^[17].

É um biopolímero do tipo polissacarídeo, possui uma estrutura molecular quimicamente similar à fibra vegetal chamada celulose, diferenciando-se somente nos grupos funcionais. A Figura 2 apresenta as unidades monoméricas da quitina e quitosana, onde a quitosana apresenta um percentual majoritário de grupos amino (NH_2) e um pequeno percentual de unidades acetoamido (NHCOCH_3), enquanto a quitina é constituída destes grupos numa ordem percentual inversa. É solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (NH_3^+), que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais^[18].



(a)



(b)

Figura 2. Estruturas das unidades monoméricas: (a) quitina e (b) quitosana.

Devido à alta densidade de cargas positivas do polímero, a quitosana atrai e se liga aos lipídeos (moléculas de gordura de densidade negativa) como uma “esponja”. Em um ambiente ácido como o estômago, a quitosana adsorve as gorduras durante a digestão, formando uma esponja de gordura, de baixa digestão. No intestino, um ambiente básico, a esponja de gordura é solidificada e eliminada pelas fezes, sem ser aproveitada pelo organismo. Portanto, a quitosana é indicada como auxiliar no controle de excesso de gordura das dietas.

Dependendo das condições do meio em que a quitosana se encontra e do seu grau de desacetilação (porcentagem de grupos amino presentes no biopolímero), ela pode adsorver (reter) de 4 a 5 vezes o seu peso em gordura^[19].

A quitosana, que ocorre naturalmente em alguns fungos, é geralmente obtida pela desacetilação da quitina, polissacarídeo encontrado abundantemente na natureza e que constitui os exoesqueletos de insetos e crustáceos^[20,21]. A princípio, a hidrólise dos grupos acetamida da quitina pode ser alcançada em meio ácido ou alcalino, mas a primeira condição não é empregada devido à susceptibilidade das ligações glicosídicas à hidrólise ácida. De fato, mesmo quando realizada em meio alcalino, a desacetilação da quitina raramente é

completa, pois quitosanas são obtidas quando a extensão da reação atinge cerca de 60% (ou mais) e o prolongamento da reação, que gera produtos completamente desacetilados, também provoca severa degradação das cadeias poliméricas.

Assim, condições muito severas de reação, tais como as empregadas na desacetilação da quitina por fusão alcalina, e o emprego de soluções alcalinas concentradas, por tempos prolongados e a temperaturas elevadas, são evitadas quando o objetivo é a obtenção de quitosana de massa molar elevada. A prática industrial mais comum, e que também é bastante empregada em laboratórios de pesquisa, é aquela na qual a desacetilação da quitina é realizada em suspensão de solução aquosa de hidróxido de sódio, sendo que a concentração dessa solução, o excesso de álcali, o tempo e a temperatura da reação são variáveis, conforme o procedimento adotado. Assim, não se pode definir uma condição padronizada para a realização dessa reação. Entretanto, é reconhecido que os principais fatores que afetam a eficiência da desacetilação e as características das quitosanas obtidas são^[22]:

- a) temperatura e tempo de reação;
- b) concentração da solução de álcali e adição de diluente (álcoois de cadeia curta e cetonas são empregadas);
- c) razão quitina/álcali;
- d) tamanho das partículas de quitina;
- e) atmosfera da reação e presença de agentes que evitem a despolimerização.

Algumas das principais áreas de aplicação da quitosana são: agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas), tratamento de água (floculante para clarificação, remoção de íons metálicos e redução de odores), indústria alimentícia (fibras dietéticas, redutor de colesterol, conservante para molhos, fungicida e bactericida, recobrimento de frutas), indústria de cosméticos (esfoliante para a pele, tratamento de acne, hidratante capilar, creme dental) e biofarmacêutica (imunológico, antitumoral, hemostático e anticoagulante). Porém sua maior aplicação é na área biomédica (suturas cirúrgicas, implantes dentários,

reconstituição óssea, lentes de contato, liberação controlada de fármacos em animais e humanos, encapsulamento de materiais)^[23].

2.1.6. Poli(álcool vinílico) (PVA)

O poli(álcool vinílico) se decompõe pela perda de água dos grupos hidroxila adjacentes em temperaturas superiores a 150 °C. Duas ligações duplas são formadas em sua cadeia à medida que mais delas são formadas. O PVA com massa molar média entre 30.000 e 70.000 g/mol (Figura 3) é solúvel em água, dissolvendo-se um pouco em água gelada, mais rapidamente em temperaturas elevadas. Em torno de 90 °C, o PVA dissolve-se completamente. A solução aquosa não é estável na presença de traços de ácidos ou bases, podendo ocorrer uma série de reações gelatinosas reversíveis e irreversíveis. Por exemplo, ligações cruzadas podem ocorrer resultando em um acréscimo da viscosidade e na formação de produtos insolúveis.

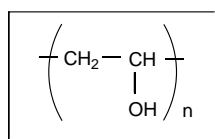


Figura 3. Estrutura do monômero de PVA.

As propriedades básicas do PVA dependem do grau de polimerização e do grau de hidrólise. É um dos poucos polímeros semicristalinos solúveis em água com boas características interfaciais e mecânicas, sua resistência a passagem de oxigênio é superior a de qualquer polímero conhecido^[24]. Além de apresentar uma capacidade de estabilização de dispersões e biocompatibilidade.

Esse polímero tem sido amplamente utilizado em fibras, adesivos, emulsificantes, em aplicações na indústria têxtil e de papel, como protetor de colóide, na obtenção do poli(vinil butiral). Mais recentemente, o PVA tem sido utilizado como carregador de medicamentos devido às suas propriedades de

degradabilidade e não toxidez, e em membranas usadas em célula a combustível^[25].

2.1.7. Aditivos

2.1.7.1. Aditivos plastificantes

Os plastificantes são aditivos que suavizam os materiais (normalmente misturas de plástico e cargas inorgânicas) aos quais são adicionados. Plastificantes poliméricos são polímeros de baixa massa molar e se apresentam, preferencialmente, no estado líquido a temperatura ambiente. São adicionados a blendas poliméricas, com o objetivo de melhorar suas propriedades plastificantes. Os plastificantes aumentam a mobilidade das cadeias poliméricas devido a diferentes efeitos moleculares. Melhorando assim a maleabilidade e a aplicabilidade do material, e uma das características necessárias é de que este seja solúvel e compatível com o polímero^[26,27].

Outra característica dos plastificantes é a capacidade de diminuir a temperatura de transição vítrea e a temperatura de fusão, e aumentar a permeabilidade a gases, proporcionalmente ao seu conteúdo. Os mais utilizados em filmes protéicos são: glicerol, sorbitol, propilenoglicol, polietilenoglicol, monoglicerídeos, Tween 80, entre outros^[28].

2.1.7.2 Aditivo inorgânico - Óxido de zinco

O óxido de zinco é um composto químico encontrado naturalmente no mineral chamado zincita. Insolúvel em água e solúvel em ácidos e bases apresenta propriedades piezoelétricas e sensibilidade à luz. É um metal de transição e semi-metal capaz de reagir tanto com ácidos quanto com bases, fornecendo sal e água. Por possuir propriedades intermediárias entre os óxidos ácidos e os óxidos básicos, podem se comportar como óxidos ácidos e como básicos^[29].

