



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO - PROPESP
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - PPGCEM
Mestrado Acadêmico

TAISA LORENE SAMPAIO FARIAS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE POLI (ϵ -
CAPROLACTONA) ELETROFIADAS E MODIFICADAS COM HEPARINA E ÁCIDOS
GRAXOS ESSENCIAIS PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA

MANAUS
2021

TAISA LORENE SAMPAIO FARIAS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE POLI (ϵ -
CAPROLACTONA) ELETROFIADAS E MODIFICADAS COM HEPARINA E ÁCIDOS
GRAXOS ESSENCIAIS PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA

Dissertação apresentada como requisito
para obtenção do título de Mestre em
Ciência e Engenharia de Materiais pelo
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais - PPGCEM da
Universidade Federal do Amazonas -
UFAM.

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Marques da Silva Paula

Co-orientador:

Prof. Dr. Walter Ricardo Brito

MANAUS
2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F224d Farias, Taisa Lorene Sampaio
Desenvolvimento e caracterização de membranas de poli (-
caprolactona) eletrofiadas e modificadas com heparina e ácidos
graxos essenciais para aplicação biomédica. / Taisa Lorene
Sampaio Farias . 2021
63 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Marcos Marques da Silva Paula
Coorientador: Walter Ricardo Brito
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Eletrofição. 2. Esterilização. 3. Pcl. 4. Heparina Sódica. 5.
Ácidos Graxos Essenciais. I. Paula, Marcos Marques da Silva. II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS DE POLI (ϵ -
CAPROLACTONA) ELETROFIADAS E MODIFICADAS COM HEPARINA E ÁCIDOS
GRAXOS ESSENCIAIS PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Aprovado em 19 de fevereiro de 2021.

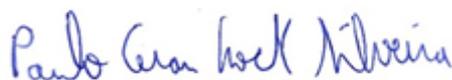
Banca examinadora



Prof. Dr. Marcos Marques da Silva Paula
Universidade Federal do Amazonas



Prof.ª. Dra. Karen Segala
Universidade Federal do Amazonas



Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira
Universidade do Extremo Sul Catarinense

À minha família e amigos, em especial, ao meu companheiro José Cavalcante Lacerda Junior.

Aos meus queridos Professores orientador e Coorientador, Marcos Marques da Silva Paula e Walter Ricardo Brido, não somente pelo apoio e suporte técnico, mas pela dedicação, pelo empenho e pelo carinho. Gratidão!

Ao Departamento de Química, Laboratório de Bioeletrônicos e Eletroanalítica na Universidade Federal do Amazonas – UFAM, em especial aos colegas de trabalho, Luciana, Ronald, Camila, Ariamna, Moisés e Dra. Joelma que dividiram seu tempo, técnicas e conhecimentos que foram essenciais para a construção dessa pesquisa.

Ao meu amor, José Cavalcante, que esteve ao meu lado durante todos esses anos compartilhando as lutas diárias e pelo apoio incondicional em todos os momentos. Sem você essa conquista não seria a mesma. Amo você!

À toda minha família que, com muito carinho e apoio me acompanhou até esta etapa de minha vida. Em especial a minha mãe, que mesmo durante os tempos de distanciamento social se fez presente através das ligações, de chás que curam todas as doenças e muitas outras coisas que são aparentemente pequenas, mas fazem toda a diferença na minha vida.

Aos meus amigos e companheiros de todas as horas, Angélica, César, Hanna, Leinize, Luciano, Polyana, Edrey, Denisa, Akemi, Solon, Vick, Beatriz, Sabrina e Bruno pela partilha das alegrias e sentimentos ao longo de muitos anos. Amo todos vocês. Obrigada por todo apoio de sempre.

À minha irmã de outra mãe, Ácsa Nat'lene, por fazer parte da minha vida e dividir comigo todos os momentos, as alegrias, tristezas, ganhos e perdas. Só tenho a agradecer a Deus por uma amizade tão linda assim, que agora se torna ainda mais forte com nascimento do meu afilhado, Théo Eloi.

Por fim, agradeço a todos aqueles que não foram citados, mas que partilharam suas opiniões e intervenções, acolhendo-me ao longo desse trajeto. Sintam-se contemplados.

Muito Obrigada!

Grandes conquistas começam com pequenas atitudes, seguidas de dedicação, fé e persistência, portanto, não peça a Deus para guiar seus passos se você não está disposto a mover seus pés.

PAIXÃO, S. (2016)

RESUMO: Este trabalho destaca o desenvolvimento de uma membrana polimérica modificada com Heparina Sódica – HS e Ácidos Graxos Essenciais – AGE utilizando a técnica de eletrofiação, para aplicação em lesões de pele, como queimaduras. Existe um grande apelo econômico e social em relação à aceleração da cicatrização de feridas, portanto, é indispensável desenvolver e investigar métodos e/ou materiais que diminuam custos financeiros, principalmente para hospitais públicos. A pesquisa em questão se desenvolve e se articula, concomitantemente, na aplicação do material produzido por esse projeto junto a um estudo clínico do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia PPGRACI/UFAM. A articulação entre as áreas, Engenharia de Materiais e Medicina é um aspecto muito importante desse trabalho pois enseja a interdisciplinaridade, e ainda põe em voga a contribuição técnica de cada área na construção de um conhecimento científico aplicado em prol da sociedade. O objetivo geral deste estudo é eletrofiar e caracterizar membranas de poli (ϵ - caprolactona) modificadas com HS e AGE. Para isto, membranas eletrofiadas contendo concentração máxima de HS e AGE foram preparadas e esterilizadas a temperatura ambiente utilizando ozônio. Ensaio microbiológicos em meios de cultura foram realizados para comprovar a eficácia da esterilização. A caracterização morfológica das membranas foi realizada através da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Foram realizados estudos dos ângulos de contato obtidos a partir do teste de molhabilidade. Membranas também foram caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), bem como a análise térmica, efetuada por meio da técnica de Termogravimetria (TGA). As membranas de PCL Pura, PCL+HS e PCL+AGE foram preparadas com sucesso por eletrofiação, utilizando-se a quantidade de 1g de PCL para todas as membranas produzidas. A quantidade máxima de AGE foi 1 g, enquanto a quantidade máxima de HS foi de 0,4 mL. O teste de esterilidade mostrou que não houve a formação colônias ou crescimento de microrganismos em nenhum dos meios de cultura durante o período de incubação de 168h. A morfologia revelou que as fibras obtidas foram bem formadas e aleatoriamente distribuídas, entretanto, a membrana de PCL + HS, apresentou pérolas em suas fibras. A adição da HS na solução polimérica alterou o diâmetro das fibras. O diâmetro médio das fibras de PCL Pura foi de $DM = 1,160 \pm 0,992 \mu m$ enquanto o diâmetro médio das fibras de PCL +HS foi de $DM = 0,981 \pm 0,663 \mu m$ e a membrana de PCL + AGE apresentou diâmetro médio de $DM = 1,53 \mu m$. Os fármacos modificaram a superfície das membranas, alterando o ângulo de contato. As membranas de PCL, de PCL + HS e de PCL + AGE apresentaram os ângulos de contato de 123° , 102° e 95° , respectivamente. A análise de FTIR do espectro da PCL+HS evidenciou uma pequena contribuição da HS apenas na banda 1417 cm^{-1} , pois as bandas 2929 cm^{-1} , 1221 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} e 791 cm^{-1} que são características da HS coincidem com bandas apresentadas no espectro de PCL. Já no espectro de PCL+AGE, observou-se a presença de bandas referentes as contribuições do óleo, que são: 3006 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} , 1654 cm^{-1} , 1378 cm^{-1} , 1233 cm^{-1} e 1159 cm^{-1} . A análise termogravimétrica revelou que não houve modificação substancial na estabilidade térmica das membranas a partir da interação entre HS e AGE com PCL. O material desenvolvido neste trabalho tem potencial aplicação médica devido a presença dos fármacos incorporados nas fibras das membranas de PCL bem como a comprovação da esterilidade do material pois este material foi aplicado em estudo clínico.

Palavras chave: Eletrofiação, Esterilização, PCL, Heparina Sódica, Ácido Graxo Essencial.

ABSTRACT: This search highlights the development of a polymeric membrane modified with sodic heparin (HS) and essential fatty acids (AGE) using the electrospinning technique, for application on skin lesions, such as burns. There is a great economic and social appeal in relation to the acceleration of wound healing, therefore, it is essential to develop and investigate methods and / or materials that reduce financial costs, especially for public hospitals. The research in question is granted and articulates, concomitantly, in the application of the material produced by this project together with a clinical study of the Postgraduate Program in Surgery PPGRACI / UFAM. The articulation between the areas, Materials Engineering and Medicine is a very important aspect of this work because it gives rise to interdisciplinarity, and even calls into question the technical contribution of each area in the construction of a scientific knowledge for the benefit of society. The general objective of this study is to electrophyte and characterize poly (ϵ - caprolactone) membranes modified with HS and AGE. For this, electrophorized membranes containing maximum concentration of HS and AGE were prepared and sterilized at room temperature using ozone. Microbiological tests in culture media were performed to prove the effectiveness of sterilization. The morphological characterization of the membranes was performed using the Scanning Electron Microscopy (SEM) technique. Studies of the contact angles of the surface of the membranes obtained from the wettability test were carried out. Membranes were also characterized by spectroscopy in the infrared region with Fourier transform (FT-IR), as well as the thermal analysis of the membranes, performed using the technique of Thermogravimetry (TGA). The membranes of PCL Pura, PCL + HS and PCL + AGE was successfully prepared by electrospinning, using the amount of 1g PCL for all membranes produced. The maximum amount of AGE in the membranes was 1 g, while the maximum amount of HS was 0.4 mL. The sterility test showed that there was no colony formation or growth of microorganisms in any of the culture media during the 168h incubation period. The morphology of the membranes revealed that the obtained fibers were well formed and randomly distributed, however, the PCL + HS membrane, showed pearls in its fibers. The addition of HS in the polymeric solution changed the diameter of the fibers. The average diameter of the pure PCL fibers was $DM = 1,160 \pm 0.992 \mu\text{m}$ while the average diameter of the PCL + HS fibers was $DM = 0.981 \pm 0.663 \mu\text{m}$ and the PCL + AGE membrane showed an average diameter of $DM = 1.53 \mu\text{m}$. The drugs modified the surface of the membranes, changing the contact angle. The PCL, PCL + HS and PCL + AGE membranes had contact angles of 123° , 102° and 95° , respectively. The FTIR analysis of the PCL + HS membrane spectrum showed a small contribution from HS only in the 1417 cm^{-1} band, the 2929 cm^{-1} , 1221 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} and 791 cm^{-1} bands are HS characteristics coincide with bands presented in the PCL spectrum. In the spectrum of the PCL + AGE membrane, the presence of bands referring to oil contributions was observed, which are: 3006 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} , 1654 cm^{-1} , 1378 cm^{-1} , 1233 cm^{-1} and 1159 cm^{-1} . The thermogravimetric analysis of the membranes revealed that there was no substantial change in the thermal stability of the membranes from the interaction between HS and AGE with PCL. The material developed in this work has potential medical application due to the presence of drugs incorporated in the fibers of the PCL membranes as well as the proof of the material's sterility as this material was applied in a clinical study.

Keywords: Electrospinning, Sterilization, PCL, Sodic Heparin, Essential Fatty Acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Efeitos da estrutura de arcabouços na adesão e proliferação celular	15
Figura 2: Esquema do processo de eletrofiação	16
Figura 3: Cone de Taylor: repulsão eletrostática das cargas na superfície da gota	17
Figura 4: Polimerização da PCL com o iniciador octanoato estanhoso - Sn(Oct).	24
Figura 5: Estrutura molecular do ozônio devido à ressonância eletrônica	28
Figura 6: Estrutura Química da Vitamina	29
Figura 7: Estrutura Química da Vitamina E	30
Figura 8: Estrutura química dos ácidos Oléico, Linoléico e Linolênico	31
Figura 9: Unidade repetida do dissacarídeo de heparina	32
Figura 10: Fluxograma do procedimento experimental.	34
Figura 11: Esquema do processo de Eletrofiação.	36
Figura 12: Glove-Box.	36
Figura 13: Embalagem à vácuo.	37
Figura 14: Teste de esterilização.	38
Figura 15: Microscopia Eletrônica de Varredura.	39
Figura 16: Esquema do teste de molhabilidade.	40
Figura 17: Representação esquemática da formação de ângulo de contato	40
Figura 18: Micrografia da membrana de: (a) fibras de PCL; (b) fibras de PCL+HS.	45
Figura 19: Micrografia da membrana de PCL+AGE a) metalizada e degradada; b) não metalizada. ...	45
Figura 20: Micrografia e histogramas de distribuição de diâmetros das fibras de PCL.....	46
Figura 21: Micrografia e histogramas de distribuição de diâmetros das fibras de PCL + HS.	47
Figura 22: Estudo dos diâmetros das membranas de PCL + AGE.....	47
Figura 23: Ângulos de contato das membranas de PCL, PCL + HS e PCL + AGE.	48
Figura 24: Adesividade das membranas de PCL, PCL+SH e PCL+AGE. Fonte: Ricardo, 2020.....	49
Figura 25: Espectros da HS e membranas de PCL pura e PCL+HS.	50
Figura 26: Espectros do AGE e das membranas de PCL Pura e PCL+AGE.	52
Figura 27: Termogravimetria e derivada termogravimétrica das membranas de (a) PCL; (b) PCL+HS e (c) PCL+AGE. As curvas em vermelho são referentes ao TGA e em azul ao DTGA.....	55

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3.1 Eletrofição.....	15
3.2 Poli (ϵ -Caprolactona) – PCL.....	23
3.3 Polímeros em sistemas de liberação controlada de fármacos.....	25
3.4 Esterilização a temperatura ambiente utilizando o gás ozônio.....	27
3.5 Ácidos Graxos Essenciais.....	29
3.6 Heparina Sódica.....	31
4. METODOLOGIA.....	34
4.1 Materiais.....	34
4.2 Métodos.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1 Eletrofição.....	42
5.2 Esterilização utilizando O ₃	44
5.3 Caracterização morfológica das membranas.....	44
5.4 Ângulo de Contato – Estudo da molhabilidade.....	48
5.5 Caracterização Química – FTIR.....	50
5.6 Análise termogravimétrica – TGA.....	53
6. CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

INTRODUÇÃO

O desafio de desenvolver produtos oriundos de materiais biocompatíveis e bioabsorvíveis é coligar eficácia e segurança, principalmente quando se trata de um dispositivo médico. Isto exige conhecimentos científicos essenciais e abrangentes em engenharia, química, biologia, biofísica, entre outros. A Engenharia, enquanto uma ciência com inúmeras interfaces atua na transformação da composição, de estado físico ou conteúdo energético de matérias primas. E ainda, opera no desenvolvimento de uma série de produtos úteis ao ser humano, englobando o desenvolvimento de materiais poliméricos aplicáveis na indústria farmacêutica e na medicina (COIMBRA, 2010; PAULA, 2018).

Materiais poliméricos estão no foco dos pesquisadores que procuram aprimorar as técnicas para permitir o melhor conhecimento sobre suas propriedades e aplicações. São materiais muito versáteis, sendo utilizados, por exemplo, em membranas para processos de separação e purificação de água, em filmes para a embalagem de alimentos, na produção de elementos condutores para a fabricação de sensores e muitas outras aplicações (GHOMI *et al.*, 2019). Uma aplicação atraente é a produção de sistemas de liberação de fármacos para aplicação biomédica. Estes sistemas têm como objetivo principal o controle temporal e espacial de sua concentração para que o benefício clínico da administração destes fármacos seja maximizado e os efeitos adversos minimizados. A liberação controlada implica a associação, química ou física, dos fármacos com materiais biocompatíveis em sistemas que tenham a capacidade de controlar, de forma pré-determinada, a taxa de libertação/entrega do fármaco a partir desse mesmo sistema (COIMBRA, 2010).

Para tanto, existe uma variedade de técnicas que podem ser utilizadas para a criação de membranas poliméricas, dentre as quais se destaca a eletrofiação (*electrospinning*), termo derivado de “fiação eletrostática”, que é um processo de fabricação de fibras nanométricas contínuas. Segundo Garg e Bowlin (2011), o interesse nesta técnica cresceu nos últimos anos, pois permite a fabricação de fibras com potencial nas áreas biomédicas, como *scaffolds* (suportes porosos tridimensionais), sistemas de liberação controlada de fármacos, em processos industriais, como meios filtrantes de alta eficiência, vestuários de proteção, catalisadores, materiais adsorventes e sensores. Membranas eletrofiadas de poli (ϵ -Caprolactona) – PCL são um dos dispositivos mais pesquisados para desenvolvimento de tecnologias para a engenharia de tecidos, bem como, para na ampliação de estudos de membranas poliméricas como sistemas de liberação controlada de fármacos e recobrimento de feridas complexas (queimaduras, feridas de pé diabético, entre outras) (REDIGUIERI *et al.*, 2017). Nesse sentido, um fármaco

interessante para ser liberado em ferimentos complexos é a heparina, que é um polissacarídeo sulfatado, usado há mais de 50 anos como droga anticoagulante. Esse polímero, obtido a partir de tecidos animais, é o segundo agente terapêutico natural mais utilizado no mundo, superado apenas pela insulina (CRAFOORD, 1941; JIN *et. al.*, 1997).