É um material semicondutor intrínseco do tipo n que cristaliza no sistema cristalino hexagonal, é relativamente barato e pouco tóxico. Como material

fotoelétrico de *gap* de banda larga ($E_g = 3,37 \text{ eV}$) o ZnO é um excelente semicondutor para fabricação de dispositivos emissores de luz UV e visível, o qual tem recentemente despertado o interesse de vários pesquisadores devido as suas propriedades ópticas notáveis^[30], tais como baixa constante dielétrica, alta estabilidade química e boas propriedades fotoelétricas e piezoelétricas. O óxido de zinco é um material cerâmico versátil, o qual pode ser utilizado em diversas aplicações tecnológicas tais como: catalisadores, aditivos em óleos lubrificantes, varistores, materiais luminescentes, sensores de gás, pigmentos, protetor solar, materiais farmacêuticos, entre outras^[31]. Desta forma, a busca por óxido de zinco com tamanho de partícula em escala nanométrica, característica esta que leva a obtenção de materiais de alta performance tem levado ao desenvolvimento de vários métodos químicos em escala de laboratório. Entre os vários métodos de síntese química que vem sendo utilizado para a preparação de nanopós de ZnO podemos citar o método de solgel, o spray pirólise, reação por combustão via líquida, síntese hidrotérmica, spray-drying e o método Pechini^[32]. Entre esses métodos, o método Pechini destaca-se como uma técnica alternativa e promissora para a preparação de ZnO cristalino e nanométrico com tamanho de partícula controlado.

O método Pechini, também chamado método dos precursores poliméricos se baseia na formação de uma resina polimérica produzida pela poliesterificação entre um complexo metálico quelatado usando ácidos hidroxicarboxílicos (como ácido acético ou ácido maleico) e um álcool polihidróxi como o etileno glicol. Durante o aquecimento em temperaturas moderadas ocorrem as reações de esterificação e poliesterificação, havendo assim a formação da resina polimérica, após a remoção do excesso de água. O aquecimento da resina polimérica acima de 300°C causa a quebra do polímero e a expansão da resina forma o que se denomina “puff”. O “puff” ou resina expandida constitui-se de um material semi-carbonizado, portanto preto, mostrando um reticulado macroscópico e frágil semelhante a uma espuma^[33]. O polímero formado apresenta grande homogeneidade na dispersão dos íons metálicos e um tratamento térmico adequado é realizado para a eliminação da parte orgânica e obtenção da fase

cerâmica desejada. Entre as vantagens desse método está a possibilidade de preparação de complexos de boa homogeneidade ao nível molecular e controle estequiométrico. As temperaturas requeridas são mais baixas do que no método convencional de mistura de óxidos, baixo custo e permite a obtenção de pós com alta pureza.

3. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

Quando a estrutura biológica de um órgão ou tecido não pode ser reparado, a alternativa viável para o restabelecimento das funções normais do paciente é repô-la com um implante feito de um biomaterial.

Através da técnica, conhecida como Engenharia de Tecidos, que consiste na regeneração de órgãos e tecidos vivos e através do recrutamento de tecido do próprio paciente, que são dissociados em células cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos, conhecidos como scaffolds (suportes, matrizes tridimensionais, arcabouços, estruturas, entre outros).

Filmes microporosos (filmes tipo favo de mel) podem conduzir vários tipos de células para formação de tecidos. Células tipo progenitoras da retina são crescidas *in vitro* sobre um scaffold na forma de um filme fino biodegradável, e transplantadas no espaço subretinal do hospedeiro. Polímeros tais como quitosana, PVA, gelatina e alginato de sódio são misturados para variar o grau da velocidade de degradação do scaffold *in vivo*.

Logo após dessa matriz polimérica ser preparada, ela então será re-inseridos no paciente, para fornecer produtos de tecidos vivos que possam restaurar, manter, ou melhorar a função de tecidos danificados.

Neste sentido, foi desenvolvido filmes microporosos para engenharia de tecidos que possuam as seguintes características: serem biocompatíveis e bioreabsorvíveis com controladas velocidades de degradação e resorção para ajustar a substituição do tecido; terem uma rede de microporos interconectados para o crescimento das células e transporte do fluxo dos nutrientes; terem superfície química apropriada para a fixação, proliferação e diferenciação das células; terem propriedades mecânicas para igualar às dos tecidos no sítio de implantação.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Esta pesquisa teve como objetivo preparar e caracterizar compósitos de blendas poliméricas de quitosana-PVA e óxido de zinco para utilização como scaffolds na reconstituição tecidual.

4.2. Objetivos específicos

- Preparar filmes compósitos de quitosana e poli(álcool vinílico), contendo os plastificantes glicerina e Tween 80 na presença de óxido de zinco em diferentes soluções ácidas.
- Otimizar a produção de “scaffolds” utilizando o melhor biomaterial para cada tipo de tecido.
- Obter materiais porosos com uma rede de poros interconectados através de agentes porogênicos.
- Preparar “scaffolds” mecanicamente resistentes e flexíveis de acordo com a composição dos biomateriais e com adição de plastificantes.
- Neutralizar os filmes obtidos dos compósitos empregando vapor de amônia.
- Caracterizar os scaffolds obtidos nas formas de membranas através das técnicas de espectroscopia de infravermelho (IV) e análises térmicas.
- Caracterizar a morfologia dos filmes dos compósitos obtidos através da microscopia eletrônica de varredura.
- Realizar ensaios mecânicos, testes *in vitro* de degradação e grau de intumescimento.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Materiais

A quitosana foi obtida da Purifarma (Brasil), com grau de desacetilação de 90%. Os reagentes utilizados foram: ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico, ácido nítrico, glicerol, álcool polivinílico e etileno glicol, óxido de zinco, NaCl, NaHCO₃, KCl, KH₂PO₄, MgCl₂.6H₂O, CaCl₂, Na₂HPO₄.2H₂O e, MgSO₄.7H₂O da Nuclear e Tween 80 da Vetec.

5.2. Métodos

5.2.1 Preparação de nanopartículas de ZnO

As nanopartículas foram preparadas seguindo o método de Pechini^[32]. Este método baseia-se na formação de uma resina polimérica produzida pela poliesterificação entre um complexo metálico quelatado usando ácidos hidroxicarboxílicos e um álcool polihidróxi. Após a dissolução do ácido cítrico foi acrescentado aos poucos o ZnO e o ácido nítrico para ajudar na dissolução. A temperatura foi elevada a 70 °C e adicionou-se o etileno glicol para ocorrer a poliesterificação, então, o aquecimento foi elevado ao máximo para vaporização da água, havendo após a remoção do excesso de água, a formação da resina polimérica. A resina polimérica foi aquecida na temperatura de 350 °C, causando a quebra do polímero e a expansão da resina pelo que se denomina “puff”. O resíduo foi retirado do béquer e triturado em almofariz de ágata. O pó obtido foi dividido em partes e calcinados. As composições foram calcinadas a 500 °C/1h e á 700 °C/1h para a obtenção do pó. Durante o aquecimento em temperaturas moderadas ocorrem as reações de esterificação e poliesterificação. O aquecimento da resina polimérica acima de 350 °C causou a quebra do polímero e a expansão da resina, formando uma resina esponjosa e frágil. Então, esta resina foi moída e calcinada a 700 °C (Mufla Jung-Blumenau)^[34].

5.2.2.Preparação dos filmes compósitos de QTS/PVA-ZnO

Os filmes compósitos de QTS/PVA-ZnO foram preparados em diferentes ácidos, sendo eles: ácido acético (HAc), ácido láctico (HLa) ou ácido cítrico (HCi). Foram adicionados a solução de QTS e PVA, nanopartículas ZnO, glicerol e diferentes quantidades de Tween 80 (Tabela 1). Estas misturas foram mantidas sob agitação constante até completa homogeneização, vertidas em placas e o solvente foi evaporado a temperatura ambiente até a formação do filme. Depois de formados os filmes, os mesmos foram deixados em um ambiente de amônia e dessa forma foram neutralizados.

Tabela 1. Descrição da composição dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO.

Amostras	Ácido	Tween 80 (%)	ZnO (%)
1- QTS/PVA-ZnO	HAc	10	1
2- QTS/PVA-ZnO	HAc	5	1
3- QTS/PVA-ZnO	HAc	1	1
4- QTS/PVA-ZnO	HLa	10	1
5- QTS/PVA-ZnO	HLa	5	1
6- QTS/PVA-ZnO	HLa	1	1
7- QTS/PVA-ZnO	HCi	10	1
8- QTS/PVA-ZnO	HCi	5	1
9- QTS/PVA-ZnO	HCi	1	1

5.2.3.Preparação da solução de Hank

A solução de Hank simula as propriedades do sangue, nela que serão realizados os testes *in vitro* de degradação dos filmes.

A solução de Hank foi preparada sob adição dos compostos nas respectivas massas: 8 g NaCl, 0,35g NaHCO₃, 0,4 g KCl, 0,06 g KH₂PO₄, 0,10 g MgCl₂.6H₂O, 0,14 g CaCl₂, 0,06g Na₂HPO₄.2H₂O, 0,06 g MgSO₄.7H₂O, 1 g glicose, adicionados em 1000 mL de água destilada^[35].

5.3. Caracterização dos filmes compósitos de quitosana-PVA e aditivos.

5.3.1. Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

As análises de infravermelho com transformada Fourier de absorção foram realizadas nas membranas dos filmes. A razão da transmitância e o comprimento de onda (cm^{-1}) foram usados para a determinação dos materiais nos filmes. O espectrômetro utilizado foi o Fourier da Perkin Elmer, modelo 16CP, da Central de Análise do Departamento de Química, UFSC.

5.3.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para os estudos de estabilidade térmica foram utilizadas amostras de 10 mg das membranas. As medidas foram realizadas com uma razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de N_2 . O estudo termogravimétrico foi feito na faixa de 0 a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$. Foi utilizado um analisador termogravimétrico da marca Shimadzu Termogravimetric Analyser (TGA 50, Kioto, Japan), realizado na Central de Análise do Departamento de Química, UFSC.

5.3.3. Ensaio mecânico

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas por teste de tração usando uma máquina de Ensaio Universal (EMIC-DL-2000), do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC, CERMAT. Parâmetros como tensão máxima (TM), deformação na ruptura (DR) e do módulo de Young (MY) (região elástica das curvas de tensão *versus* deformação) dos filmes foram determinados. Para os ensaios mecânicos pelo módulo tração foram preparadas membranas em moldes retangulares de Teflon, de dimensões 10 x 5 cm. Destas membranas cortou-se tiras 10 x 2 cm, que serão mantidas em dessecador sob vácuo até o momento das medidas.

As medidas foram feitas à temperatura ambiente em uma máquina de testes, onde a distância inicial entre as garras foi de 30 mm e elas foram tracionadas a uma velocidade constante de 5 mm min^{-1} . Foram utilizados 6 corpos de prova por análise.

5.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a realização destas análises, as amostras de filmes foram colocadas em suportes de alumínio, recobertas com uma camada de ouro para então microfotografar. As amostras foram analisadas empregando-se um Microscópio Eletrônica de Varredura, marca Phillips, modelo XL 30, do Laboratório de Materiais (LabMat) do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC.

5.3.5. Determinação do grau de intumescimento (GI%) dos filmes em água

O grau de intumescimento (GI%) dos filmes foi estudado para medir a diferença de massa de amostra hidratada com uma outra amostra que não tenha sido submetida ao teste. Este estudo foi realizado em água destilada. Uma amostra de 1,0 g do filme seco foi colocado em contato com 50 mL de água destilada e mantidas sob agitação e termostaticada a 37°C, por 8 horas. Em intervalos de 30 minutos, os filmes foram retirados desta solução, secos ligeiramente em papel absorvente, para eliminar excesso de água, e pesados para medir a diferença de massa comparada à outra amostra que não foi submetida ao teste. Este procedimento foi realizado em triplicata para obter uma média.

O grau de intumescimento (GI %) foi calculado pela equação abaixo,

$$GI\% = \frac{M_t - M_o}{M_o} \times 100$$

Onde M_t é equivalente a massa úmida total e M_o refere-se à massa seca.

5.3.6. Teste de degradação dos filmes

Através da solução de Hank, que simula as propriedades fisiológicas do sangue, foi realizado o teste de degradação, onde 3,0 g do filme foram secos e pesados. Depois de uma semana esse material foi recolhido, seco e pesado. Assim, foi analisada a perda da massa dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

No espectro de FTIR filmes compósitos QTS/PVA-ZnO (Figura 4) em diferentes ácidos, foi possível verificar uma banda larga em aproximadamente 3310 cm^{-1} é atribuída ao estiramento OH. Esta banda sobrepõe às bandas NH do grupo amina e amida.

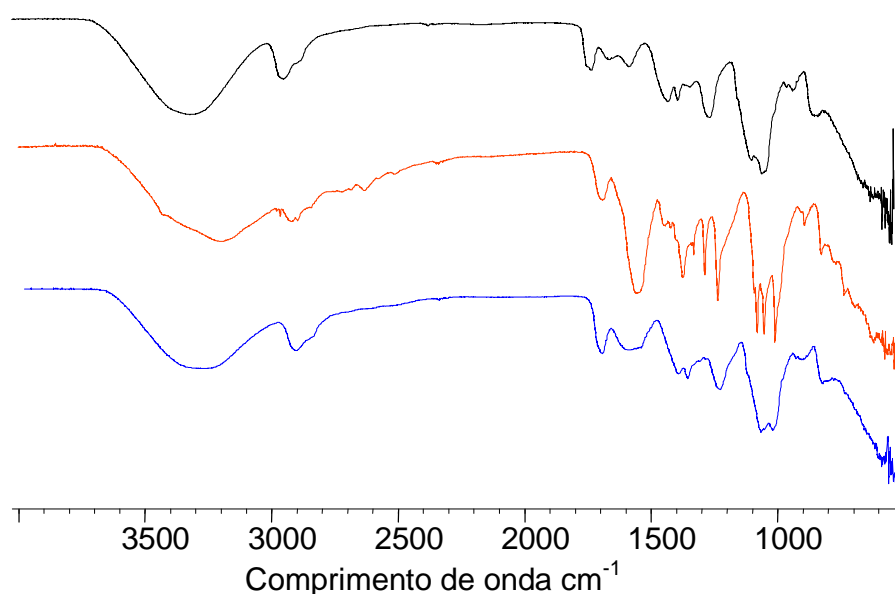


Figura 4. Espectro de infravermelho (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 5%, HCl, (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 5%, HLa, (___)QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 5%, HAc.

As bandas próximas de 1350 e 1260 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento das hidroxilas: primária e secundária.

As bandas próximas de 1100 e 1050 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento C-O do álcool secundário, estas bandas também podem ser atribuídas ao estiramento C-N.

As bandas de aproximadamente 2900 e 2800 cm^{-1} correspondem às vibrações do estiramento C-H.

As bandas de próximas de 1700 cm^{-1} correspondem ao estiramento C=O da amida e do éster, e perto de 1600 cm^{-1} corresponde ao estiramento N-H da amina.

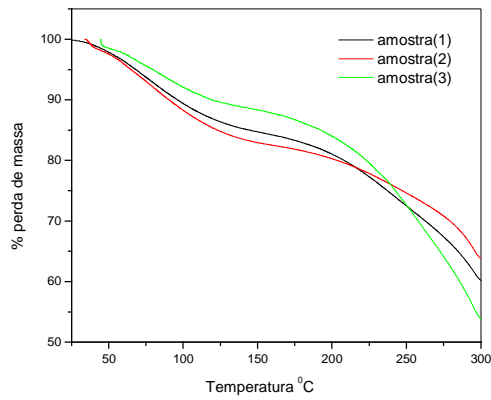
As bandas próximas de 1420 cm^{-1} são atribuídas às vibrações C-H. Em 850 cm^{-1} é a deformação C-H.

As bandas perto de 3300 cm^{-1} das três amostras tiveram diferenças devido à alteração dos ácidos. A que apresentou uma diferença significativa foi com ácido láctico, aparecendo um ombro referente ao grupo amina da quitosana. No geral o espectro do filme de ácido láctico apresentou bandas mais definidas como: o ombro do grupo N-H, o estiramento de CH_2 e CH_3 simétrico e assimétrico, e o estiramento C-O na faixa de 1100 e 1040 cm^{-1} .