No Brasil, por exemplo, existe uma gama de óleos essenciais oriundos de plantas amazônicas com características cicatrizantes e anti-inflamatórias, ou até plantas oriundas de outros países, como por exemplo, o óleo de girassol, flor de origem norte-americana. Nestes óleos, os ácidos graxos mais abundantes são o oléico, linoléico e linolênico (ômega 9, 6 e 3 respectivamente). A maioria dos estudos que abordam o tema “ácidos graxos essenciais – AGE” e cicatrização foi realizada na América do Sul, destacando-se o Brasil, e poucos estão publicados em revistas de circulação internacional, e por isso há uma necessidade de explorar e expor pesquisas envolvendo AGE na cicatrização de feridas (PIEPER, CARILI, 2003; HATANAKA, CURI, 2007).

Existe, ainda, um grande apelo econômico e social em relação à aceleração da cicatrização de feridas, portanto, é indispensável desenvolver e investigar métodos e/ou materiais que diminuam custos financeiros, principalmente para hospitais públicos. Diante disto, é necessário diminuir o tempo de cicatrização das feridas, ou seja, diminuir o tempo em que um paciente fica fisicamente vulnerável, o que acarreta na diminuição do tempo de internação.

Ao assentar essa última perspectiva, a pesquisa em questão se desenvolve e se articula, concomitantemente, na aplicação do material produzido por esse projeto junto a um estudo clínico proposto pela Dra. Joelma Ricardo mestrande do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFAM. A articulação entre as áreas, Engenharia de Materiais e Medicina, é outro aspecto relevante desse projeto uma vez que não somente enseja a interdisciplinaridade, mas põe em voga a contribuição técnica de cada área na construção de um conhecimento científico aplicado em prol da sociedade.

Diante do exposto, afirma-se o interesse científico e social em produzir membranas eletrofiadas de PCL contendo fármacos naturais e sintéticos, devido suas características atraentes para a aplicação médica, principalmente a biocompatibilidade, biodegradação e não toxicidade do polímero em uso, características que são de extrema importância para dispositivos de liberação de fármacos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento e caracterizar membranas eletrofiadas de poli (ϵ - caprolactona) modificadas com heparina sódica e/ou ácidos graxos essenciais com liberação controlada de fármacos para aplicação biomédica.

2.2 Objetivos Específicos

1. Eletrofiar membranas de PCL incorporando a HS e membranas de PCL incorporando a quantidade máxima de AGE.
2. Esterilizar as membranas modificadas a temperatura ambiente utilizando ozônio. Atestando a esterilidade do material para aplicação biomédica.
3. Caracterizar morfologicamente as membranas modificadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).
4. Determinar a molhabilidade das membranas modificadas por meio de ângulos de contato obtidos a partir de suas superfícies.
5. Caracterizar as membranas modificadas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier.
6. Avaliar as características térmicas das membranas modificadas através da técnica de Termogravimetria (TGA).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Eletrofição

Anteriormente, indicava-se que as estruturas macroporosas de arcabouços usados principalmente na engenharia de tecidos, mimetizavam em termos dimensionais a matriz extracelular, e ainda, indicava-se que esta matriz extracelular servia ao único propósito de dar suporte às células teciduais (DVIR, *et al.*, 2011). Entretanto, com o desenvolvimento de técnicas como a eletrofição, a qual produz arcabouços em escala submicrométrica, foi possível produzir estudos comparativos os quais apontaram que alguns materiais utilizados como arcabouços macroporosos não mimetizavam o microambiente celular. Descobriu-se ainda, que a matriz extracelular é um nanocompósito dinâmico e organizado de forma hierárquica, que além de dar suporte estrutural e integridade mecânica às células, regula funções celulares essenciais de acordo com suas composições e arranjos (PLACE, EVANS, STEVENS, 2009).

A Figura 1 exemplifica o comportamento celular em arcabouços com diferentes estruturas, indicando que os arcabouços formados por nanofibras proporcionam maiores interações entre as células e o meio extracelular. As Figuras A e B correspondem às células se ligando a arcabouços formados por microestrutura (ficam planas e espalhadas, como se estivessem sendo cultivadas em uma superfície plana). A Figura C corresponde a arcabouços com estrutura na escala nanométricas (possuem maior área superficial para adsorver proteínas, apresentando muitos sítios de ligação dos receptores da membrana). As proteínas adsorvidas podem mudar de conformação, expondo sítios de ligação adicionais (DVIR, *et al.*, 2011).

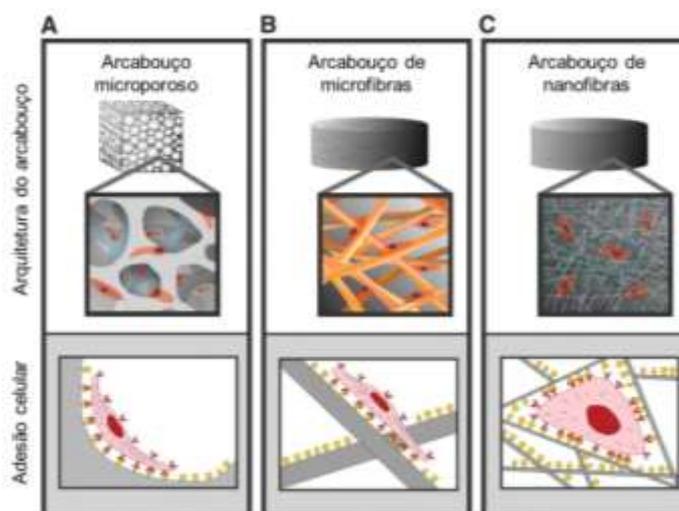


Figura 1: Efeitos da estrutura de arcabouços na adesão e proliferação celular. Fonte: Extraído de Redigueri, 2016.

Existem outras técnicas interessantes para a fabricação de fibras nanométricas, entretanto a eletrofição proporciona maior controle de diâmetro das fibras. Além disso,

polímeros eletrofiados possuem várias características surpreendentes, como por exemplo, flexibilidade nas funcionalidades de superfície e desempenho mecânico superior, rigidez, resistência à tração, alta porosidade, grande área superficial em relação a sua massa, flexibilidade, desempenho mecânico e pequeno espaço entre as fibras, em comparação com qualquer outra forma conhecida do material. Essas excelentes propriedades fazem das nanofibras poliméricas eletrofiadas um material ideal para muitas aplicações importantes, em especial para aplicações médicas (HUANG *et al.*, 2003; OKUTAN *et al.*, 2014).

Dentre estas aplicações, destacam-se como suporte para sistemas de liberação de fármacos, biossensores, membrana para recobrimento de feridas, catálises e membranas para filtrações (GOETZ *et al.*, 2016). Uma grande variedade de soluções poliméricas e polímeros fundidos, tanto sintéticos quanto naturais podem ser aplicados na eletrofiação (BHARDWAJ *et al.*, 2010).

A técnica de eletrofiação tem sido muito explorada por ser facilmente aplicada, além de obter resultados melhores: maior uniformidade nas fibras, maior área-volume de fibra e maior porosidade (HAIDER *et al.*, 2015). Esta técnica consiste em quatro componentes principais: uma fonte de alta tensão; um tubo capilar, que pode ser uma agulha de pequeno diâmetro; uma bomba de infusão; e uma placa coletora aterrada. A alta voltagem é necessária para criar um jato de solução de polímero eletricamente carregado para fora do capilar formando assim o Cone de Taylor (GARG; BOWLIN, 2011). A Figura 2 mostra o esquema do processo de eletrofiação.

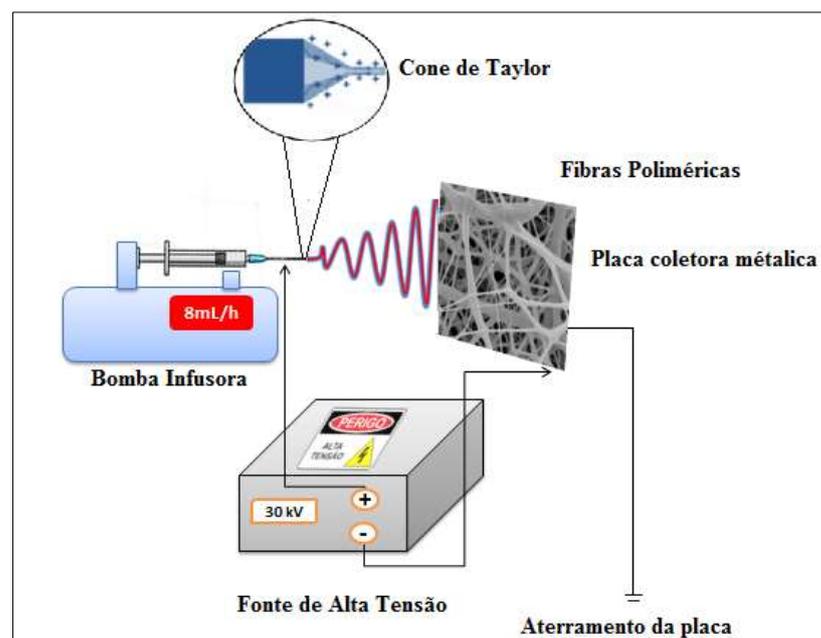


Figura 2: Esquema do processo de eletrofiação. Fonte: Autora, 2020.

O Cone de Taylor, observado na Figura 3, é formado devido à diferença de potencial em uma gota de solução polimérica, na ponta de um injetor ou agulha metálica. Quando a carga aplicada for superior à tensão superficial do líquido, este se deforma em forma de cone e é ejetado da gota na forma de um fino jato. O solvente deste jato evapora e o polímero é coletado em um coletor metálico aterrado na forma de uma fibra, com diâmetro de nanômetros a micrômetros (VIEIRA, 2016).

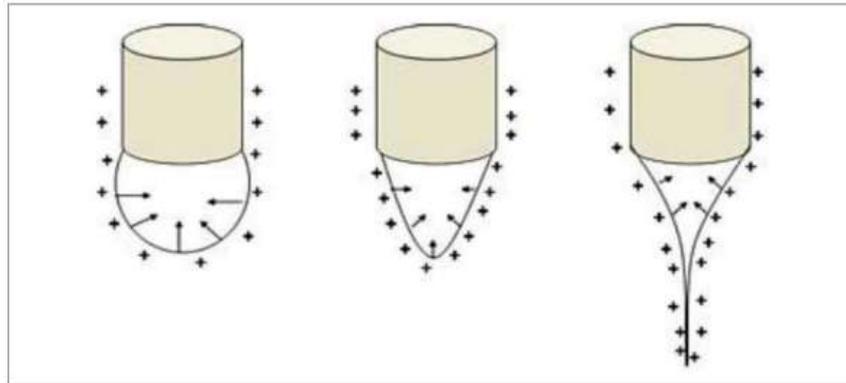


Figura 3: Cone de Taylor: repulsão eletrostática das cargas na superfície da gota. Fonte: Dreyer, 2015.

Segundo Vieira (2016), vários parâmetros podem influenciar no processo de eletrofiação e conseqüentemente na morfologia das fibras, podendo ser separados em parâmetros de processo, de solução e ambientais.

3.1.1 Parâmetros da solução

Os parâmetros de solução influenciam nas morfologias e na geometria das nanofibras. Eles estão relacionados com as propriedades físico-químicas dos solventes, dos polímeros e com as interações do tipo polímero-solvente (COSTA et al., 2012). A escolha de um solvente ideal para cada tipo de polímero é importante para que este seja totalmente solubilizado, e seja adequado para a geração da morfologia de interesse das fibras (WANNATONG et al., 2004).

Um polímero com alta massa molar é menos solúvel, gastando mais tempo para se dissolver quando comparado ao mesmo polímero com uma menor massa molar. A massa molar de um polímero também influencia diretamente na viscosidade da solução (WANNATONG et al., 2004). A viscosidade da solução está associada com o grau de emaranhamentos das cadeias poliméricas do polímero em solução. Para que ocorra a formação de fibras uniformes e sem pérolas (contas, grânulos ou defeitos) no processo de eletrofiação, é necessário que se tenha um valor mínimo de emaranhamento, o qual corresponde a um valor de viscosidade mínima (COSTA et al., 2012). Um aumento na viscosidade ou concentração da solução origina fibra com diâmetro maior e mais uniforme. Quando a viscosidade da solução é muito baixa pode não

haver material suficiente no jato e grau de emaranhamento adequado para que uma fibra contínua se forme. Nesse caso, tem-se a formação de micro/nano gotas (*electrospraying*). Por outro lado, se a viscosidade da solução for muito alta, a agulha pode ficar obstruída, ou então a bomba pode não ter potência suficiente para bombear uma solução muito viscosa, que inviabiliza o processo de eletrofiação (KULKARNI et al., 2010; COLLINS et al., 2012).

A tensão superficial está relacionada com a formação do cone de Taylor. A tensão aplicada tem que ser alta suficiente para que as forças eletrostáticas superem a tensão superficial da gota, e a partir dessa voltagem (voltagem crítica), o processo de fiação é iniciado (COSTA et al., 2012).

Vários solventes podem contribuir com diferentes tensões superficiais. Quando existe uma concentração alta de moléculas de solventes livres, há uma tendência das moléculas do solvente se agregarem e adquirirem uma forma esférica devido à tensão superficial. Já uma viscosidade elevada permite uma maior interação entre moléculas do solvente e do polímero. Sob influência das cargas, o jato polimérico sofre alongação e as moléculas dos solventes se espalham sobre o polímero emaranhado, reduzindo a possibilidade da união das moléculas do solvente sob influência da tensão superficial (BHARDWAJ e KUNDU, 2010).

A condutividade elétrica está ligada a quantidade de carga na solução. Uma maior condutividade com adição de sais nas soluções possibilita maior fluidez de carga e uma aceleração eletrostática maior, sob mesmo campo elétrico (RAMAKRISHNA et al., 2005), ou seja, o tipo de polímero utilizado, solvente e a disponibilidade de sais ionizáveis determinam a condutividade elétrica na solução. O aumento da condutividade elétrica da solução diminui significativamente o diâmetro das nanofibras eletrofiadas e o número de defeitos, enquanto que a baixa condutividade da solução forma um alongamento insuficiente do jato pela força elétrica para formação de fibras uniformes e livres de grânulos (BHARDWAJ e KUNDU, 2010).

Todos esses fatores ligados à concentração dos polímeros na solução, o tipo de solvente utilizado, a condutividade e a tensão aplicada controlam o diâmetro das fibras (BAJI et al., 2010).

3.1.2 Parâmetros do processo

A tensão aplicada entre a agulha contendo a solução e o coletor é facilmente ajustada e crucial na eletrofiação. Assim que a força eletrostática supera a tensão superficial da solução, a alta tensão irá induzir cargas na solução junto com o campo elétrico externo (BAJI et al., 2010).

Dependendo das propriedades da solução e da distância de trabalho, os campos elétricos no processo de eletrofiação ocorrem na ordem de 1-5kV/cm. Isso significa trabalhar com

tensões na ordem quilovolts, podendo variar entre 1 a 30 kV, para distâncias entre 5 a 30 cm (ALCOBIA, 2013).

Na maioria dos casos, uma tensão mais elevada provoca uma alongação da solução devido a maiores forças eletrostáticas no jato, como também um forte campo elétrico, o que implica em redução no diâmetro das fibras e uma rápida evaporação do solvente. Assim, a tensão influencia no diâmetro das fibras, mas juntamente com a concentração da solução do polímero e a distância entre a ponta da agulha e a placa coletora metálica (BHARDWAJ e KUNDU, 2010).

A vazão da solução determina a quantidade de solução disponível para a eletrofiação. Quando ocorre um aumento da taxa de alimentação, aumenta-se o diâmetro das fibras ou o tamanho das estruturas globulares já que há um aumento do fluxo da solução que é ejetada da ponta da agulha (WANG et al., 2004). Vazão elevada necessita de um tempo maior para vaporização do solvente para não originar fibras com defeitos (HUANG et al., 2003). Para que o solvente tenha tempo suficiente para evaporar, o ideal é que o fluxo seja contínuo e a taxa de alimentação seja baixa (WANG et al., 2004).

A temperatura da solução aumenta a taxa de evaporação do solvente e reduz a viscosidade na solução polimérica. Em casos em que ocorre a presença de substâncias biológicas, tais como enzimas ou proteínas adicionadas na solução poliméricas, tais substâncias podem perder sua atividade biológica em elevadas temperaturas (DEMIR et al., 2002).