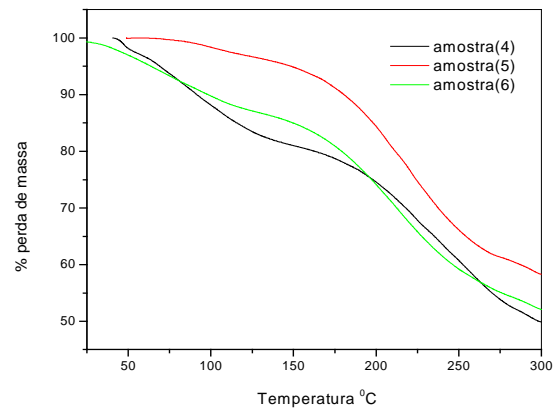
A banda relativa ao grupo NH_3^+ em 1615 cm^{-1} , foi encoberta pela banda do grupo amina.

6.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

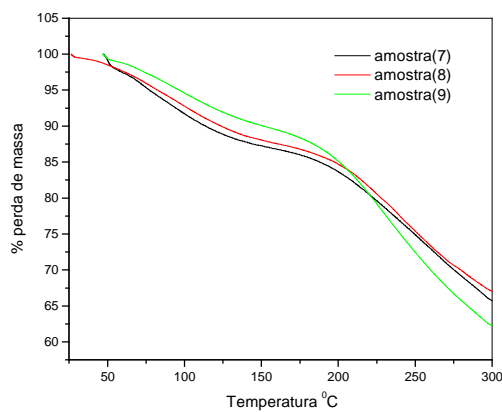
A análise termogravimétrica fornece informações sobre o conteúdo dos componentes voláteis como solventes ou água, da cinética das reações, sobre o comportamento de decomposição e conteúdo de cinzas em função do tempo ou da temperatura.



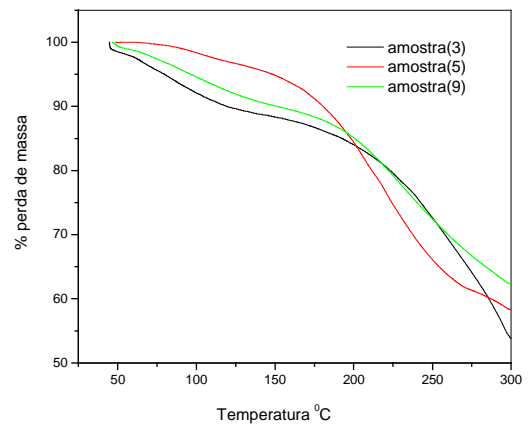
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 5. A análise termogravimétrica da (a) Curva de TGA dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO de HAc em diferentes concentrações de Tween 80: (___)10%, (___)5%, (___)1%. (b) Curva de TGA dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO de HLa em diferentes concentrações de Tween 80: (___)10%, (___)5%, (___)1%. (c) Curva de TGA dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO de HCl em diferentes concentrações de Tween 80: (___)10%, (___)5%, (___)1%. (d) Curva de TGA dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO de: (___)HAc, (___)HLa, (___)HCl.

Na figura 5(a) tem-se as curvas de TGA dos filmes compósitos preparados em HAc em diferentes concentrações de Tween 80, neste caso as amostras: 1, 2 e 3. Foram observados 2 estágios de perda de massa, o primeiro foi em aproximadamente 77 °C, correspondente à perda de água e possivelmente a tg (transição vítrea) do glicerol. O segundo estágio de perda de massa foi em próximo de 250 °C, correspondente a degradação da quitosana. Na faixa de temperatura de 100 à 200 °C verificou-se uma pequena perda de massa (não ultrapassando a 5%), constatando então maior estabilidade dos filmes nessa região, e o filme com maior estabilidade térmica nessa região foi da amostra 3.

Na figura 5(b) tem-se as curvas de TGA dos filmes compósitos de HLa em diferentes concentrações de Tween 80, neste caso as amostras: 4, 5 e 6. Foi observado na amostra 4, quatro estágios de perda de massa, o primeiro foi em 84,74 °C, correspondente à perda de água e possivelmente a tg do glicerol. O segundo estágio de perda de massa foi em 112,16 °C, ainda relacionado com a perda de água. O terceiro estágio de perda de massa foi em 227,81 °C que corresponde ao ponto de fusão do PVA, com o pico deslocado em poucos graus devido a interação com os outros polímeros e maior concentração do plastificante Tween 80. O quarto estágio de perda de massa foi em 257,89 °C, que corresponde à degradação da quitosana. Já na amostra 5 foi observado 2 estágios de perda de massa, o primeiro em 103,15 °C correspondente à perda de água e possivelmente a tg do glicerol e o segundo em 218,44 °C que corresponde ao ponto de fusão do PVA, com o pico deslocado em poucos graus devido a interação com os outros polímeros. Na amostra 6 foi observado 4 estágios de perda de massa, o primeiro foi de aproximadamente 71,70 °C, correspondente à perda de água e possivelmente a tg do glicerol. O segundo estágio de perda de massa foi em próximo de 98,9 °C, relacionado com a perda de água. O terceiro estágio de perda de massa foi em 213,22 °C que corresponde ao ponto de fusão do PVA, com o pico deslocado devido a interação com os outros polímeros. O quarto estágio de perda de massa foi em 265,40 °C, que corresponde à degradação da quitosana. Na faixa de temperatura de 100 à 200 °C verificou-se uma pequena perda de massa, constatando então maior estabilidade dos filmes

nessa região, e o filme com maior estabilidade térmica nessa região foi da amostra 5.

Na figura 5(c) tem-se as curvas de TGA dos filmes compósitos de HCl em diferentes concentrações de Tween 80, neste caso as amostras: 7, 8 e 9. Foram observados 2 estágios de perda de massa, na amostra 8 e 9. O primeiro foi de aproximadamente 90 °C, correspondente à perda de água e possivelmente a tg do glicerol. O segundo estágio de perda de massa foi em próximo de 230 °C, correspondente ao ponto de fusão do PVA. Na amostra 7 foram observados 4 estágios de perda de massa, o primeiro foi em 74,50 °C, correspondente à perda de água e possivelmente a tg do glicerol. O segundo estágio de perda de massa foi em 93,07 °C, ainda relacionado com a perda de água. O terceiro estágio de perda de massa foi em 237,14 °C que corresponde ao ponto de fusão do PVA. O quarto estágio de perda de massa foi em 260,42 °C, que corresponde à degradação da quitosana. Na faixa de temperatura de 100 à 200 °C verificou-se uma pequena perda de massa (não ultrapassando a 5%), constatando então maior estabilidade dos filmes nessa região, e o filme com maior estabilidade térmica nessa região foi da amostra 9, com o comportamento de análise termina muito parecido com as curvas de TGA do ácido acético.

Na figura (d) tem-se as curvas de TGA dos filmes compósitos que apresentaram maior estabilidade térmica na região de 100 à 200° C dos diferentes ácidos: acético (amostra 3), láctico (amostra 5) e cítrico (amostra 9). O filme que apresentou maior estabilidade térmica (uma menor perda de massa) foi o obtido do ácido láctico, porém essa estabilidade só se estende até a temperatura de 200°C, logo após essa temperatura a uma perda muito grande de massa. As amostras de ácido acético e cítrico se comportaram como descrito anteriormente de maneira muito similar.

Tabela 2. Os Estágios de perda de massa (primeiro ao quarto) observados nas análises termogravimétricas.