O diâmetro interno da agulha tem efeito sobre o processo de eletrofiação. Quando o volume da gota na ponta da agulha é reduzido com a redução do diâmetro da agulha, a tensão superficial da gota aumenta. Para a mesma tensão fornecida, a força eletrostática deve ser maior para que se inicie o jato. Um coletor metálico cilíndrico em rotação é muito utilizado para obtenção de nanofibras alinhadas. A tração fornecida pela velocidade de rotação do cilindro é o mecanismo que define o alinhamento dessas fibras (BAJI et al., 2010). Quando o cilindro apresenta uma rotação baixa não há mecanismo de alinhamento das fibras, as quais acabam por apresentar formas aleatórias. É necessária uma distância mínima entre a agulha e a placa coletora para que haja tempo suficiente para evaporar o solvente antes de atingir a placa coletora (SILL e RECUM, 2008), e um valor máximo para que o campo elétrico estabilize o cone de Taylor, e conseqüentemente a formação de nanofibras (COSTA et al., 2012). Em distâncias muito próximas ou muito afastadas, pode ser observada a presença de grânulos ao invés de fibras (KULKARNI et al., 2010).

3.1.3 Parâmetros ambientais

Os parâmetros ambientais, como umidade, temperatura e composição do ar também podem influenciar na formação e morfologia das nanofibras (MEDEIROS et al., 2009). Por isso é interessante realizar o processo de eletrofiação em um ambiente em condições controladas. O nível de umidade e gases atmosféricos pode afetar a taxa de evaporação de solventes à base de água. Em um ambiente rico em água, é observada a formação de uma pele com contornos bem definidos ao redor do jato eletrofiado, enquanto que em uma situação oposta, uma fina estrutura permite uma evaporação rápida do solvente (COLLINS et al., 2012).

3.1.4 Aplicações na área biomédica

A técnica de eletrofiação é bem versátil, o que possibilita o processamento de diferentes materiais sintéticos ou naturais, com ou sem adições de substâncias biológicas como fatores de crescimento, proteínas e elementos de matriz extracelular (HUANG et al., 2003; BHARDWAJ e KUNDU, 2010). Tais características permitem a produção de materiais para as mais variadas aplicações tecnológicas, como produção de biossensores, geração de energia, filtros de alta eficiência, dispositivos eletrônicos, entre outros (COSTA et al., 2012; ALCOBIA, 2013). É importante destacar o uso da eletrofiação para aplicações biomédicas, como a engenharia de tecidos, liberação de drogas, curativos, imobilização de enzimas, etc.

A engenharia de tecidos ou medicina regenerativa é um campo interdisciplinar que envolve conhecimentos da química, medicina, biologia, engenharia e ciência dos materiais. A engenharia de tecidos faz uso de três componentes básicos, a saber: células, *scaffolds* e biomoléculas (JANG et al., 2009).

As estruturas das nanofibras eletrofiadas apresentam dimensões que se assemelham a dos componentes extracelulares do corpo humano (COSTA et al., 2012). Quando a matriz celular é destruída por doenças, ferimentos ou defeitos congênitos, o uso de *scaffolds* para regenerar uma nova matriz celular pode oferecer suporte para as células, posterior integração ao tecido ativo e proporcionar a vascularização, sem resposta imune agressiva (AGARWAL et al., 2008; KAI et al., 2014). Os *scaffolds* também podem fornecer suporte mecânico e serem usados como meio para liberação de antibióticos ou fatores de crescimento para acelerar o crescimento do tecido, cura ou para prevenir infecções (DASH e KONKIMALLA, 2012).

Nas aplicações de engenharia de tecidos, muitas vezes o uso de fibras eletrofiadas envolve várias considerações, incluindo a escolha do material, a orientação das fibras, porosidade, modificação da superfície e aplicação nos tecidos (KAI et al., 2014). Os materiais

naturais e sintéticos (biodegradáveis e não-biodegradáveis), bem como misturas de dois polímeros, podem proporcionar uma ótima combinação de propriedades mecânicas, entre outras, que são semelhantes às do tecido que se pretende substituir. A porosidade garante uma eficiência no transporte dos nutrientes e oxigênio aos tecidos, mas não deve ser excessiva para comprometer a estabilidade mecânica dos *scaffolds* (CUNHA et al., 2011).

Variando-se os parâmetros de processamento, a flexibilidade na seleção dos materiais e capacidade de controlar suas propriedades, os *scaffolds* podem ser otimizados para cada aplicação específica, até mesmo modificar as superfícies com moléculas bioativas (SILL e RECUM, 2008; KULKARNI et al., 2010).

Ao escolher um material para uma aplicação de engenharia de tecidos, ele deve ser biocompatível com todos os elementos celulares. A toxicidade, assim como respostas inflamatórias e imunes devem ser minimizadas, para propiciar uma interação celular favorável à regeneração. Além disso, os biomateriais devem ser biodegradáveis e biorreabsorvíveis para evitar inflamação prolongada (CUNHA et al., 2011).

Pesquisas iniciais em biocompatibilidade com a utilização de materiais bioinertes tentam reduzir interações específicas, onde esse material apresenta poucas interações específicas com o meio envolvido, incluindo os tecidos ou fluidos circundantes extracelulares (VATANKHAH et al., 2014). Por outro lado, a incorporação de materiais bioativos pode interagir com o ambiente biológico facilitando a regeneração celular (VATANKHAH et al., 2014). Esses materiais bioativos podem apresentar fatores como o de crescimento celular, estimuladores de angiogênese, proteínas, gene, etc. (HERNÁNDEZ et al., 2010).

A escolha de um material biodegradável permite eliminar uma segunda cirurgia para a remoção do material implantado (SILL e RECUM, 2008; ORÉFICE et al., 2012). Portanto, na engenharia de tecidos, é possível a criação de *scaffolds* reprodutíveis e biocompatíveis para reparação de tecidos vascular, ósseo, neural, pele, tendão/ligamentos entre outros (KULKARNI et al., 2010; ORÉFICE et al., 2012; KAI et al., 2014).

Do ponto de vista biológico, quase todos os tecidos e órgãos humanos são depositados em forma de nanofibras ou estruturas. Exemplos incluem: ossos, dentina, colágeno, cartilagem, pele. Todos eles são caracterizados por uma matriz organizada hierárquica de estruturas fibrosas realinhadas em escala nanométrica. Nas últimas décadas as pesquisas concentraram-se principalmente na fabricação de nanofibras para aplicações em bioengenharia. (HUANG et al., 2003).

3.1.5 Próteses Médicas

Nanofibras poliméricas fabricadas via eletrofiação têm sido propostas para um número de aplicações em próteses de tecidos moles, tais como vasos sanguíneos, de mama, entre outras. Além disso, nanofibras fiadas de polímero biocompatível podem ser também depositadas como uma película fina porosa para um dispositivo de tecido duro protético concebido para ser implantado no corpo humano. Esta película de revestimento funciona como um dispositivo de estrutura fibrosa em interface entre a prótese e os tecidos do hospedeiro, e é esperado que reduza eficientemente o desgaste na interface tecido/dispositivo e, conseqüentemente, evite a falha do dispositivo após o implante (HUANG *et al*, 2003).

3.1.6 Engenharia Tecidual

Para o tratamento de tecidos ou órgãos em mal funcionamento no corpo humano, um dos desafios para o campo de engenharia de tecidos/biomateriais é o estudo de *scaffolds*/matrizes sintéticas que podem imitar a estrutura e funções biológicas da matriz extracelular (ECM). As células humanas podem se anexar e organizar em torno de fibras com diâmetros menores do que os das células. Portanto, *scaffolds* fibrosos em nanoescala podem proporcionar um modelo ideal para as células migrarem e crescerem ao seu redor. A regeneração bem-sucedida de tecidos e órgãos biológicos chama a atenção para o desenvolvimento de estruturas fibrosas com arquiteturas de fibras benéficas para deposição e proliferação celular. O interesse na engenharia de tecidos é voltado para a criação de *scaffolds* reprodutíveis e biocompatíveis resultando em biocompósitos de matriz polimérica para procedimentos de reparação tecidual e vários procedimentos de substituição ou reparação tecidual (HUANG *et al*, 2003; SILL, RECUM, 2008; KULKARNI *et al*, 2010).

3.1.7 Curativo

Um curativo ideal deve conferir proteção à ferida contra micro-organismos externos, agressões químicas e físicas, assim como a promoção da epitelização e da cicatrização, estimulando adesão, diferenciação e proliferação celular. Ressalta-se que nos últimos anos diferentes tipos de curativos foram desenvolvidos, entre eles se destacam filmes, hidrocoloides, hidrogéis, micro e nanofibras. O mecanismo de propriedades curativas dos biomateriais está se tornando um ponto estímulo à pesquisa (CARBONI *et al.*, 2019; MIGUEL *et al.*, 2019).

As membranas nanofibrosas confeccionadas por eletrofiação possuem propriedades intrínsecas como elevada razão de área superficial/volume, também elevada microporosidade e

a semelhança estrutural com a matriz extracelular da pele e suas aplicações em feridas são consideradas promissoras (MIGUEL et al., 2019; CARBONI et al., 2019)

Nanofibras poliméricas também podem ser usadas para o tratamento de feridas ou queimaduras da pele humana, bem como concebido para dispositivos hemostáticos com algumas características únicas. Com o auxílio do campo elétrico, fibras finas de polímeros biodegradáveis podem ser diretamente colocadas no local da ferida da pele para formar uma densa esteira fibrosa, que pode curar as feridas, incentivando a formação e crescimento normal da pele. Membranas de nanofibras para curativos normalmente têm tamanhos de poros que variam de 500 nm a 1 mm, suficientemente pequena para proteger a ferida da penetração bacteriana. A eficiência de um filtro aumenta com a diminuição de diâmetro da fibra (HUANG et al, 2003; BHARDWAJ, KUNDU, 2010).

3.2 Poli (ϵ -Caprolactona) – PCL

A poli(ϵ -caprolactona) – PCL foi um dos primeiros polímeros sintetizados pelo grupo de Carothers no início de 1930 (SINHA et al., 2004), sendo que sua biodegradação começou a ser estudada em 1973 e tem sido até hoje um polímero estudado na área de biomateriais biodegradáveis, mais especificamente reabsorvíveis, ou seja, materiais poliméricos e dispositivos sólidos que mostram ter degradação resultando na redução de tamanho e que são reabsorvidos *in vivo*, sendo desta forma eliminados do corpo por vias metabólicas, como a via do ciclo do ácido cítrico (SISSON, 2013).

Woodruff e Hutmacher (2010), afirmaram que de 1970 a 1980 os polímeros reabsorvíveis ganharam um destaque muito grande na área de biomateriais e a PCL ganhou relevância, sendo utilizada extensivamente como dispositivo de entrega de drogas, porém foi substituída por polímeros que são reabsorvíveis mais rapidamente, já que a degradação da PCL é naturalmente lenta, podendo levar de 2 a 4 anos (WOODRUFF e HUTMACHER, 2010).

A PCL é um poliéster alifático biodegradável, de cadeia linear, ou seja, não possui grupos laterais volumosos. É semicristalino, com grau de cristalinidade de 50%, podendo atingir até os 69% (AIRES, 2012). Por ser um polímero semicristalino é mais resistente e duro, devido suas fortes interações intermoleculares e como as regiões cristalinas espalham a luz, a PCL é mais opaca, característica dos polímeros semicristalinos (DA SILVA, 2012). De caráter hidrofóbico (ALBINI, 2012), possui uma baixa temperatura de fusão ($T_m = 60^\circ\text{C}$), o que pode gerar problemas durante o processamento (SERRANO, 2004). Tem uma temperatura de cristalização que pode variar de 39 a 47°C (PLIVELIC et al, 2005). Contudo, devido à sua baixa temperatura de transição vítrea ($T_g = -60^\circ\text{C}$) e habilidade para aumentar a mobilidade

molecular de outros polímeros, a PCL tem sido usada como plastificante polimérico (WESSLER, 2007; AMASS et. al, 1998; SOLOMÃO, 2011).

A PCL possui boas propriedades mecânicas como resistência à tração e alongamento, sendo biocompatível, biodegradável e apresenta facilidade em formar blendas com outros polímeros (NAIR; LAURENCIN, 2007).

Segundo Gonçalves (2015) a poli (ϵ -caprolactona) ou policaprolactona (PCL) pode ser sintetizada de duas maneiras. Através da policondensação de um ácido hidrocarboxílico, ou por polimerização através da abertura de anel de ϵ -caprolactona utilizando os mecanismos de iniciação iônica, que formam radicais livres que se combinam com o monômero e dão origem ao crescimento da cadeia, para então obter a unidade repetitiva. Na figura 4, é possível observar a polimerização da PCL com o iniciador octanoato estanhoso – Sn(Oct).

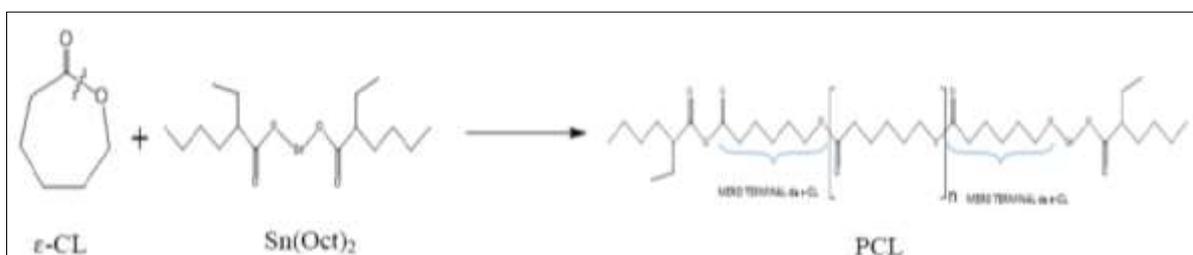


Figura 4: Polimerização da PCL com o iniciador octanoato estanhoso - Sn(Oct). Fonte: Gonçalves, 2015.

Segundo Da Silva (2012), sua hidrofobicidade é resultado da presença de grupos metilênicos não polares e um grupo éster, relativamente polar, em cada unidade que se repete, além de outras qualidades que estão associadas a PCL como sua alta permeabilidade, alta solubilidade em solventes orgânicos e sua estabilidade ao calor. Mencionando a solubilidade como uma das qualidades da PCL, Bordes e colaboradores (2010) avaliaram qualitativamente a solubilidade deste polímero com diferentes massas molares e em diversos solventes, na tentativa de substituir o diclorometano, um solvente com alto grau de toxicidade, por solventes menos tóxicos.

A PCL é solúvel em vários solventes orgânicos, dentre eles destacam-se: tetracloreto de carbono, clorofórmio, tolueno, benzeno, ciclohexano e 2-nitropropano em temperatura ambiente. A pouca solubilidade ocorre nos seguintes solventes: acetona, 2-butanona, acetato de etila, dimetilformamida. É insolúvel em álcoois isopropanol, 1- butanol, 2-butanol, 1-propanol, e em éter de petróleo e dietílico (SANTOS, 2015; SINHA et al., 2004).

Em função de inúmeros estudos realizados com a policaprolactona, incluindo testes de biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo*, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o uso de PCL em aplicações exclusivas no corpo humano, como por exemplo, liberação controlada de medicamentos (KHOR, 2002; WOODRUFF; HUTMACHER, 2010). Portanto, a

policaprolactona é reconhecidamente promissora como material de liberação controlada de fármacos (WILLIAMS, 2005).

Segundo Dash (2012), estudos realizados sobre o desenvolvimento de matrizes para liberação controlada de fármacos utilizando o polímero PCL já foram patenteados e estão na fase de testes clínicos e pré-clínicos. Os pesquisadores da área de liberação controlada de fármacos reportam que a PCL possui baixa toxicidade e boa interação com vários fármacos (DA SILVA, 2012).

3.3 Polímeros em sistemas de liberação controlada de fármacos

O termo “fármaco” engloba todos compostos bioativos administrados com intuito terapêutico, desde moléculas de baixo peso molecular até proteínas e material genético. Ao administrar um fármaco a um ser humano, apenas uma pequena fração da dose atinge o tecido alvo, pois a maior parte é desperdiçada, devido à distribuição por outros tecidos e à sua metabolização ou excreção antes de atingir o local de ação (COIMBRA, 2010).

Os sistemas de liberação de fármacos são classificados de acordo com algumas características do próprio sistema, como por exemplo, os medicamentos tradicionais e os sistemas de liberação controlada de fármacos, (que pode ser considerado inovador) (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Nesta classificação os medicamentos tradicionais são caracterizados por apresentarem liberação imediata do fármaco. São extensivamente usados e são disponíveis comercialmente há vários anos; são de fácil preparação, uma vez que sua produção é relativamente simples, pois não requer componentes e equipamentos sofisticados (SWARBRICK, 2007).

Por definição, Sistema de Liberação de Fármaco (SLF) ou *Drug Delivery System* (DDS) apresenta liberação modificada do fármaco; a fabricação destes requer, muitas vezes, o emprego de equipamentos, processos e componentes específicos (AULTON, 2005). Os sistemas de liberação controlada estão em crescente desenvolvimento de novas tecnologias que oferecem vantagens adicionais para controle da velocidade de difusão de fármacos. Dentre as quais o emprego de menores quantidades das substâncias farmacológicas, a diminuição de efeitos adversos locais e sistêmicos, proteção do fármaco, melhoria da eficiência do tratamento, maior resposta terapêutica, aumento da biodisponibilidade de alguns fármacos e em alguns casos, redução de custos (KIM, 2000; COIMBRA 2010).

Estes sistemas são classificados a partir de critérios específicos, como por exemplo, a classe de materiais utilizados (poliméricos ou não poliméricos), estado físico (líquidos, semissólidos ou sólidos), o tipo de agente terapêutico incorporado no sistema (moléculas de

baixo peso molecular, proteínas, material genético), via de administração, forma como o fármaco se encontra imobilizado no sistema e a natureza do mecanismo que controla a libertação deste, etc. (KIM *et al.*, 2009).

Segundo Coimbra (2010), desenvolver um sistema de libertação eficaz é bastante complexo, pois é necessário conhecer e integrar uma série de aspectos, como exemplo: as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco; a via de administração e as consequentes barreiras fisiológicas e bioquímicas impostas à absorção do fármaco; as propriedades do material/materiais base do sistema: propriedades físico-químicas, biocompatibilidade, comportamento *in vivo*, interações com o fármaco, etc.

Os materiais poliméricos são a classe de materiais mais investigada no desenvolvimento de sistemas de libertação controlada, e por esta razão, atualmente existe um grande crescimento de pesquisas para o desenvolvimento de novas tecnologias cada vez mais sofisticadas e eficientes, bem como o desenvolvimento de propriedades cada vez mais específicas (KIM *et al.*, 2009).

Existem várias propriedades dos polímeros que são exploradas em medicamentos, e é importante conhecer a terminologia empregada para caracterizar os polímeros para auxiliar no esclarecimento da aplicabilidade dos materiais em dado sistema de libertação (VILLANOVA, 2010). Alguns exemplos destas terminologias são: polímeros bioadesivos, que são materiais capazes de se ligarem a substratos biológicos de duas maneiras: aderindo à camada mucosa (mucoadesivos) ou à membrana celular (citoadesivos) (ASANE, 2008); Os hidrogéis são estruturas poliméricas tridimensionais contendo elevada quantidade de água (TANAKA, 2005); polímeros bioativos são aqueles capazes de interagir com receptores celulares, via reconhecimento biológico, proporcionando respostas específicas (JEDLIŃSKI, 2000); polímeros terapêuticos são aqueles aos quais são atribuídas propriedades terapêuticas (LIU *et al.*, 2009); e por fim, os polímeros biodegradáveis, que podem ser definidos como aqueles que sofrem degradação macromolecular *in vivo*, por ação de enzimas, microrganismos ou células (BARBANTI *et al.*, 2005).

Portanto, é necessário determinar a viabilidade de um polímero para esta aplicação no sistema de libertação controlada. Coimbra (2010) afirma que estes materiais e seus produtos de degradação não devem ser tóxicos, e que apresentem uma boa biocompatibilidade, e principalmente determinem as propriedades hidrofílicas/hidrofóbicas dos polímeros para aplicação específica, pois os sistemas vivos são compostos majoritariamente por água.

Outro requisito fundamental para determinar a viabilidade de um polímero para estes sistemas é a forma como este se degrada (ou não) *in vivo*, ou seja, se este é biodegradável ou

não. Um polímero pode ser definido como biodegradável quando sofre degradação química *in vivo*, por hidrólise ou ação enzimática, originando produtos não tóxicos e biocompatíveis capazes de serem metabolizados e excretados pelas vias fisiológicas normais (SALTZMAN, 2001).

3.4 Esterilização a temperatura ambiente utilizando o gás ozônio

Garantir a esterilidade de todo e qualquer material ou dispositivo médico é essencial, para isso, faz-se necessário utilizar de um método que empregue um agente esterilizante penetrante no material sem deixar resíduos indesejáveis bem como comprovar a eficácia da esterilização (MOAT *et al.*, 2009; BRASIL, 2010; BRASIL, 2012; REDIGUIERI, 2016).

É necessário que todo material médico de uso externo ou implantável tenha a esterilidade comprovada para ser aplicada clinicamente. Existem métodos físicos e químicos para esterilização de materiais e dispositivos médicos. Os métodos químicos, que utilizam óxido de etileno, ozônio e outros, são usados para materiais termossensíveis, ou seja, materiais que não suportam métodos de esterilização físicos, os quais empregam altas temperaturas em vapor saturado sob pressão ou calor seco (FARMACOPÉIA, 2010; REDIGUIERI, 2016).

Neste sentido, o gás ozônio (O₃) se destaca por seu elevado poder oxidante. É um gás instável, parcialmente solúvel em água e possui odor característico. Este gás age contra uma significativa variedade de microrganismo patogênicos, inclusive protozoários bactérias e vírus, sendo considerado um agente germicida que excede o cloro. O ozônio ganhou notoriedade nas últimas décadas em função da implementação de padrões cada vez mais rígidos e restritos em relação aos subprodutos da cloração. É importante salientar que ao contrário do cloro, o ozônio não forma subprodutos halogenados com a matéria orgânica, mas pode induzir a formação de outros subprodutos orgânicos e inorgânicos (FARMACOPÉIA, 2010; REDIGUIERI, 2016).

Na indústria de alimentos, o ozônio pode ser utilizado em processos de sanitização de superfícies e equipamentos, bem como no uso direto sobre as matérias-primas com o objetivo de inativar microrganismos e aumentar o tempo de vida útil dos produtos alimentícios (REDIGUIERI, 2016).

O ozônio por se caracterizar como forte agente oxidante é aplicado no controle de odor e oxidação química. A ação antimicrobiana do ozônio é decorrente do ataque através da oxidação dos glicolipídios, glicoproteínas e aminoácidos da parede e membrana celulares microbiana, alterando a permeabilidade celular e causando sua rápida quebra e inibição da atividade respiratória e reprodutiva dos microrganismos (KIM, 1999).

A molécula de ozônio é produzida a partir do oxigênio elementar e tem caráter metaestável (LAPOLLI *et al.*, 2003; LANGLAIS; RECKHOW; BRINK, 1991). A Figura 5 apresenta as possíveis formas da estrutura molecular do ozônio devido à ressonância eletrônica.

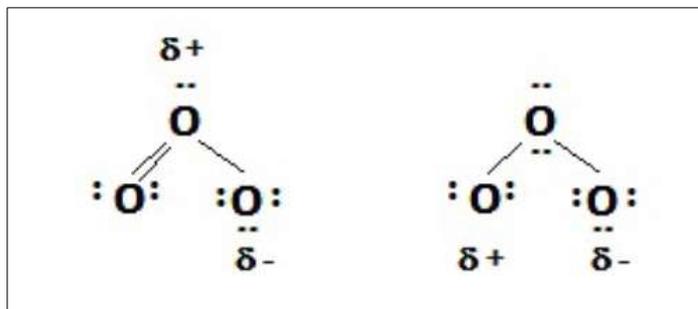
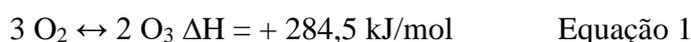


Figura 5: Estrutura molecular do ozônio devido à ressonância eletrônica. Fonte: Silva, 2012.

O ozônio a temperatura ambiente e em baixas concentrações, apresenta-se como um gás incolor; já em altas concentrações adquire uma coloração azulada. Com o aumento da temperatura, o ozônio tem sua solubilidade em água reduzida, tornando-se menos estável (SILVEIRA, 2004; LAPOLLI *et al.*, 2003; TANAKA, 1999; LANGLAIS; RECKHOW; BRINK, 1991). Porém, o aumento na temperatura não altera expressivamente a taxa de desinfecção do ozônio, com isso percebe-se que a desinfecção é relativamente independente da temperatura (SILVEIRA, 2004; LAPOLLI *et al.*, 2003; USEPA, 1999; LANGLAIS; RECKHOW; BRINK, 1991).

A reação global para geração do ozônio a partir do oxigênio.



A equação 1 é altamente endotérmica e não é espontânea ($\Delta G = + 161,3 \text{ kJ/mol}$), isto porque o ozônio não pode ser gerado pela ativação térmica do oxigênio, uma vez que o ozônio se decompõe rapidamente quando aquecido (VIDAL, 2003). O ozônio é formado naturalmente na estratosfera em pequenas quantidades (0,05 mg/L) pela ação da radiação ultravioleta do sol sobre o oxigênio. Uma pequena quantidade de ozônio também é formada na troposfera como subproduto das reações fotoquímicas entre hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio que são lançados por automóveis, indústrias, florestas e ação vulcânica. Porém, o gás produzido é muito instável e decompõe-se rapidamente no ar (PRESTES, 2007).

Para a geração de ozônio, deve-se dividir primeiramente uma molécula de oxigênio diatômico. O oxigênio livre resultante da quebra da molécula de oxigênio pode reagir com outras moléculas de oxigênio para formar as moléculas de ozônio. Porém, para quebrar a

molécula de oxigênio uma grande quantidade de energia é requerida (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; TANAKA, 1999).

3.5 Ácidos Graxos Essenciais

Óleos de origem vegetal são utilizados em fermentos, principalmente em países da América Latina (PIEPER, 2003). Nestes óleos, os ácidos graxos mais abundantes são o oléico, linoléico e linolênico. A maioria dos estudos que abordam o tema ácidos graxos e cicatrização foram realizados na América do Sul, destacando-se o Brasil, e poucos estão publicados em revistas de circulação internacional (HATANAKA, 2007).

Os ácidos graxos formam uma classe de compostos que contêm uma longa cadeia hidrocarbonada e um grupamento carboxila terminal. Apresentam três funções principais: são componentes estruturais das membranas biológicas; atuam como precursores de mensageiros intracelulares e são oxidados, nesse caso, gerando adenosina trifosfato (ATP) (FERREIRA *et al.*, 2011).

A partir do início da década de 1970, foram realizados estudos demonstrando os efeitos dos ácidos graxos sobre a resposta imune. Tais metabólitos interferem em diversos passos do processo inflamatório como contração vascular, quimiotaxia, adesão, diapedese, ativação e morte celular, sendo que a maioria destes eventos ocorre via derivados do ácido araquidônico como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e lipoxinas (HATANAKA, 2007).

Existem diversos tipos de ácidos graxos, mas se tratando de tratamento de feridas, o ácido linoléico e o ácido linolênico são os mais importantes, pois não podem ser sintetizados pelos mamíferos, por não possuírem a enzima delta 9-dessaturase, sendo assim chamados de ácidos graxos essenciais - AGE (MAHAN LK, ESCOTT-STUMP, 2005).

Produtos à base de AGE para tratamento de feridas podem conter um ou os dois AGE, acrescidos de outras substâncias, tais como a vitamina A (Figura 6) e E (Figura 7) ou integrar formulações de triglicérides de cadeia média (TCM). Este último contém em sua estrutura predominantemente ácidos graxos com oito carbonos (caprílico), dez carbonos (cáprico), seis carbonos (capróico) e doze carbonos (ácido láurico). O triacilglicerol dos ácidos cáprico e caprílico merece atenção especial como ésteres (FERREIRA *et al.*, 2011).

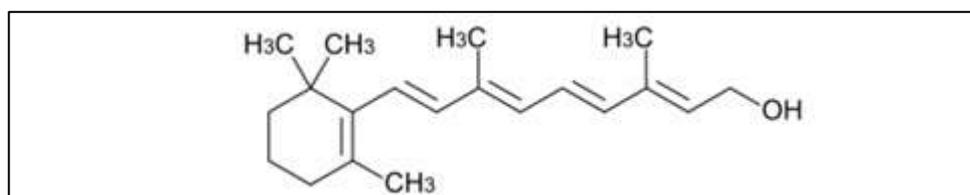


Figura 6: Estrutura Química da Vitamina A. Fonte: Nascimento, 2016.

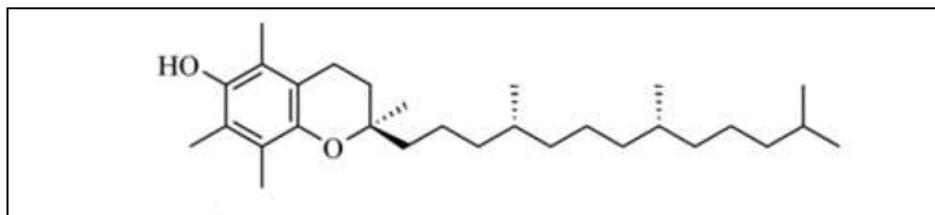


Figura 7: Estrutura Química da Vitamina E. Fonte: Farias, 2012.

Em sendo classificado como triglicérides de cadeia média, os ácidos graxos essenciais são úteis como fonte nutricional, solvente, veículos e estabilizador de produtos a ser administrado por via oral, tópica ou parenteral. Podem ter usos no tratamento e prevenção da dermatite amoniacal e úlceras por pressão, formando uma barreira protetora para a pele, impedindo maceração, são de grande importância nos processos de inflamação celular, proporcionando alívio após a primeira aplicação e nutrição celular local, além de ter uma grande capacidade de regeneração dos tecidos (MAGALHÃES *et al.*, 2008). Todos estes componentes, ácidos graxos e as vitaminas A e E, agem de forma a aumentar a resposta imune, acelerando o processo inflamatório, e consequentemente estimulando o processo de cicatrização por meio da angiogênese e da epitelização (DE NARDI *et al.*, 2004).

Estudos têm mostrado que óleos ricos em AGE também possuem vitaminas importantes, como por exemplo, as vitaminas A e E que possuem propriedades antioxidantes e protegem a membrana celular do ataque dos radicais livres. (EHRLINCH *et al.*, 1968; HAMÚ *et al.*, 1999).

O ácido linoléico ou Ômega 6 (Figura 8), exerce um importante papel quimiotático para macrófagos, sendo fundamental na expressão de componentes do sistema fibrinolítico (regulação da produção de colagenase); favorece o desbridamento autolítico no leito da ferida por contribuir com a produção de metaloproteínas, induzindo a granulação e podendo acelerar o processo de cicatrização. Foi observado que o ácido linoléico é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, alterando as sínteses de proteínas, parede celular, ácidos nucléicos e membranas celulares durante a divisão (GREENWAY *et al.*, 1979; DECLAIR, 2002).

O ácido linolênico ou Ômega 3 (Figura 8), é o lipídio encontrado em maior quantidade na camada epidérmica, é importante no transporte de gorduras, favorece a manutenção da integridade da barreira de permeabilidade epidérmica e acelera os processos cicatriciais. Essa substância age como modulador da membrana celular protegendo a lesão e agindo como imunógeno local; é um protetor da pele contra agentes químicos e enzimáticos; protege a pele das ações macerativas da umidade, diurese e fezes (FERREIRA *et al.*, 2011).

Pelo fato de ser um lipídio que forma naturalmente uma barreira de impermeabilidade para a pele, age como importante agente restaurador tecidual (por promover quimiotaxia e

angiogênese, pela manutenção do meio úmido e aceleração do processo de granulação tecidual), ainda, protege a pele contra infecções por *Staphylococcus aureus*; regula a permeabilidade da barreira de água da pele e proporciona a nutrição celular local (HAMÚ *et al.*, 1999, DECLAIR, 2002; BAJAY *et al.*, 2003).

O ácido oléico ou ômega 9 (Figura 8), é um ácido carboxílico, por possuir um grupo funcional COOH. O ácido oléico é um ácido graxo de cadeia longa, possuindo 18 carbonos na sua estrutura. Por possuir uma dupla ligação entre os carbonos, é chamado de ácido graxo insaturado. Os ácidos graxos são uma classe de compostos orgânicos que constituem os lipídeos, os quais são vitais na construção da membrana celular, estando presente na epiderme, a qual protege e faz parte da barreira da pele, evitando a sua desidratação por perda de água transdérmica (HAMÚ *et al.*, 1999, DECLAIR, 2002; BAJAY *et al.*, 2003).

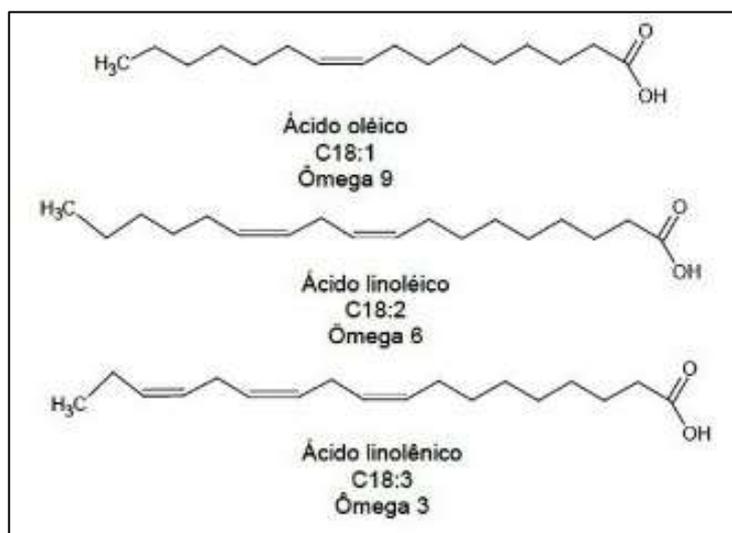


Figura 8: Estrutura química dos ácidos Oléico, Linoléico e Linolênico. Fonte: Farias, 2012.