Amostras	1º (°C)	2º (°C)	3º (°C)	4º (°C)
1-QTS/PVA-ZnO	76,62		236,07	
2-QTS/PVA-ZnO	77,55		240,81	
3-QTS/PVA-ZnO	79,54			254,66
4-QTS/PVA-ZnO	84,74	112,16	227,81	257,89
5- QTS/PVA-ZnO		103,15	218,44	
6-QTS/PVA-ZnO	71,70	98,90	213,22	265,40
7-QTS/PVA-ZnO	73,50	93,07	237,14	260,42
8-QTS/PVA-ZnO		94,52	237,13	
9-QTS/PVA-ZnO		90,94	228,29	

Pode-se observar que a presença de plastificantes, no caso o Tween 80, promoveu a diminuição na temperatura de degradação dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO. Esta diminuição pode ser atribuída ao aumento do volume livre do sistema devido à adição de plastificantes. O afastamento das cadeias poliméricas reduz as forças de atração intermolecular, aumentando a mobilidade, reduzindo a energia necessária para a degradação, tornando o material termicamente menos estável.

6.3. Ensaio mecânico

Esse tipo de análise é caracterizado pelo modo como os filmes respondem às solicitações mecânicas aplicadas, podendo estas ser do tipo de tensão ou deformação. A natureza desta resposta depende da estrutura química, temperatura, tempo e das condições de processamento do polímero. Filmes compósitos podem estar sujeitas a uma variedade de tensões durante o período de uso e sabe-se que as interações entre polímeros podem influenciar e modificar as propriedades de misturas em relação aos polímeros puros.

Todos os materiais analisados apresentaram uma região plástica, onde a força aplicada excede o limite de resistência do material e após a deformação este não retorna mais ao seu comprimento inicial.

Os resultados dos ensaios mecânicos dos filmes (Tabela 3) evidenciaram que a adição de Tween 80 elevou a resistência mecânica, a tensão inicialmente diminuiu, entretanto o aumento da porcentagem de Tween 80 foi proporcional ao aumento de tensão. Os filmes compósitos QTS/PVA-ZnO apresentaram maior elasticidade com o aumento da porcentagem de Tween 80. E os diferentes tipos de ácidos mostraram grandes diferenças na análise proferida, o ácido acético mostrou mais resistência e menos elástico, já os filmes de ácido cítrico e ácido láctico demonstraram ser bastante elásticas e uma tensão menor, essa menor resistência é atribuída devido a grande porosidade (forma esponjosa).

Tabela 3. Resultados dos ensaios mecânico dos filmes.

Amostras	Tensão Máxima (MPa)	Deformação na ruptura (mm)	Módulo de Young (MPa)
1- QTS/PVA-ZnO	13,228±0,315	111,011±0,456	23,615±0,095
2- QTS/PVA-ZnO	10,085±1,455	73.497±1,657	19,905±1,514
3- QTS/PVA-ZnO	9,643±0,134	61,660±2,050	20,295±0,205
4- QTS/PVA-ZnO	5,688±0,676	205,840±4,879	3,600±0,190
5- QTS/PVA-ZnO	3,776±0,278	175,06±16,807	3,465±0,015
6- QTS/PVA-ZnO	2,928±0,164	118,384±2,267	1,745±0,285
7- QTS/PVA-ZnO	3,676±0,314	156,679±2,232	2,940±0.266
8- QTS/PVA-ZnO	4,955±0,280	121,763±13,374	10,365±0,505
9- QTS/PVA-ZnO	4,066±0,308	111,673±3,334	6,957±0,771

*A média da espessura dos corpos de prova ficaram em torno de 0,207 mm.

6.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O estudo da morfologia é importante por vários aspectos e neste caso foi usado para fins de conhecimento da miscibilidade entre os polímeros usados para a formação dos filmes, interações existentes entre os constituintes adicionais dos sistemas formados, e a comprovação da existência de poros formados. O estudo da miscibilidade entre dois ou mais polímeros em uma mistura se torna necessário, pois pode afetar as características morfológicas do material formado e de forma indireta outras propriedades.

A morfologia dos filmes obtidos foi primeiramente investigada por aspectos visuais, e para todos os sistemas estudados, os filmes apresentaram uma coloração opaca e levemente amarelada, a temperatura ambiente, homogêneos e maleáveis, e não ocorreu separação de fases nos filmes compósitos.

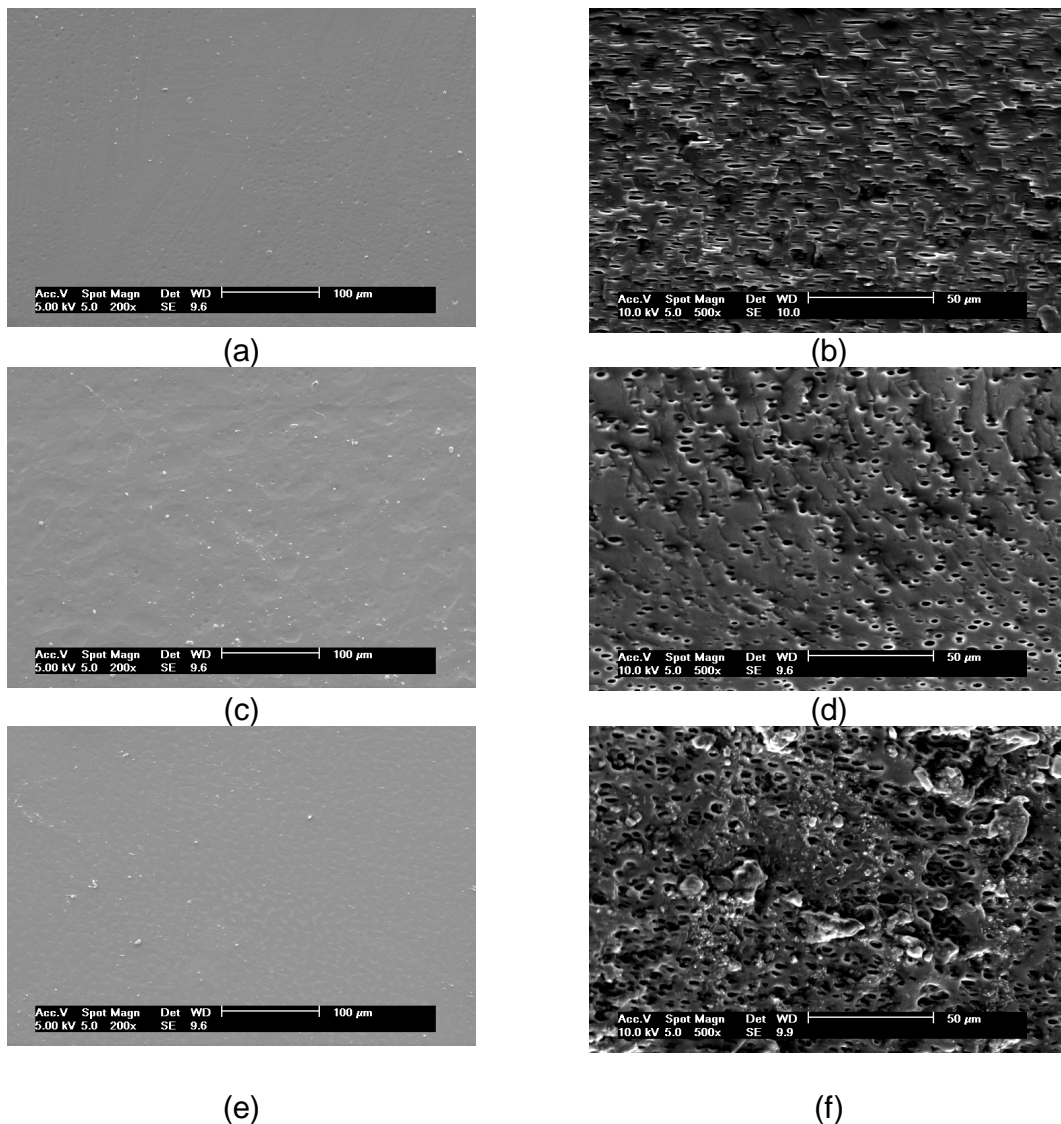


Fig. 6 . Fotomicrografia de: a) superfície 1- QTS/PVA-ZnO; b) fratura 1- QTS/PVA-ZnO; c) superfície 2- QTS/PVA-ZnO; d) fratura 2- QTS/PVA-ZnO; e) superfície 3- QTS/PVA-ZnO; f) fratura 3- QTS/PVA-ZnO.