O óleo curativo AGE Essencial Curatec foi utilizado nessa pesquisa. É utilizado na prevenção e tratamento de feridas. É um óleo extraído de sementes de girassol rico em Ácidos Graxos Essenciais (AGEs), contendo ainda Triglicerídeos de Cadeia Média – TCM, Vitaminas A e E e lecitina de soja que, em conjunto, agem na hidratação preventiva, além de possuírem propriedades emolientes que protegem a pele e auxiliam no processo de cicatrização de feridas (CURATEC, 2020).

3.6 Heparina Sódica

A heparina é um polissacarídeo sulfatado, usado há mais de 50 anos como droga anticoagulante. Esse polímero, obtido a partir de tecidos animais, seja através da mucosa

intestinal suína ou, raramente, pulmão bovino, é o segundo agente terapêutico natural mais utilizado no mundo, superado apenas pela insulina. Foi também graças à descoberta da heparina que ocorreu um dos avanços mais importantes para o desenvolvimento das cirurgias cardíacas, com utilização da circulação extracorpórea (CRAFOORD, 1941; JIN *et al.*, 1997).

A elucidação da estrutura química da heparina, Figura 6, tem sido relacionada com o tipo de ligação glicosídica, o conteúdo de enxofre e grupo sulfamínos, grupos carboxílicos e outros grupos, e a quantidade de ramificações. Extraída de fontes naturais, a heparina origina-se nas células mastócitos dos tecidos conectivos (ERLICHE e STIVALA, 1973). O conteúdo de enxofre da heparina tem sido mostrado estar associado à sua atividade anticoagulante. (ERLICH, 1973).

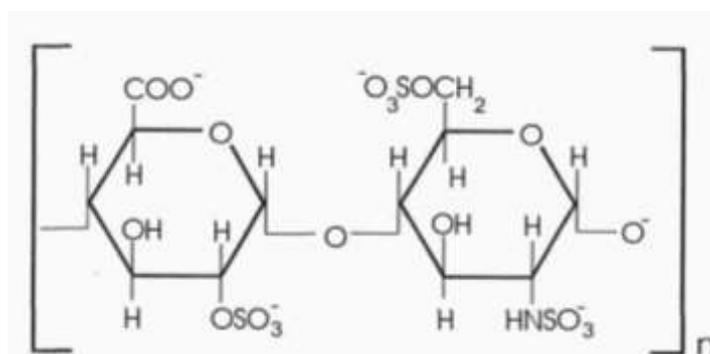


Figura 9: Unidade repetida do dissacarídeo de heparina. Fonte: Devlin, 2002.

Desde a sua descoberta em 1916 por Mc Lean, muitos estudos têm sido feitos com relação à sua estrutura química e sua farmacologia. Com relação aos aspectos físico-químicos, a heparina comporta-se como polieletrólito em soluções aquosas devido a sua densidade de carga altamente negativa. As massas molares da heparina variam de 6.000 a 20.000 daltons (ERLICHE, 1973; JOHNSON *et al.*, 1976).

As suas principais propriedades farmacológicas são suas atividades anticoagulante no tratamento de enfarto do miocárdio e antitrombose no tratamento de trombozes venosas pós-operatórias. Tanto *in vivo* como *in vitro*, a heparina impede a ativação dos fatores de coagulação, mas ela não age diretamente sobre os fatores. Em vez disso, a atividade anticoagulante da heparina é exercida através da interação da heparina com um inibidor do processo de coagulação (DEVLIN, 2002).

Em outras palavras, enquanto anticoagulante, a heparina prolonga o tempo de coagulação e favorece a fibrinólise. Dissolve trombos localizados e evita a formação de novos coágulos. Acelera a absorção de coágulos sanguíneos e estimula a regeneração do tecido conjuntivo, e ainda produz vasodilatação e melhora a circulação sanguínea, combatendo

manifestações de estase. Sua forte carga negativa que atrai e retém moléculas com regiões positivas como: citocinas, fatores de crescimento fibroblástico e endotelial, moléculas que controlam a migração e adesão leucocitária, defensinas e enzimas envolvidas na inflamação (DEVLIN, 2002; ALIMAX, 2014).

A heparina apresenta propriedades imunomoduladoras e não unicamente anticoagulante. Possui atividade benéfica no paciente queimado através da ação angiogênica, ação anti-inflamatória, analgésica e possível ação cicatrizante: Estudos mostraram uso de heparina estimula a ação da collagenase, melhorando muito o remodelamento das lesões e, conseqüentemente, a qualidade da cicatrização e ainda houve redução da necessidade de procedimentos de enxertia quando a heparina é utilizada precocemente (até 24 h) no tratamento das queimaduras (DEVLIN, 2002; ALIMAX, 2014).

4. METODOLOGIA

Na Figura 10 pode ser observado um fluxograma que apresenta um esquema do procedimento experimental desta pesquisa.

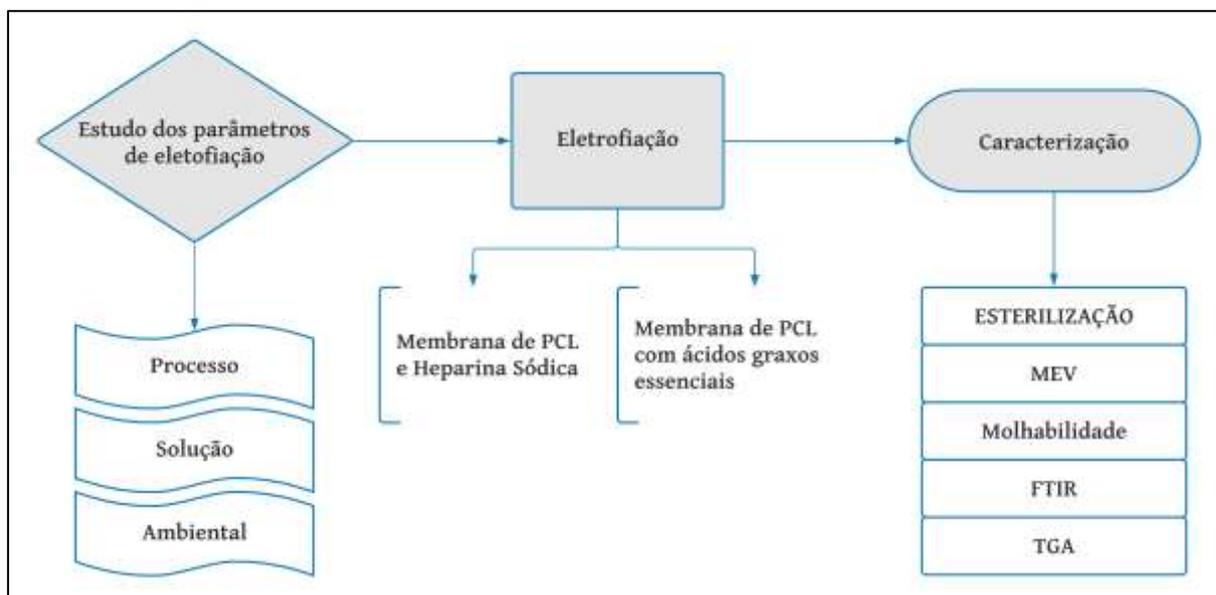


Figura 10: Fluxograma do procedimento experimental.

4.1 Materiais

Utilizou-se PCL com massa molar de 50.000 g/mol e 30.000 g/mol, heparina sódica 5.000 UI/mL, óleo de girassol rico em ácidos graxos essenciais – AGE da marca comercial Curatec AGE Essencial, que possui alta concentração de ácidos graxos essenciais, triglicerídeos de cadeia média e vitaminas A e E. Os solventes utilizados foram clorofórmio (99% de pureza) e acetona (99,8% de pureza) adquiridos da Biotec Reagentes Analíticos. As seringas utilizadas foram de modelo SR 10 mL e suas agulhas de 0,8mm de diâmetro.

4.2 Métodos

4.2.1 Eletrofiação

4.2.1.1 Preparação e Parâmetros da Solução padrão de PCL

As soluções foram preparadas com quantidade de clorofórmio e acetona fundamentada na proporção de solventes empregadas por Moraes Segundo (2015), onde o clorofórmio foi utilizado para a solubilização da PCL, e acetona usada como segundo solvente para promover maior rapidez na evaporação dos solventes durante o processo de eletrofiação.

Para solução PCL puro os solventes foram pesados em uma balança analítica (METTLER TOLEDO - modelo AB204) com proporção de 1:1 em massa de solventes

(equivalente a 3,16 g de cada solvente). Em seguida foram solubilizados em um agitador magnético (NOVA ÉTICA - modelo 113) por um período de 15 minutos. Adicionou-se então 1 g (13,66%) de PCL em *pellets* com agitação mecânica durante um período de 16 horas, em sistema fechado.

4.2.1.2 Determinação da concentração máxima de AGE na solução polimérica de PCL.

Para o estudo da concentração máxima de AGE na solução polimérica de PCL, realizaram-se 4 ensaios de eletrofição, os quais continham 0,25 g, 0,50 g, 0,75 g e 1g de óleo de girassol. As soluções foram submetidas a agitação mecânica por um período de 4 horas.

4.2.1.3 Determinação da Concentração máxima de HS na solução polimérica.

Realizam-se 4 ensaios contendo HS em solução polimérica de PCL. As quantidades de HS usadas foram de 0,10 mL, 0,20 mL, 0,30 mL e 0,40 mL. As soluções mantiveram-se em agitação mecânica durante um período de 8 horas.

4.2.1.4 Parâmetros do Processo de Eletrofição

Fundamentado nos parâmetros para o processo de eletrofição de Moraes Segundo (2015), foram determinados os parâmetros do processo, como o diâmetro da agulha (0,8 mm), a vazão volumétrica (8 mL/h) e a distância de trabalho (distância entre a agulha e o coletor metálico de 18 cm). Estes parâmetros mantiveram-se fixos para todos os ensaios de eletrofição.

É de suma importância ressaltar que a tensão aplicada à solução polimérica também é um parâmetro de processo, porém, não é possível mantê-la constante, pois a mesma depende da tensão superficial de cada solução. Os parâmetros ambientais como a umidade do ar (%) e a temperatura são registrados no momento do processo, portanto, também não são constantes.

O sistema é composto por uma fonte de alta tensão (3AS Engenharias) com capacidade de 30 kV, bomba de infusão altamente sensível, capacidade de vazão entre 0,1 à 450mL/h (SAMTRONIC, ST670) e coletor aterrado estático de alumínio, conforme Figura 11.

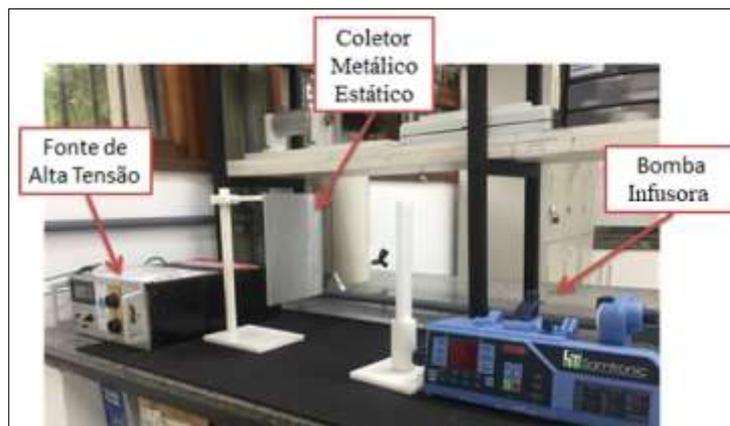


Figura 11: Sistema utilizado no processo de eletrofiação.

4.2.2 Esterilização utilizando ozônio

Após a obtenção das membranas realizou-se a etapa de esterilização utilizando ozônio. Esse processo foi realizado através de fundamentos apresentados por Redigueri et al., (2017). A esterilização das membranas foi realizada no laboratório de Pesquisa de Química Inorgânica – LPQI, onde utilizou-se uma Glove-Box (caixa acrílica) com atmosfera interior rica em ozônio, contendo em seu interior um dessecador, conforme Figura 12, que foram previamente higienizados com clorexidina à 2% visando o controle de esterilidade do ambiente de trabalho.



Figura 12: Glove-Box. Fonte: Adaptado de Ricardo, 2020.

O gerador de ozônio utilizado na esterilização foi da marca Podoxi, com vazão de 6,5 L/min e dosagem máxima de 150 ppm foi cedido pela empresa Interozone do Brasil, sediada em Jundiaí, São Paulo. As membranas foram depositadas no interior de um dessecador com

controle de pressão. Com o auxílio de uma bomba fez-se pressão interna negativa (vácuo) de -600 mmHg, em seguida, para o período de aeração, injetou-se o gás ozônio na concentração máxima do equipamento, alterando a pressão interna até -50 mmHg, sem quebrar o vácuo. O processo foi repetido 4 vezes com o intervalo de tempo de 5 minutos.

Após a esterilização, as membranas foram retiradas da dessecadora, (ainda no interior da Glove-Box) e foram embaladas e seladas a vácuo utilizando uma seladora de marca Registron, modelo RG – 300 A, conforme mostrado na Figura 13.



Figura 13: Embalagem à vácuo. Fonte: Adaptado de Ricardo, 2020.

4.2.2.1 Teste de esterilidade

Foram utilizados 3 meios de cultura, Ágar-Ágar, Ágar – *Sabouraud* e *Brain Heart Infusion* (caldo BHI), para testar microrganismos, enterobactérias, pneumococos, estreptococos, meningococos, fungos, leveduras e não fermentadores, bactérias aeróbicas e anaeróbicas. Pesou-se o meio de cultura e hidratou-se com H₂O destilada, esterilizou-se o meio pelo calor úmido em autoclave (121°C por 15 minutos) e distribuiu-se o meio de cultura pronto em placas de petri previamente esterilizadas também em autoclave.

O teste foi realizado em triplicata para cada tipo de membrana. Foram utilizadas 4 placas de petri, sendo 1 placa de controle, e outras 3 contendo 3 discos de amostra para os três meios de cultura, conforme Figura 14, abaixo.

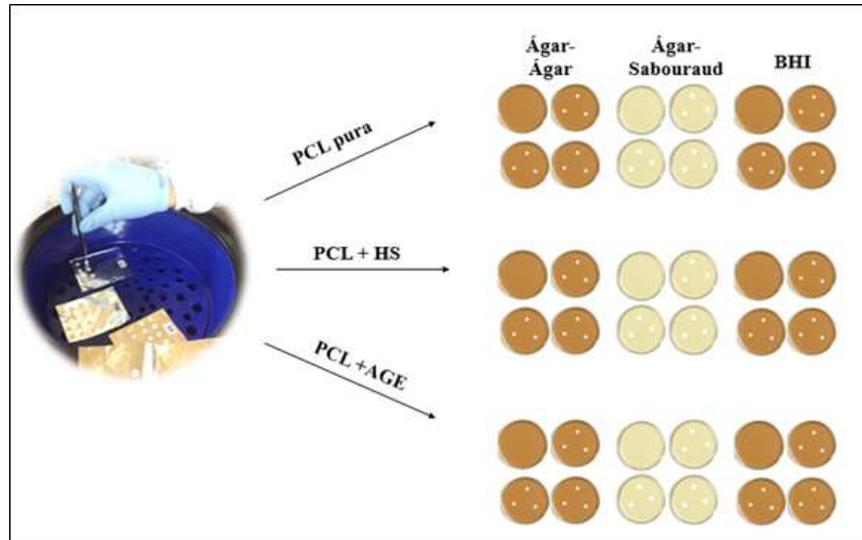


Figura 14: Teste de esterilização.

As placas foram incubadas a 37 °C, por 7 dias em estufa bacteriológica com a tampa voltada para baixo para se evitar contaminação dos meios de cultura por acúmulo de água de condensação. O teste foi realizado no Laboratório de Bioensaios e Microrganismos da Amazônia – LABMICRA, situado na Central Analítica de Química da UFAM.

4.2.3 Caracterização morfológica

Esta etapa foi realizada no Laboratório Temático de Microscopia Ótica e Eletrônica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA – Campus II, utilizando o equipamento da marca TESCAN, modelo VEGA3. As membranas foram metalizadas com ouro utilizando um metalizador de marca BAL TEC, modelo CPD 050 para obtenção das micrografias. A Figura 15 ilustra o equipamento utilizado e as amostras no suporte já metalizadas com ouro.

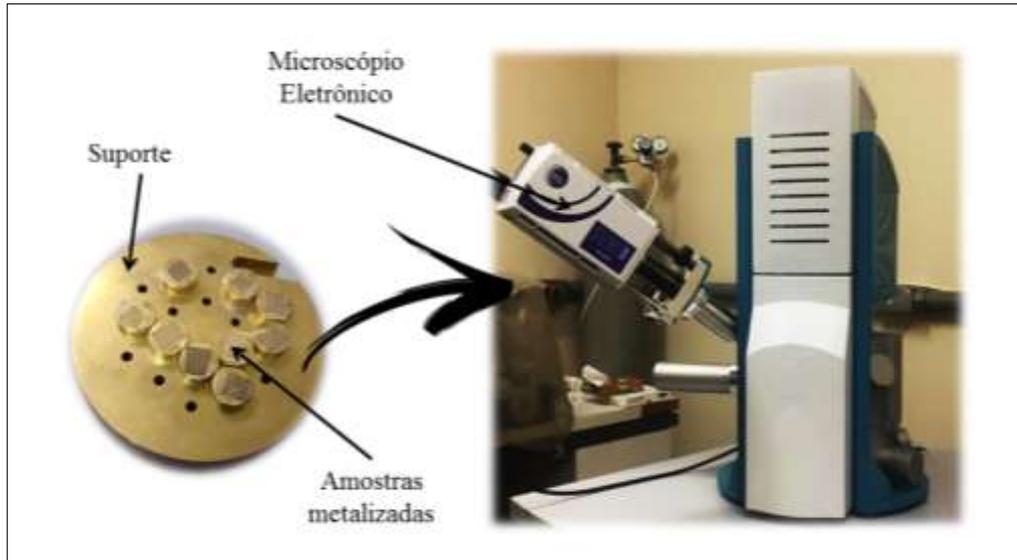


Figura 15: Imagem mostrando as amostras metalizadas com Au e o microscópio eletrônico de varredura (MEV) utilizado nessa pesquisa

4.2.3.1 Estudo estatístico

Baseando-se no estudo estatístico realizado por Moraes Segundo (2015), a partir das imagens obtidas através do MEV foi possível obter medidas dos diâmetros das fibras. As medições foram realizadas manualmente utilizando o *software* processador de imagens ImageJ, baseado na escala presente nas imagens obtidas por MEV, registrando 100 medidas de cada imagem. Os valores dos diâmetros médios das fibras nas amostras foram analisados com parâmetros estatísticos como: média e desvio-padrão, conforme as Equações 2 e 3 descritas abaixo:

Diâmetro médio das fibras

$$\bar{D} = \sum \frac{x}{n}$$

Equação 2.

Desvio Padrão

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Equação 3.

Onde, n é o número total de medidas para cada imagem e x é o valor do diâmetro obtido para cada aferição na imagem.

4.2.4 Estudo da molhabilidade das membranas através do ângulo de contato.

O ensaio de molhabilidade foi realizado no Laboratório de Bioeletrônica e Eletroanalítica – LABEL, utilizando um microscópio digital (DINO – Lite plus) com capacidade de ampliação de até 1000 vezes. Na Figura 16 é possível observar o sistema utilizado para o ensaio, bem como uma gota depositada sobre a superfície da membrana.

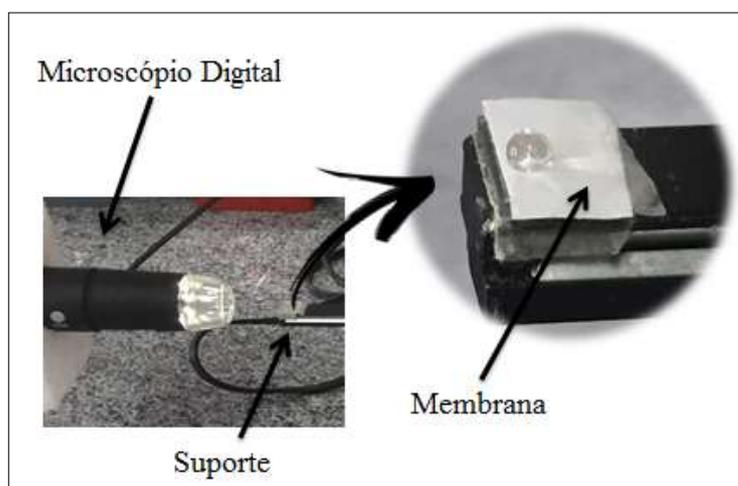


Figura 16: Esquema do teste de molhabilidade.

Cuidadosamente foi depositada uma gota de água deionizada de 10 μL à temperatura ambiente sobre a superfície membrana. O comportamento desta gota foi observado por um período de 120 segundos. As medidas de ângulo de contato foram obtidas com o auxílio do software Image J.

A Figura 17 ilustra a formação de ângulo de contato para materiais hidrofílicos e hidrofóbicos, onde ângulos menores que 5° graus em 0,5 segundos após a deposição da gota de água destilada é denominado um material superhidrofílico; já materiais com ângulos menores que 90° são hidrofílicos; materiais com ângulo igual a 90° e menor que 150° são denominados hidrofóbicos, e por fim, materiais com ângulo de contato igual a 150° até 180° são considerados superhidrofóbicos.

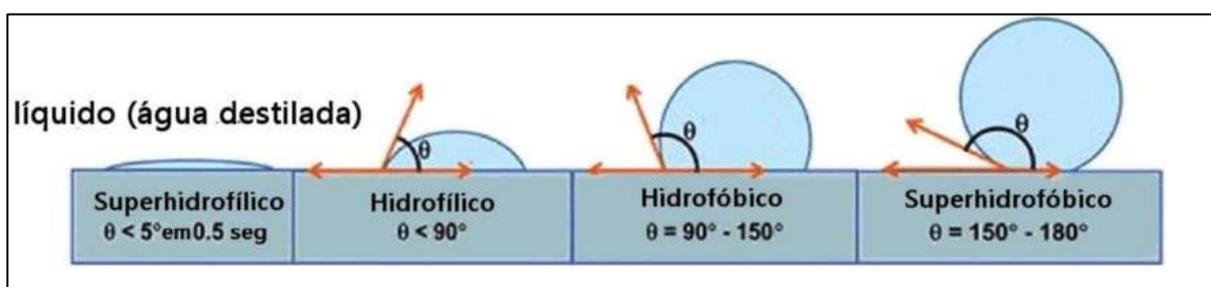


Figura 17: Representação esquemática da formação de ângulo de contato para materiais hidrofílicos e hidrofóbicos. Fonte: Bačovská, et al., 2016.

4.2.5 Caracterização química por FTIR

Os espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos utilizando o equipamento Agilent Cary 630 FTIR, com 128 varreduras na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} e resolução de 8 cm^{-1} instalado no Laboratório de Síntese e Caracterização de Nanomateriais – LSCN do Instituto Federal do Amazonas – IFAM/CDMI.

4.2.6 Análise térmica das membranas por meio de Termogravimetria - TGA.

Para o estudo da estabilidade térmica das membranas eletrofiadas obtidas neste trabalho, foi realizada uma análise termogravimétrica – TGA com aquecimento até 1000°C a uma taxa de 50 °C/mim, sob atmosfera de gás nitrogênio (vazão de 50 mL/mim). Este experimento foi realizado no Laboratório de Síntese e Caracterização de Nanomateriais – LSCN do Instituto Federal do Amazonas – IFAM/CDMI.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Eletrofição

5.1.1 Determinação da concentração máxima de AGE

Realizaram-se testes variando a quantidade AGE conforme a *secção 4.2.1.2*. A Tabela 1 mostra resumidamente as observações da influência da incorporação na solução polimérica padrão de PCL. Foram observados parâmetros ambientais (Temperatura (°C) e Umidade (%)), bem como a Tensão (kV) aplicada na solução. Esses parâmetros são determinados no momento de cada teste. As observações sobre a estabilidade do Cone de Taylor, e a observação da superfície para detecção de pérolas a olho nu, estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Observações do estudo da concentração máxima de AGE na membrana.

Parâmetros de Solução	Parâmetros Ambientais			Observações visíveis a olho nu	
	AGE (g)	T (°C)	U (%)	V (kV)	Estabilidade do cone de Taylor
0	22,2	48	14,0	Estável	Não
0,25	20,2	45	14,5	Estável	Não
0,50	20,8	47	15,2	Estável	Não
0,75	21,3	48	15,3	Estável	Sim
1,00	21,6	49	15,5	Estável	Sim

Conforme descrito na Tabela 1, foi possível preparar membranas eletrofiadas com todas as concentrações testadas, com estabilidade e sem gotejamento do jato. As membranas contendo 0,25g e 0,50g não apresentaram pérolas, enquanto as membranas contendo 0,75g e 1,00g apresentaram pérolas em sua superfície, o que pode indicar o acúmulo de óleo. Ainda, se observou que a tensão aplicada na eletrofição de cada membrana aumentou de acordo com o aumento da concentração de AGE na solução, o que indica o aumento na tensão superficial das soluções (GARG; BOWLIN, 2011). A umidade durante os processos oscilou no intervalo de 45% a 49%.

Definiu-se, portanto, que a concentração máxima de AGE na membrana observada neste estudo foi de 1g (significando a proporção em massa de 1:1 de AGE em relação a PCL) foi utilizada para o preparo das membranas para aplicação em estudos biológicos seguintes.

5.1.2 Definição da concentração máxima de HS

O estudo para determinação da concentração máxima de HS na membrana de PCL foi realizado conforme descrito na *secção 4.2.1.3*, e os resultados da eletrofiação das membranas contendo o referido fármaco estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Observações do estudo da concentração máxima de HS na membrana.

Parâmetros de Solução	Parâmetros Ambientais			Observações	
	HS (mL)	T (°C)	U (%)	V (kV)	Estabilidade do cone de Taylor
0	22,2	48	14,0	Estável	Não
0,1	20,2	45	19,0	Estável	Não
0,2	20,8	49	19,2	Estável	Não
0,4	21,3	48	20,3	Estável	Sim
0,5	21,6	47	23,3	Instável, gotejamento do jato	Sim

Conforme a Tabela 2, observa-se que foi possível preparar membranas eletrofiadas com as quantidades de 0,1mL, 0,2mL, 0,3mL e 0,4mL de HS. As membranas contendo 0,1 mL e 0,2 mL de HS apresentaram estabilidade do cone de Taylor sem gotejamento do jato, e não foram observadas pérolas visualmente. Apesar de apresentar estabilidade do cone de Taylor sem gotejamento do jato, a membrana contendo 0,4 mL de HS apresentou pérolas visíveis a olho nu em sua superfície. Isso pode significar um acúmulo de HS ou ainda, podem ter ocorrido devido à baixa solubilidade da HS na solução de PCL.

Enquanto a PCL é um polímero conhecida hidrofóbica, a HS é solúvel em água. Luna *et al* (2015) afirmam que algumas blendas poliméricas podem se tornar imiscíveis a partir de uma certa concentração dos componentes poliméricos, a ponto de se tornarem incompatíveis, o que resulta no aparecimento de pérolas devido à baixa dispersão de uma das fases.

Notou-se que houve um aumento significativo da tensão aplicada em cada solução à medida que se aumentou a quantidade de HS, o que indica que houve alteração na tensão superficial das soluções. É importante ressaltar que o aumento da tensão é diretamente proporcional ao aumento da área de deposição das fibras no coletor. Entretanto, com uma tensão na faixa de 21,6 kV notou-se a instabilidade do jato, o que inviabiliza o processo de eletrofiação (GARG; BOWLIN, 2011).

O teste com 0,5mL de HS não apresentou resultado eficiente para formação da membrana devido o aparecimento de pérolas de aproximadamente 2mm, além da instabilidade do cone de Taylor e do gotejamento do jato, o que possivelmente deixa resíduos de solventes

na membrana, inviabilizando, portanto, o uso desta membrana para os estudos posteriores. Isto significa que a quantidade máxima suportada pela membrana neste estudo foi de 0,4mL HS que corresponde a 400 UI.

5.2 Esterilização utilizando O₃

5.2.1 Teste de Esterilidade

O teste de esterilidade realizado de acordo com a *secção 4.2.2.1*, mostrou que não houve a formação colônias ou crescimento de microrganismos em nenhum dos meios de cultura durante o período de 7 dias de incubação das amostras. Verifica-se, portanto, a ausência de contaminação por microrganismos (bactérias e fungos) nas membranas após o processo de esterilização utilizando O₃. Portanto, é possível afirmar que microbiologicamente o uso do ozônio foi eficaz para a esterilização das membranas poliméricas eletrofiadas nesse estudo.

Segundo Redigueri (2016), que investigou o impacto da esterilização por ozônio em arcabouços de nanofibras de PLGA e PCL, após a incubação em caldo caseína-soja - TSB e caldo tioglicosato permaneceram límpidos mesmo após 14 dias de incubação, ou seja, não houve crescimento de microrganismos, confirmando o atributo de esterilidade aos seus arcabouços, inclusive quando submetidos a somente 2 pulsos de ozônio.

5.3 Caracterização morfológica das membranas

A Figura 18 mostra as imagens micrográficas obtidas por MEV das nanofibras de PCL Puro e de PCL + HS. A figura 18 (a) mostra que a membrana de PCL Puro apresentou fibras com aspecto uniformes e aleatoriamente distribuídas e não apresenta pérolas. Segundo Gonçalves *et al* (2015), produzir fibras livres de defeitos e sem falhas depende da regulação da tensão superficial e taxa de evaporação do solvente, permitindo assim a interação entre polímero e solvente.

A membrana de PCL + HS mostrada na Figura 18 (b), também apresenta fibras bem formadas e aleatoriamente distribuídas, possui fibras com diâmetros variados, entretanto exibe diâmetros menores em relação aos diâmetros observados na membrana de PCL pura, conforme o estudo estatístico na *secção 5.3.1*. Isto pode acontecer devido a tensão aplicada ter sido relativamente alta, na faixa de 21,3kV (conforme descrito na *secção 5.1.2*).

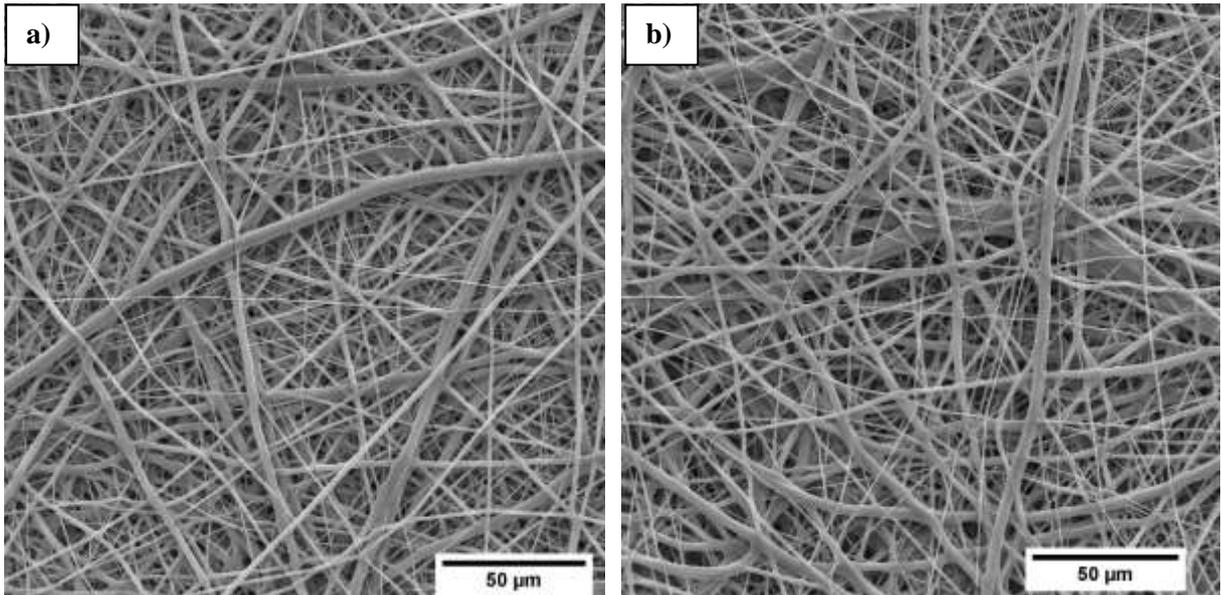


Figura 18: Micrografia da membrana de: (a) fibras de PCL; (b) fibras de PCL+HS.

A membrana de PCL + AGE sofreu degradação durante a metalização. Diante disso, a Figura 19 (a) mostra a micrografia obtida confirmando sua degradação, o que, portanto, inviabilizou sua análise morfológica. Obteve-se então a micrografia sem metalização dessa membrana (Figura 19 (b)). Para isso, fez-se necessário a utilização do modo *Accumulation* do equipamento, que faz uma série de 20 varreduras eletrônicas durante um determinado período de tempo, (antes que o material fosse degradado pelo feixe de elétrons) e agrega as varreduras em uma só micrografia.