As figuras 6(a) e 6(b) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80-10%, HAc. A figura 6(a) mostrou uma morfologia lisa e compacta, mostrando conectividade e homogeneidade entre os polímeros, possui fragmentos de ZnO na sua superfície. A figura 6(b) revela a fratura do filme com presença de

microporos na faixa de $7\ \mu\text{m}$. Os microporos apareceram em grande escala e estão interconectados.

As figuras 6(c) e 6(d) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80-5%, HAc. A superfície adquiriu uma forma rugosa, com a presença de fragmentos de óxido de zinco. Já na fratura observou-se a presença de microporos na faixa de $6\ \mu\text{m}$, também interconectados e em grande quantidade.

As figuras 6(e) e 6(f) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80-1%, HAc. A superfície mostrou uma morfologia lisa e compacta, mostrando conectividade e homogeneidade entre os polímeros, possui alguns fragmentos de ZnO na sua superfície. A fratura revelou um aspecto esponjoso, apresentando porosidade irregular.

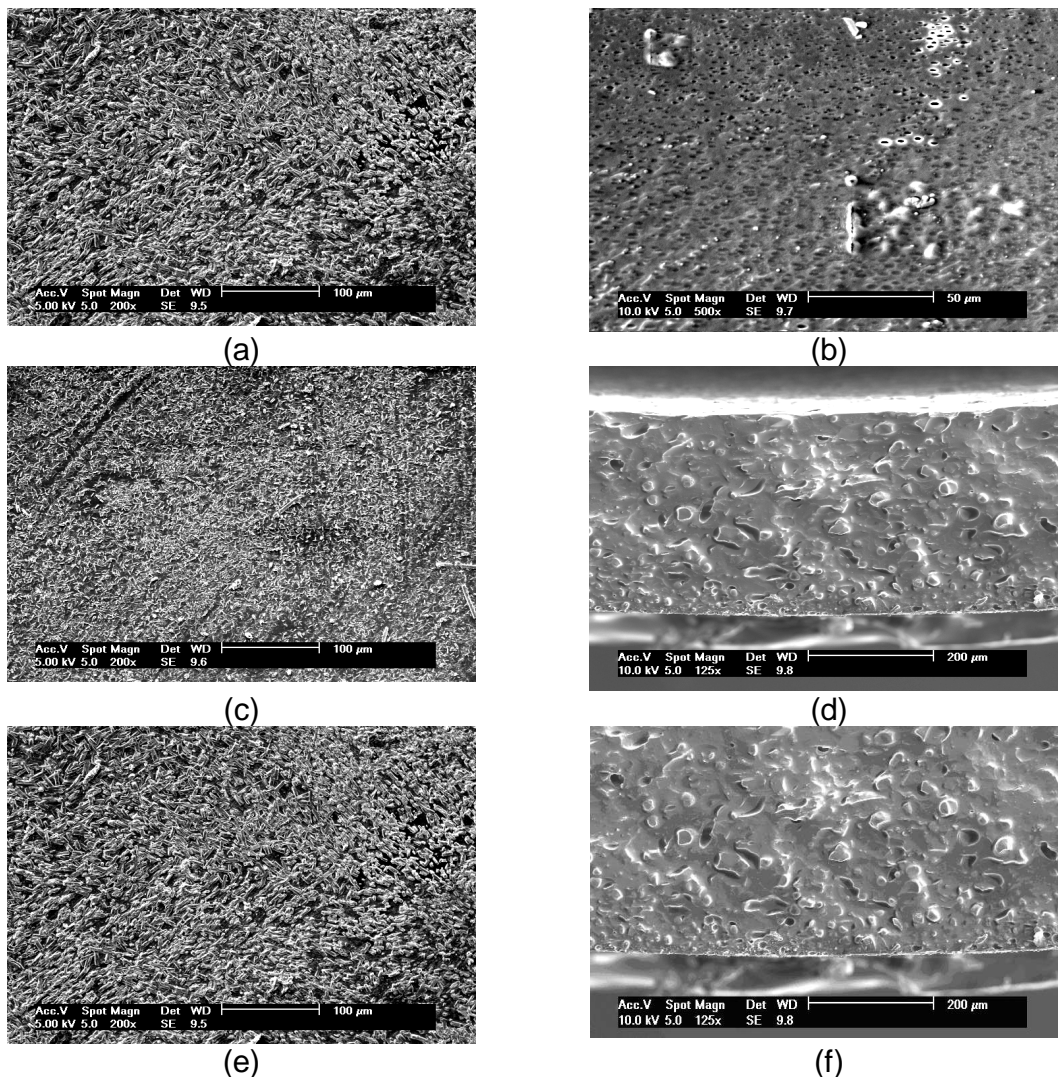


Fig. 7 . Fotomicrografia de: a) superfície 4- QTS/PVA-ZnO; b) fratura 4- QTS/PVA-ZnO; c) superfície 5- QTS/PVA-ZnO; d) fratura 5- QTS/PVA-ZnO; e) superfície 6- QTS/PVA-ZnO; f) fratura 6- QTS/PVA-ZnO

As figuras 7(a) e 7(b) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80-10%, HLa. A figura 7(a) mostrou uma morfologia com fragmentos de ZnO na forma de cristais de forma bastante regular. A figura 7(b) revela a fratura do filme com presença de microporos na faixa de $5\mu\text{m}$, onde os mesmos apareceram em grande escala.

As figuras 7(c) e 7(d) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura dos filmes compósitos de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 5%, HLa. A figura 7(c) mostrou uma morfologia com fragmentos de ZnO na forma de cristais de forma bastante regular. Já a fratura teve uma morfologia em aspecto esponjoso, observou-se a presença de microporos na faixa de $20\ \mu\text{m}$, porém de forma não tão regular.

As figuras 7(e) e 7(f) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 1%, HLa. A superfície mostrou uma morfologia com fragmentos de ZnO na forma de cristais de forma bastante regular. A fratura revela um filme com a presença de microporos na faixa de $5\ \mu\text{m}$. Os microporos apareceram em grande escala, e de forma irregular.