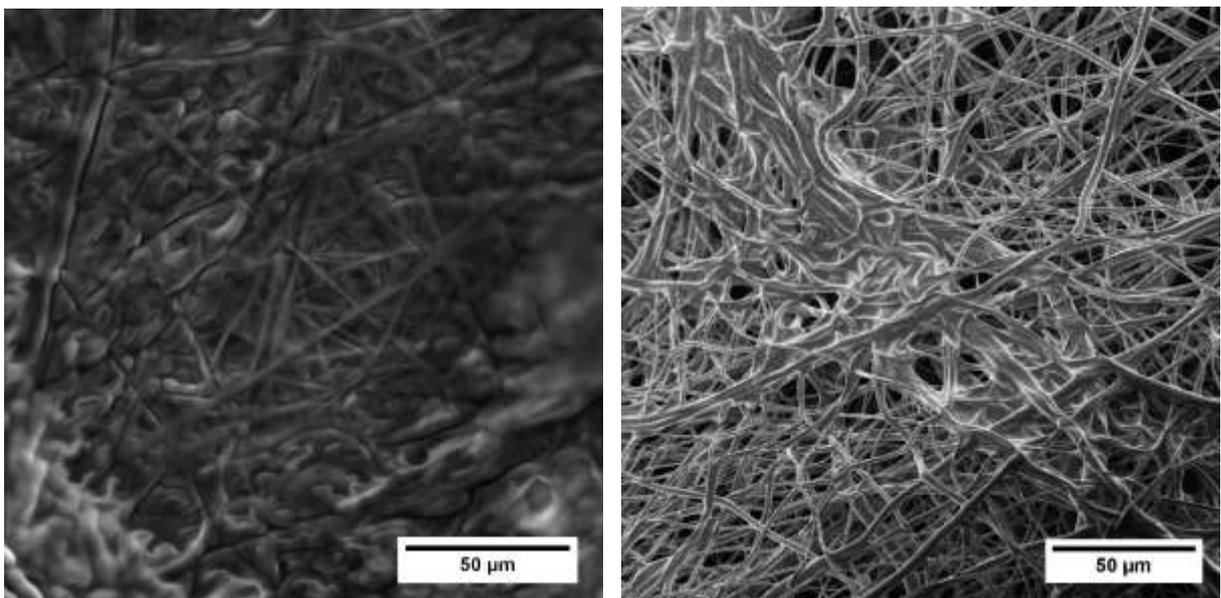


Figura 19: Micrografia da membrana de PCL+AGE a) metalizada e degradada; b) não metalizada.

Macroscopicamente a membrana de PCL + AGE apresentou pérolas e oleosidade em sua superfície, e ainda se observou que durante o processo de eletrofição o material foi depositado em uma área reduzida na placa coletora o que aumentou a espessura da membrana. As imagens obtidas por MEV mostraram que há formação de fibras uniformes com áreas com provavelmente grande concentração de óleo.

5.3.1 Estudo estatístico

As Figuras 20, 21 e 22 mostram as imagens obtidas por MEV das membranas eletrofiadas de PCL, PCL+HS e PCL+AGE, respectivamente, com histogramas apresentando a distribuição do diâmetro das fibras poliméricas obtidas por eletrofição. Os histogramas apresentam a distribuição, diâmetro médio, desvio padrão, medida máximas e mínimas dos tamanhos das fibras e a gaussiana mostra como ocorreu à distribuição normal dos diâmetros próximos ao valor médio.

Na Figura 20 pode-se observar que os diâmetros das fibras de PCL Puro apresentam pico da curva gaussiana no intervalo de 1-2 μm com diâmetro médio de $DM = 1,160 \mu\text{m}$, e possui uma variação de diâmetro das fibras, como se pode observar pelo desvio padrão $SD = 0,9992 \mu\text{m}$, o diâmetro máximo encontrado foi de $4,849 \mu\text{m}$ e o mínimo foi de $0,198 \mu\text{m}$.

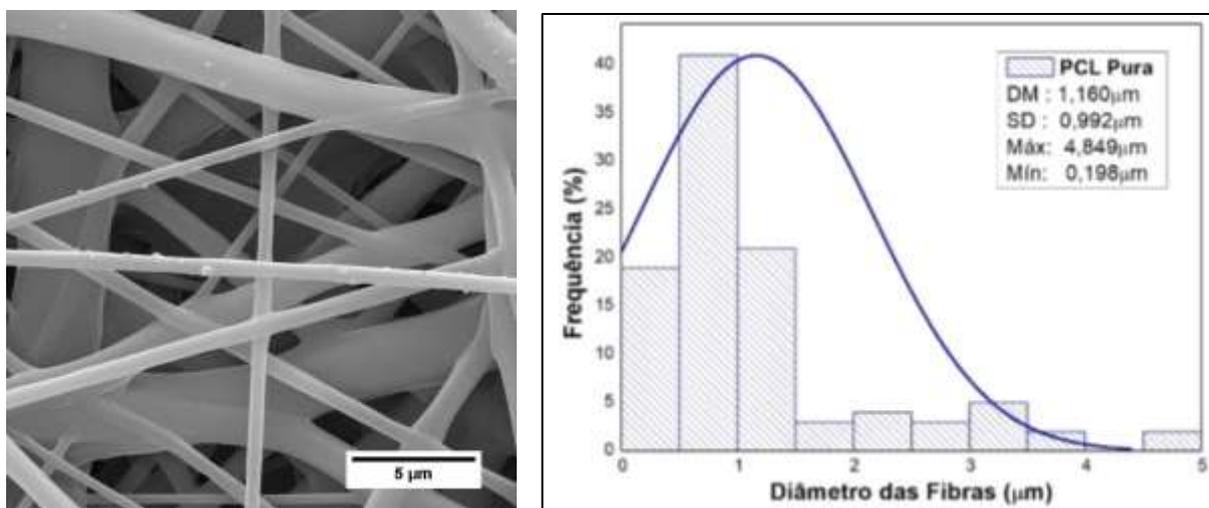


Figura 20: Micrografia e histogramas de distribuição de diâmetros das fibras de PCL.

Já na Figura 21 observa-se que os diâmetros das fibras de PCL + HS apresentam pico no intervalo de 0,5 - 1 μm com diâmetro médio de $DM = 0,981 \mu\text{m}$, e possui um desvio padrão $SD = 0,663 \mu\text{m}$, o diâmetro máximo encontrado foi de $2,519 \mu\text{m}$ e o mínimo foi de $0,155 \mu\text{m}$.

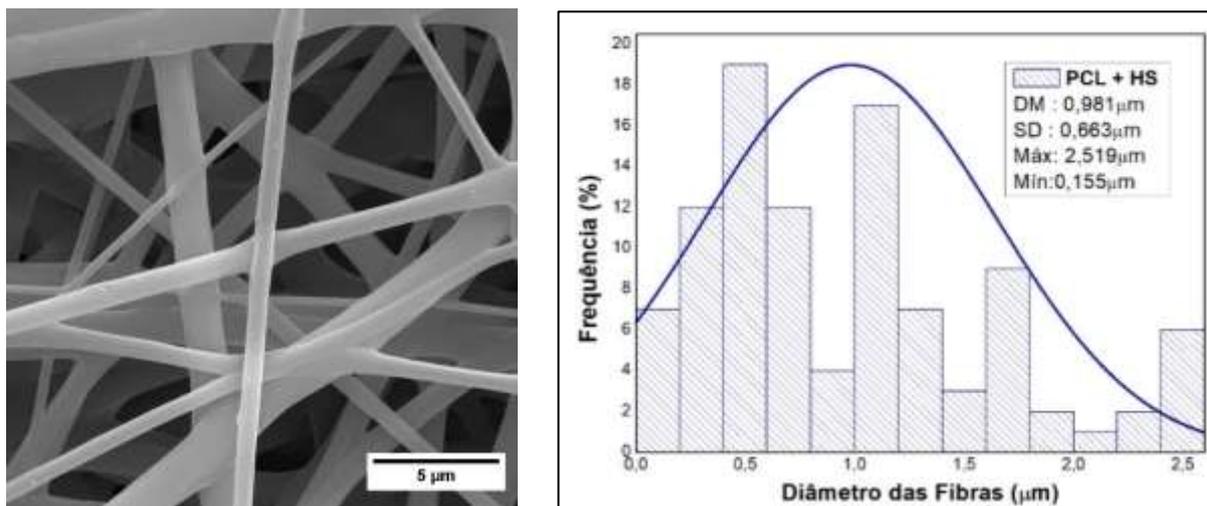


Figura 21: Micrografia e histogramas de distribuição de diâmetros das fibras de PCL + HS.

A Figura 22 mostra os diâmetros das fibras de PCL + AGE apresentam pico da gaussiana no intervalo de 1 e 2 µm com diâmetro médio de $DM = 1,53 \mu\text{m}$, e possui um desvio padrão $SD = 0,924 \mu\text{m}$, o diâmetro máximo encontrado foi de $4,847 \mu\text{m}$ e o mínimo foi de $0,766 \mu\text{m}$.

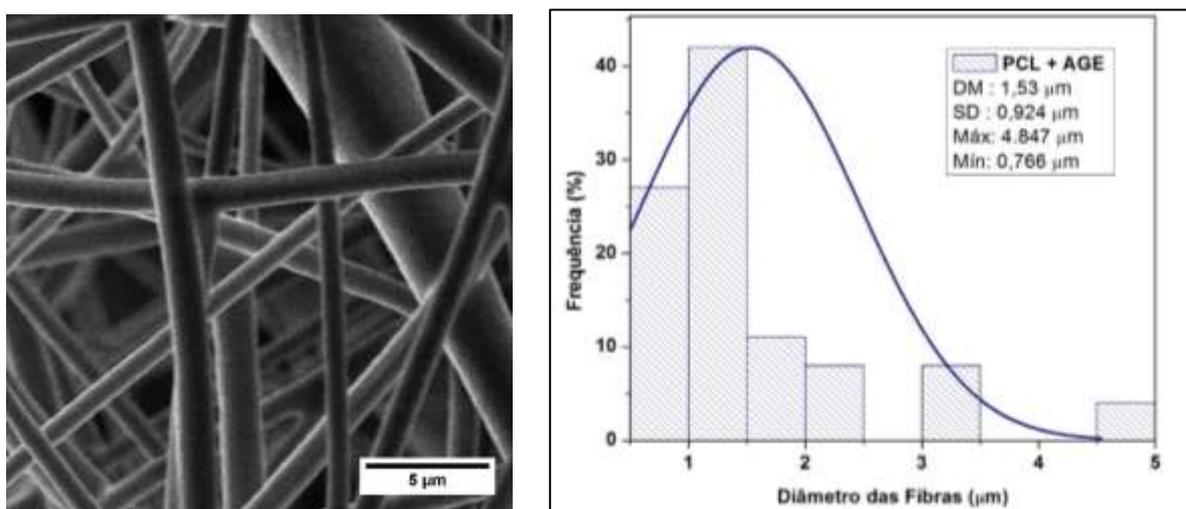


Figura 22: Estudo dos diâmetros das membranas de PCL + AGE.

É possível observar que a adição da HS na solução polimérica alterou o diâmetro das fibras, pois o diâmetro médio das fibras de PCL Pura foi de $DM = 1,160 \pm 0,992 \mu\text{m}$ enquanto o diâmetro médio das fibras de PCL +HS foi de $DM = 0,981 \pm 0,663 \mu\text{m}$, observa-se também que a adição da HS aumentou a homogeneidade das fibras, enquanto a PCL pura possui medidas de quase $5 \mu\text{m}$ a PCL +HS possui diâmetro máximo de $2,519 \mu\text{m}$. Já em relação a membrana de PCL pura e PCL+AGE não houve alterações significativas nos diâmetros das fibras, pois a membrana de PCL+AGE apresentou $DM = 1,530 \pm 0,924 \mu\text{m}$, diâmetro próximo aos valores da membrana de PCL pura.

Entretanto, com uma análise geral dos dados, os resultados mostram que para as amostras em estudo a maior quantidade das fibras está distribuída próxima ao ponto médio da gaussiana, que segundo Brito (2013) ocorre devido à boa homogeneidade do diâmetro das fibras produzidas pelo processo de eletrofiação.

5.4 Ângulo de Contato – Estudo da molhabilidade

A Figura 23 mostra os ângulos de contato das membranas eletrofiadas de PCL, PCL + HS e PCL + AGE obtidos para o estudo da molhabilidade. A membrana de PCL apresentou ângulo de contato de 123° , as membranas de PCL + HS e PCL + AGE apresentaram os ângulos de contato de 102° e 95° , respectivamente.

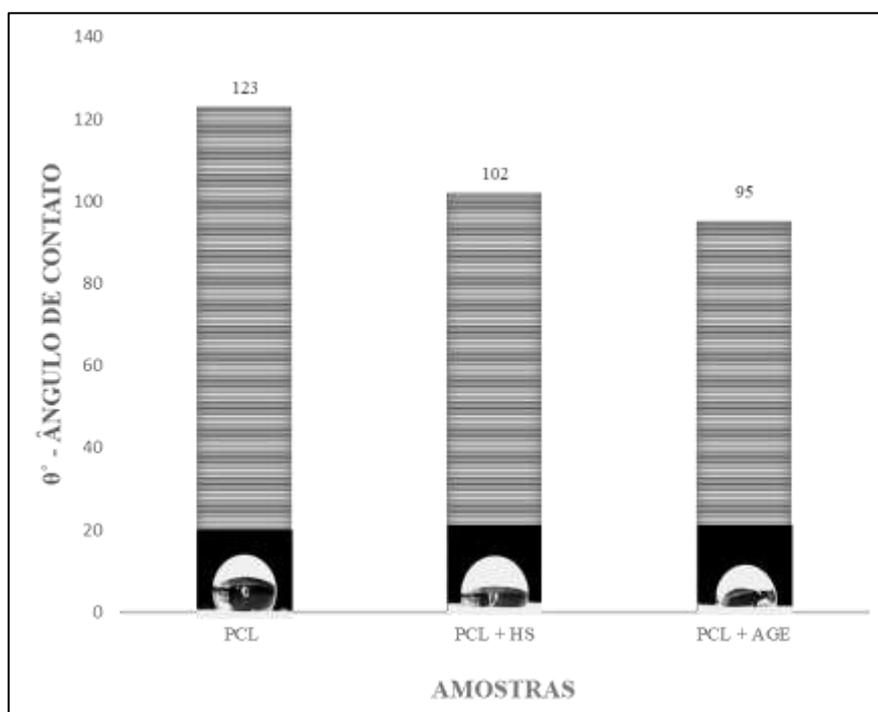


Figura 23: Ângulos de contato das membranas de PCL, PCL + HS e PCL + AGE.

A PCL é um material caracterizado por possuir baixos níveis de energia livre de superfície, em outras palavras, possui caráter hidrofóbico, portanto era esperado que o ângulo de contato fosse maior que 90° . Na literatura autores relatam ângulos de contato da PCL eletrofiada com fibras de deposição aleatórias variando entre 122° a 145° . Uma das causas dessa variação de ângulo de contato da PCL são os diâmetros das fibras. Além disso, observa-se que há uma grande variação de massa molar dos polímeros que podem influenciar de forma indireta nestes resultados (BURKARTER, 2010; MORAES SEGUNDO, 2015).

Em relação a membrana de PCL + HS, apesar da concentração de HS ser relativamente baixa (400 UI), observou-se uma modificação significativa dessa superfície. Houve um

decaimento de ângulo de 22° em relação a membrana de PCL. Como exposto, a heparina sódica é solúvel em água e caracteriza-se como uma substância hidrofílica, o que pode interferir na modificação desse material aumentando a interação da superfície da membrana com a gota de água. Durante o período dessa investigação, não foram encontrados materiais similares a esta membrana na literatura.

Em relação ao ângulo obtido pela membrana de PCL+AGE, emerge uma discussão mais contextualizada, devido as características específicas de amostras oleosas, como por exemplo, a tensão superficial e a polaridade do óleo de girassol rico em AGE, o qual foi utilizado na produção dessa membrana. O ângulo de contato obtido sugere que sua superfície possui maior hidrofiliabilidade, entretanto, sabe-se que água e óleo possuem propriedades moleculares opostas, polar e apolar, respectivamente. Este fenômeno pode ser visto ao comparar o formato de uma gota de óleo na água e uma gota de óleo em contato com o ar. Em contato com o ar, as moléculas de óleo tendem a ficar em formato esférico, pois terão uma menor área de superfície, ou seja, um menor número de moléculas de óleo em contato com o ar. Já na água, a gota de óleo se espalha, aumentando a superfície de contato com a água. Um comportamento similar foi observado por Moraes Segundo *et al* (2019) que produziu membranas de PCL eletrofiadas com variações na concentração de óleo de copaíba, onde a membrana com 25%wt de óleo de copaíba apresentou ângulo de contato de 95° , uma diferença de 47° em relação a membrana de PCL pura.

Diante do exposto, pode-se afirmar que tanto a HS quanto o AGE modificaram a superfície das membranas, alterando o ângulo de contato. De acordo com Ricardo (2020), que realizou a aplicação clínica desses materiais em pacientes com queimaduras no Hospital Público 28 de Agosto, realizado no ano de 2020, essa modificação das características de superfície das membranas foi observada durante a aplicação clínica devido as diferenças significativas na adesividade/aderência aos ferimentos dos pacientes do estudo clínico, observada na Figura 24.