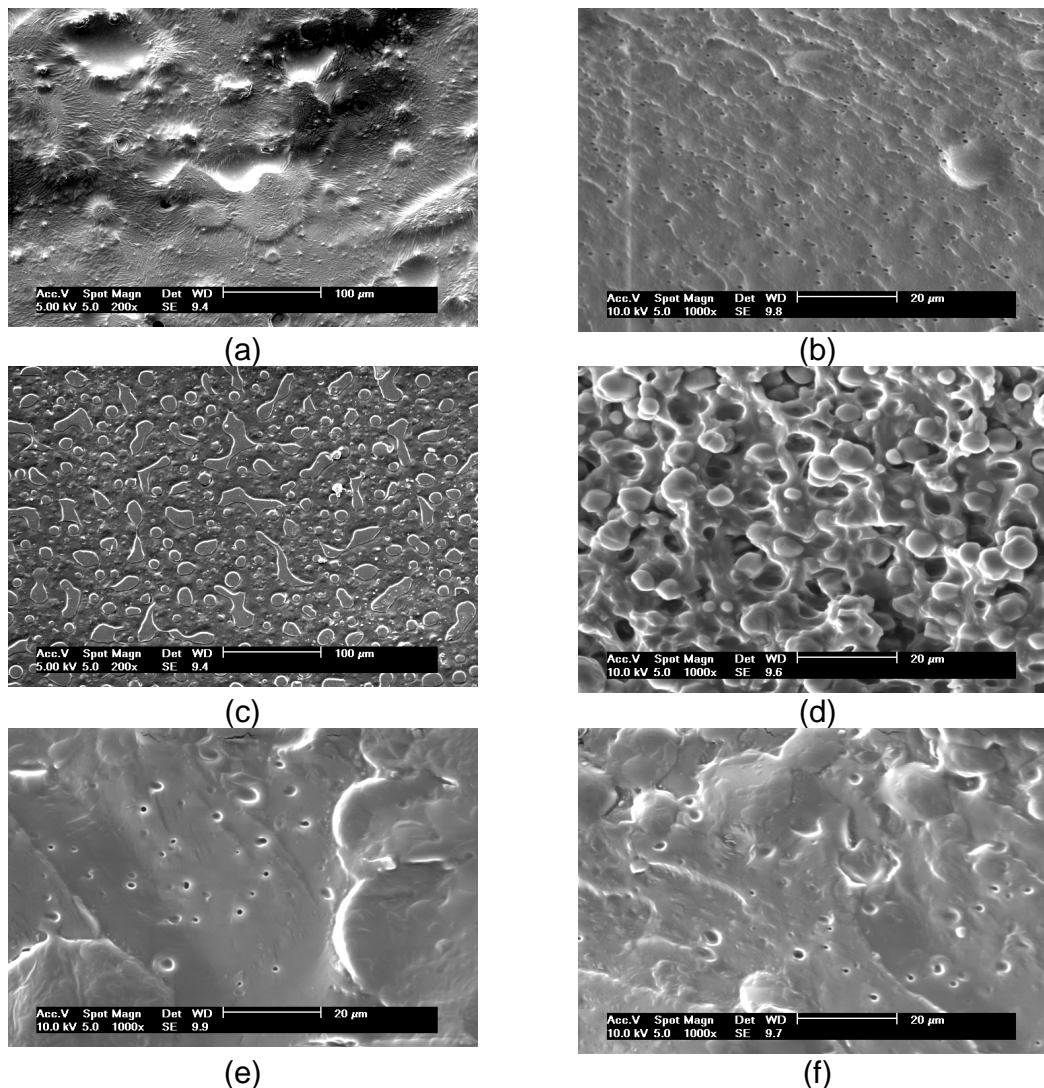


Fig. 8. Fotomicrografia de: a) superfície 7- QTS/PVA-ZnO; b) fratura 7- QTS/PVA-ZnO; c) superfície 8- QTS/PVA-ZnO; d) fratura 8- QTS/PVA-ZnO; e) superfície 9- QTS/PVA-ZnO; f) fratura 9- QTS/PVA-ZnO.

As figuras 8(a) e 8(b) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 10%, HCl. A figura 8(a) mostrou uma morfologia rugosa em forma de escamas, possui poucos mesoporos (aproximadamente 10 μm), possui fragmentos de ZnO na sua superfície. A figura 8(b) revela a fratura do filme, com presença de muitos microporos na faixa de 1 μm , de forma bastante regular.

As figuras 8(c) e 8(d) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween 80 - 5%, HCl. A superfície adquiriu uma forma esponjosa, mas apresentou uma formação bastante homogênea e lisa, o que garante boa solubilidade entre os polímeros e o material inorgânico. Já a fratura revelou uma morfologia em aspecto esponjoso, apresentou uma porosidade elevada bastante regular, o tamanho dos poros ficaram em $10\ \mu\text{m}$.

As figuras 8(e) e 8(f) revelam respectivamente as morfologias da superfície e da fratura do filme compósito de composição: QTS, PVA, ZnO, GLI, Tween80 - 1%, HCl. A superfície mostrou uma morfologia rugosa, possui alguns poros (aproximadamente $5\ \mu\text{m}$), apresentou-se de forma lisa e compacta, mostrando conectividade e homogeneidade entre os polímeros e o material inorgânico sua fratura revelou uma morfologia muito parecida com sua superfície mostrando um filme com aspecto homogêneo em todas as suas dimensões.

6.5. Determinação do grau de intumescimento (GI) dos filmes compósitos em água

As propriedades de intumescimento dos filmes compósitos QTS/PVA-ZnO tiveram diferenciação de acordo com as concentrações diferentes de Tween 80 usadas e também pelos diferentes tipos de ácidos usados na preparação das mesmas. Parâmetros fisiológicos tais como pH pode mudar drasticamente o grau de equilíbrio do intumescimento por diversas ordens de magnitude.

O grau de intumescimento (GI) dos filmes com óxido de zinco (amostra 1- QTS/PVA-ZnO a 9- QTS/PVA-ZnO) em água (pH 6,8) foram de: 260,45%, 219,72%, 189,86%, 575,63%, 517,69%, 148,23%, 105,05%, 81,12%, 48,66%, respectivamente. Foram determinadas após ter sido removida à água em excesso dos filmes, com auxílio de papel absorvente e do peso dos filmes desidratados em temperatura ambiente até peso constante.

Os graus de intumescimento e desintumescimento são propriedades dos filmes que podem ser atribuídas segundo o ambiente externo. Geralmente, o intumescimento ocorre em meios com pH abaixo de 6 e o desintumescimento em

meios com o pH entre 7 e 14. Contudo, os aditivos e / ou excipientes podem ser adicionados aos filmes para retardar ou reforçar o intumescimento ou desintumescimento, neste caso a adição do plastificante favoreceu o intumescimento, para as amostras de ácido acético e ácido lático, porém na amostra de ácido cítrico não foi favorecido, isso se deve a possível formação do íon quelato, desfavorecendo seu intumescimento.

6.6. Teste de degradação dos filmes

O objetivo deste teste dar-se-á devido ao implante da blenda em um tecido lesado, e para haver a regeneração do tecido, é necessário que o material apresente certa estabilidade, favorecendo o processo de regeneração dentro do organismo por aproximadamente uma semana, dependendo do órgão em estudo.

Através da solução de Hank, foi possível simular as propriedades fisiológicas do sangue e verificar a resistência à degradação. Foram pesados 3,0 g do filme seco. Depois de uma semana esse material foi recolhido, seco e pesado. Dessa forma analisou-se a perda de massa do filme.

Tabela 4. Percentual de perda de massa, devido à degradação dos filmes.

Amostras	% Perda de massa
1- QTS/PVA-ZnO	30,2
2- QTS/PVA-ZnO	71,3
3- QTS/PVA-ZnO	78,4
4- QTS/PVA-ZnO	77,9
5- QTS/PVA-ZnO	78,6
6- QTS/PVA-ZnO	100
7- QTS/PVA-ZnO	100
8- QTS/PVA-ZnO	100
9- QTS/PVA-ZnO	100

Devido ao efeito reticulante do aditivo Tween 80, pode-se observar que a menor concentração deste resultou na maior degradação das amostras. Assim

ocorreu nas amostras de ácido acético e ácido láctico, porém nas amostras de ácido cítrico não foi esse o comportamento, possivelmente ocorreu à formação de um íon quelato favorecendo então total degradação do filme na solução de Hank (composto por inúmeros sais), como exemplo de quelatos que podem ter surgido são: citrato de cálcio e citrato de magnésio. Provavelmente esteja ocorrendo à formação do íon quelato com o zinco, presente na blenda, havendo a formação do então quelato, citrato de zinco.

7. CONCLUSÕES

A análise termogravimétrica mostrou que adição do plastificante Tween 80, promoveu a diminuição na temperatura de degradação do filme. O filme que apresentou maior estabilidade térmica (uma menor perda de massa) foi o obtido do ácido láctico, porém essa estabilidade só se estende até a temperatura de 200°C, logo após essa temperatura a uma perda muito grande de massa.

Os resultados dos ensaios mecânicos dos filmes (Tabela 3) evidenciaram que a adição de Tween 80 elevou a rigidez, e também elasticidade com o aumento da concentração do mesmo. O filme de ácido acético mostrou maior resistência mecânica e menor elasticidade, já os filmes de ácido cítrico e ácido láctico demonstraram ser bastante elásticos e apresentaram uma menor tensão máxima, essa menor resistência é atribuída devido a grande porosidade (forma esponjosa).

A análise de microscopia eletrônica de varredura mostrou uma homogeneidade dos filmes, uma superfície lisa, e algumas rugosidades, na fratura de todas as amostras, observou-se a presença de porosidade, e também um aspecto esponjoso, esta porosidade cresceu de com o aumento da concentração do aditivo Tween 80.

O estudo do grau de intumescimento revelou que a presença do aditivo Tween 80 em maior concentração aumenta o grau de intumescimento dos filmes.

O teste de degradação mostrou que o aditivo plastificante Tween 80 induziu um efeito reticulante, podendo-se observar que a menor concentração de Tween 80 resultou na maior degradação das amostras. Assim ocorreu nas amostras de ácido acético e ácido láctico, já nas amostras de ácido cítrico, possivelmente ocorreu à formação de um íon quelato favorecendo então uma total degradação do filme na solução de Hank (composto por inúmeros sais).

Os filmes a base de quitosana poderão ser empregados em estudos de engenharia de tecidos para o desenvolvimento de células progenitoras de retina, epiteliais e ósseas em colaboração com grupos de pesquisa dos Departamentos de Bioquímica e Odontologia da UFSC.

Como base para a composição de um novo tecido, os polímeros bioreabsorvíveis a base de quitosana servirão como alternativas aos produtos da

área de engenharia de tecidos, de modo que o tecido formado seja o desejado, que a função biológica original seja restabelecida e que o procedimento seja reprodutível e de baixo custo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] SHIN, H.; JO, S. & MIKOS, A. G. *Bioresorbable Polymers in Tissue Engineering- Biomaterials*, **24**, p.4353, (2003).
- [2] GRIFFITH, L. G. & NAUGHTON, G. *Tissue Engineering-Current Challenges and Expanding Opportunities - Science*, **295**, p.1009, (2002).
- [3] LANGER, R. & VACANTI, J. P. - *Science*, **260**, p.920, (1993).
- [4] HUTMANCHER, D. W. - *Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer.r Biomaterials*, **21**, p.2529, (2000).
- [5] LLOYD-EVANS, M. - *Mater. Today, May*, p.48, (2004).
- [6] SALGADO J. A.;COUTINHO P. O.; REIS L.. *Bone Tissue Engeneering: State of the Art and Futures Trends. Macromol. Biosci.* **4**, p.743, (2004).
- [7] BARBANTI H. S.; ZAVAGLIA C. *Polímeros bioreabsrovíveis na Engenharia de Tecidos. Polímeros: Ciência e Tecnologia.* **15**, p.13, (2005)
- [8] KLONER, R. A., SOWERS, J. R., DIBONA, G.F et al. *For The Amlodipine Cardiovascular Community Trial Study Group. Sex- and age-related antihypertensive effects of amlodipine. American Journal of Cardiology.* v.77 (9): **713 – 722**, (1996).
- [9] HUNT, T. K. *The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. Surgical Gynecology Obstetrics.* v.135 :**561-577**, (1972)

- [10] DAGALAKIS, N., FLINK, J., STASIKELIS, P., BURKE, J. F., YANNAS, I. V. *Design of an artificial skin. III. Control of pore structure*, **Journal Biomedical Materials Research**. v.14 :511, (1980)
- [11] DAVIES, J. W. L. *Synthetic materials for covering burn wounds: progress towards perfection. Part I. Short term dressing materials*, *Burns* 10 (1983) 94. **Journal Membranes Science**. v.81: 71, (1993).
- [12] FWU-LONG MI., YU-BEY WU. , SHIN-SHING SHY., AN-CHONG CHAO., UIN-YIH LAI. CHIA-CHING SU. *Asymmetric chitosan membranes repared by dry/wet phase separation: a new type of wound dressing for controlled antibacterial release*. **Journal of Membrane Science**. v. 212: 237–254. (2003).
- [13] CANEVAROLO JR. SEBASTIAO V. *Técnicas de Caracterização de Polímeros*, **Artliber**, 277, p. 341, (2004).
- [14] BONFIELD W, GRYNPAS MD, TULLY AE, BOWMAN J, ABRAM J. *Hydroxyapatite reinforced polyethylene – a mechanically compatible implant material for bone replacement*. **Biomaterials** ,3, p.185, (1981).
- [15] ARGWAL BD, BROUTMAN LJ. *Analysis and performance of fiber composites*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; (1990).
- [16] OLMO N, MARTIN AI, SALINAS AJ, TURNAY J, VALLET-REGI M, LIZARBE MA. *Bioactive sol–gel glasses with and without a hydroxycarbonate apatite layer as substrates for osteoblast cell adhesion and proliferation*. **Biomaterials**, 24, p. 3383, (2003).
- [17] GOOSEN, M. E. A – “*Applications of chitin and chitosan*”, **Technomic Publishing Company, Lancaster** (1996).

[18] GOOSEN, M. E. A – “*Applications of chitin and chitosan*”, **Technomic Publishing Company, Lancaster (1996).**

[19] MATHUR, N. K. & NARANG, C. K. – **J. Chem. Educ.**, **67 (11)**, p.938 (1990).

[20] ROBERTS, G. A. F. - “*Chitin Chemistry*”, **TheMacmillan Press, London (1992).**

[21] MATHUR, N. K. & NARANG, C. K. – **J. Chem. Educ.**, **67 (11)**, p.938, (1990).

[22] ROBERTS, G. A. F. - “*Chitin Chemistry*”, **TheMacmillan Press, London (1992).**

[23] RINAUDO M, DOMARD A. Solution properties of chitosan. In: Skjak-Braek G, Anthonen T, Sandford P, editors. *Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications*. **London and New York: Elsevier;. p. 71, (1989)**

[24] ARANHA, I. B.; LUCAS, R. F.; *Poli(Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, **11, N 4**, p. 174, (2001).

[25] MARTINELLI, A.; NAVARRA, M. A.; MATIC, A.; PANERO, S.; JACOBSSON, P.; BORJESSON, L.; SCROSATI, B.; *Structure and functionality of PVdF/PAN based, composite próton conducting membranes*. **Electrochimica Acta**, **50**, p. 3992, (2005).

[26] THARANATHAN R N. *Biodegradable films and composite coatings: past, present and future*. **Trends in Food Science & Technology**; **14: 71-78, (2003).**

- [27] SOBRAL P J A, MENEGALLI F C, HUBINGER M D, ROQUES M A. *Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. Food Hydrocolloids*; **15: 423-432, (2001).**
- [28] GENNADIOS A. (Ed.). *Protein-Based Films and Coatings*. Florida: CRC Press, **(2002).**
- [29] HORAK, J.; KOULDELKA, L.; *Jorunal Materials Science* ,**29, p.1497, (1994).**
- [30] NAKANISHI, Y.; MIYAKE, A.; KOMINAMI, H.; AOKI, T.; HATANAKA, Y.; SHIMAOKA, G.; *Appl.Surf. Sci.*, **142, p.233, (1999).**
- [31] ABRAROV, S. M.; YULDASHEV, SH. U.; LEE, S. B.; KANG, T. W.; *Journal of Luminescence*, **109, p.25, (2004).**
- [32] SIGOLI, F. A.; PIRES, A. M.; STUCCHI, E.; JAFELICCI JR, B. M.; DAVOLOS, M. R.; *Química Nova*, **23, p.742, (2000).**
- [33] BARBOSA, R.; BARROS, B. S.; PORTO, R. I.; GAMA.L.; *Revista Matéria*, **10, p. 364, (2005).**
- [34] GHULE, K.; GHULE, V. A. ; CHEN, B. ; LING, Y. ; *Preparation and characterization of ZnO nanoparticles coated paper and its antibacterial activity study. Green Chem.*, **8,p. 1034, (2006).**
- [35] DING, S.J., *Biodegradation behavior of chitosan/calcium phosphate composites. Journal of non crystalline solids, Science Direct*,**353,p.2367, (2007).**