Figura 24: Adesividade/aderência das membranas de PCL, PCL+SH e PCL+AGE. Fonte: Ricardo, 2020.

A Figura 24 (a) apresenta queimaduras em partes do braço direito do paciente com a aplicação da membrana de PCL pura com aderência aos ferimentos. A Figura 24 (b) mostra a mão esquerda com queimaduras em dois dedos e com a aplicação da membrana de PCL+AGE com pouca aderência aos ferimentos. E por fim, a Figura 24 (c) trás a imagem da região do antebraço com queimadura próxima ao pulso do paciente com a membrana de PCL+HS aderida ao ferimento.

Durante o estudo clínico, Ricardo (2020) apresentou a comparação da adesividade/aderência, a membrana de PCL apresentou 100% de adesividade. As membranas de PCL+AGE e PCL+HS tiveram adesividade parcial em 37.5% e 25.0% respectivamente, portanto, indica-se que as membranas de PCL obteve resultado superior em relação as outras membranas com ângulos de contato menores. Estes resultados confirmam que houve modificação na superfície das membranas.

5.5 Caracterização Química – FTIR

A Figura 25 apresenta os espectros de FTIR da heparina sódica e das membranas de PCL Pura e de PCL + HS, as caracterizações dos picos mais relevantes destes espectros foram realizadas utilizando comparações com literaturas.

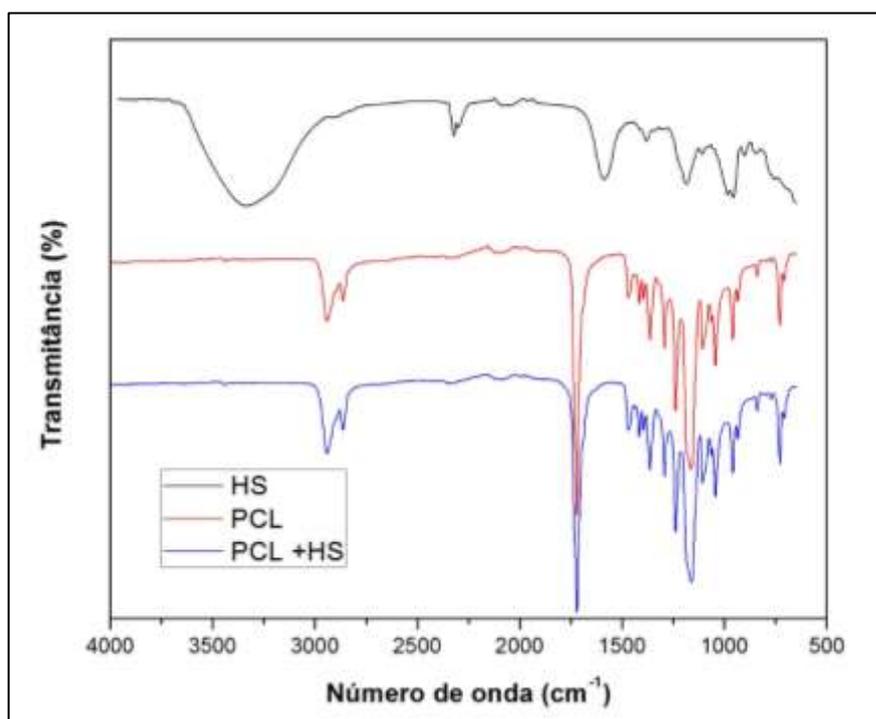


Figura 25: Espectros da HS e membranas de PCL pura e PCL+HS.

Em relação à análise dos espectros da PCL, observa-se a banda presente no espectro na faixa 2869 cm^{-1} que segundo Khosravi (2018), representa os grupos C-H. Observou-se também um pico na faixa de 1722 cm^{-1} característico da carbonila (C=O). Os grupos funcionais ésteres (C-O) estão representados na banda 1242 cm^{-1} . Esses espectros referentes aos grupos funcionais referidos são características da PCL (KHOSRAVI, 2018). A Tabela 7 mostra os comprimentos de ondas obtidos neste experimento em comparação com os comprimentos de ondas obtidos por Khosravi (2018), e suas respectivas atribuições.

Tabela 3: Caracterização dos picos mais relevantes de FTIR da PCL.

Atribuições	Número de Onda (cm^{-1})	
	PCL Neste	PCL
	Experimento	(KHOSRAVI, 2018)
Estiramento do CH_2 assimétrico	2951	2950
Estiramento do CH_2 simétrico	2869	2870
Estiramento da ligação C-H alifáticos	1428, 738	1430, 739
Estiramento da ligação C=O de aldeído	1722	1725
Estiramento da ligação do grupo funcional éster C-O	1242	1240

Com a análise do espectro de infravermelho da heparina sódica observa-se a presença dos picos referentes aos grupos funcionais existentes em sua cadeia, que segundo Coelho são os principais picos para HS, como os grupos OH, CH, NH e C=O. As principais bandas: 3340 cm^{-1} banda de estiramento da ligação O-H do COOH; e 2929 cm^{-1} referente a banda de estiramento C-H; 1625 cm^{-1} banda característica da ligação C=O; e 1417 cm^{-1} deformação axial do grupo C-O; 1221 cm^{-1} deformação axial assimétrica do grupo C-O-C; 791 cm^{-1} do grupo N-H fora do plano.

Tabela 4: Caracterização dos picos mais relevantes de FTIR da HS.

Atribuições	Comprimento de Onda (cm^{-1})	
	HS Neste	HS
	Experimento	(COELHO, 2004)
Estiramento da Ligação OH do COOH	3340	3458
Estiramento da ligação de C-H	2929	2924
Ligação C=O	1625	1630
Deformação axial do grupo C-O	1417	1424

Deformação axial assimétrica do grupo C-O-C	1221	1236
Deformação axial simétrica do grupo C-O-C	1079	1028
Vibração da ligação N-H	791	798

Entretanto, ao analisar o espectro da membrana de PCL+HS fica evidente a pequena contribuição da HS apenas na banda 1417 cm^{-1} , pois as bandas 2929 cm^{-1} , 1221 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} e 791 cm^{-1} coincidem com bandas apresentadas no espectro de PCL.

A Figura 26 apresenta os espectros de FTIR do AGE e das membranas de PCL Pura e de PCL + AGE. As caracterizações dos picos mais relevantes destes espectros foram realizadas utilizando comparações com Nascimento (2016).

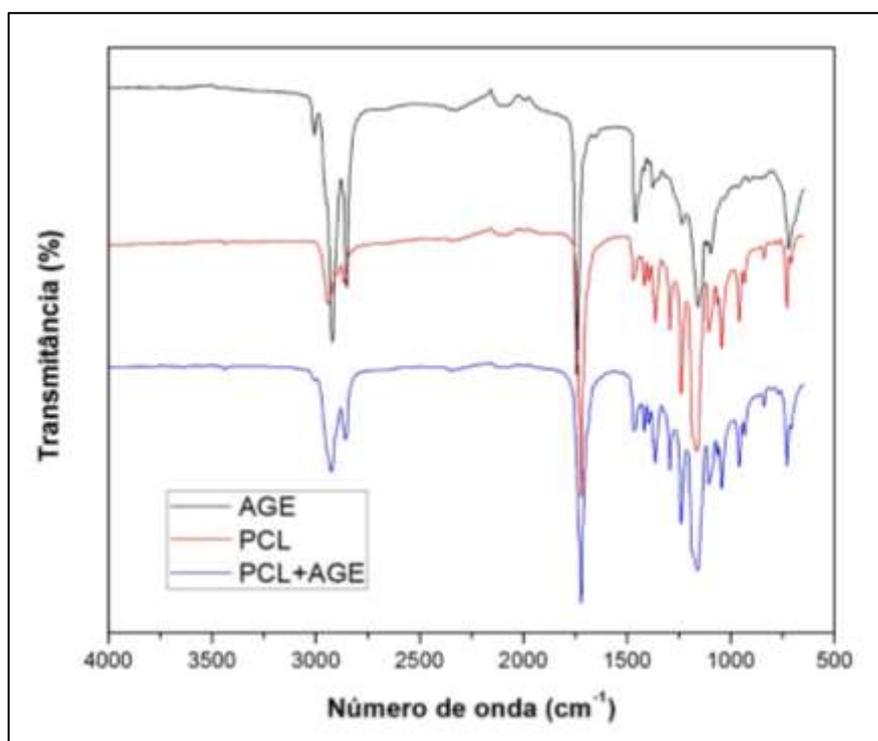


Figura 26: Espectros do AGE e das membranas de PCL Pura e PCL+AGE.

Segundo Nascimento (2016), bandas na região de $3011 - 3005\text{ cm}^{-1}$ são atribuídas ao ácido oleico e linoleico, observou-se valores de 3006 e 2851 cm^{-1} , que são referentes às vibrações simétricas e assimétricas de C-H em CH_2 e CH_3 . As bandas próximas a 1745 cm^{-1} são atribuídas a carbonila de éster.

Já as bandas em torno de 1654 cm^{-1} são referentes às ligações $\text{C}=\text{C}$, presentes nos ácidos graxos insaturados. Bandas entre $1445 - 1440\text{ cm}^{-1}$ são próprias de vibração ou deformação C-H. 1376 cm^{-1} corresponde à deformação de vibração o grupo metileno e 1233 cm^{-1} corresponde

a vibração de deformação no plano do grupo =CH, correspondentes às duplas ligações cis não conjugadas.

Bandas no intervalo de 1300 – 1000 cm^{-1} são características da ligação C-O de éster. As bandas referentes às ligações C-C se encontram nas regiões de 1100 – 1000 cm^{-1} e 900 - 800 cm^{-1} . Já a ligação C=O possui bandas características em 1159 cm^{-1} e 965 cm^{-1} . A banda de absorção em torno de 721 cm^{-1} é atribuída ao grupo $(\text{CH}_2)_n$.

Ao analisar o espectro da membrana de PCL+AGE, é possível observar a presença de bandas referentes as contribuições do óleo, que são: 3006 cm^{-1} (-OH), 2851 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} , 1654 cm^{-1} (C=C), 1378 cm^{-1} , 1233 cm^{-1} (=CH) e 1159 cm^{-1} (C=O).

Tabela 5: Caracterização dos picos mais relevantes de FTIR do AGE.

Atribuições	Comprimento de Onda (cm^{-1})	
	AGE Neste	AGE
	Experimento	(NASCIMENTO, 2004)
Estiramento da ligação da carbonila de Éster	1745	1750
Estiramento da ligação de C=C	1654	1660
Vibração do grupo metileno	1376	1375
Deformação no plano =CH	1233	1236
Vibração da Ligação C=O	1159	1200
Vibração do grupo CH_2	721	720

Diante do exposto, pode-se afirmar que há a presença dos fármacos nas membranas de PCL + HS e PCL + AGE, sem a presença de novos picos, concluindo-se, portanto, que não houve interação química entre os fármacos e o polímero.

5.6 Análise termogravimétrica – TGA

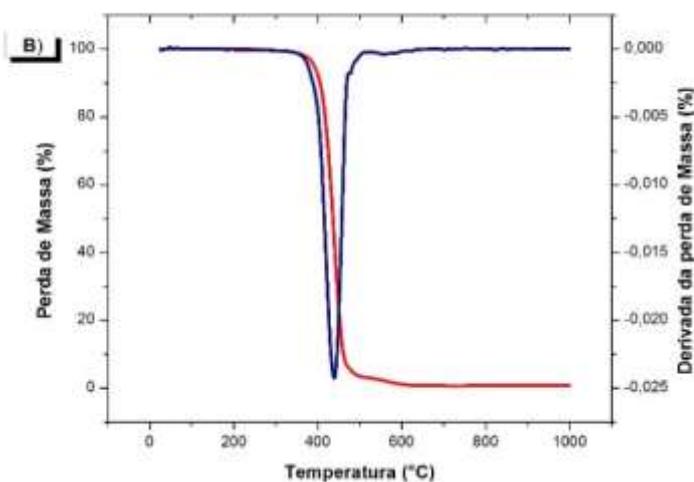
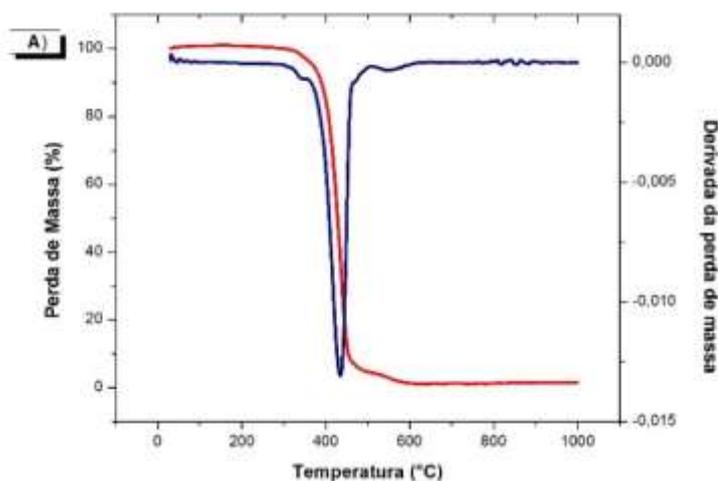
A Figura 27 apresenta as curvas obtidas na análise termogravimétrica (TGA) e derivada termogravimétrica (DTGA) das membranas de PCL, PCL+HS e PCL+AGE. Não se observa a perda de massa significativa até aproximadamente 330°C, que indicar a ausência de água no material e a ausência de resíduos dos solventes voláteis utilizados no preparo da solução polimérica.

A análise termogravimétrica mostrou que a incorporação de HS e de AGE não alterou a estabilidade térmica do polímero, mas observa-se que houve um pequeno aumento nas temperaturas de início e final do evento térmico em relação ao PCL. As temperaturas de início e final das amostras estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6: Temperaturas de degradação das amostras obtida por TGA.

	T início (°C)	T Final (°C)
PCL	300	471
PCL+HS	310	620
PCL+AGE	302	500

Segundo Mohammed *et al* (2008), a temperatura de início da degradação da PCL é em torno de 340°C e temperatura final de 489°C. Em relação a HS, Coelho (2004) apresenta a temperatura de início da HS em torno de 260°C e temperatura final de aproximadamente 600°C, e por fim, Rodrigues e Weber (2020) mostram que a temperatura de início da AGE em torno de 300°C e temperatura máxima de 500°C. Deste modo, as temperaturas reportada na literatura estão próximas aos valores obtidos neste estudo.



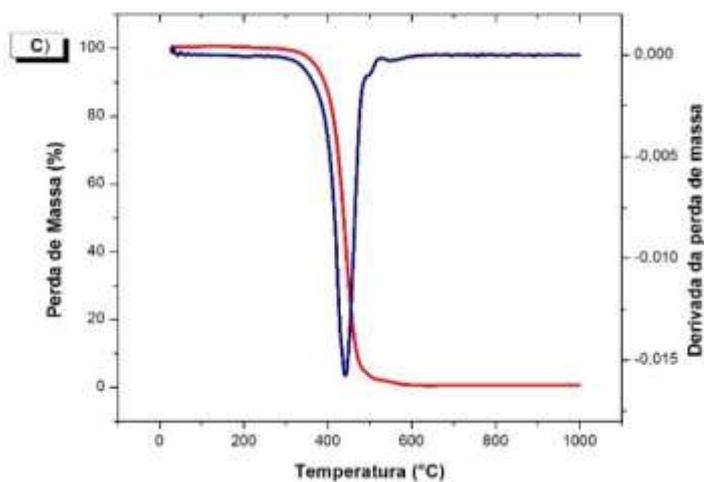


Figura 27: Termogravimetria e derivada termogravimétrica das membranas de (a) PCL; (b) PCL+HS e (c) PCL+AGE. As curvas em vermelho são referentes ao TGA e em azul ao DTGA.

As perdas de massa são verificadas em: 430,18°C com perda de massa de 49,98% para a membrana de PCL; 435,65°C com perda de massa 50,04% para a membrana de PCL+HS e 437,03°C com perda de massa 50,02%, para a membrana da PCL+AGE. Conforme exposto, a interação entre os fármacos e a PCL não modificou significativamente a estabilidade térmica do material.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As membranas de PCL Pura, PCL+HS e PCL+AGE foram obtidas com sucesso por eletrofição.

A utilização do gás ozônio para esterilização se mostrou eficiente pois no teste de esterilidade não houve evidências de contaminação por microrganismos (bactérias e fungos) tornando as membranas aptas para aplicação biomédica.

A morfologia das membranas revelou que as fibras obtidas foram uniforme e aleatoriamente distribuídas.

O estudo estatístico de diâmetro das fibras mostrou que a adição dos fármacos alterou o diâmetro das fibras, pois o diâmetro médio das fibras de PCL Pura foi de $DM = 1,160 \pm 0,992 \mu\text{m}$ enquanto o diâmetro médio das fibras de PCL +HS foi de $DM = 0,981 \pm 0,663 \mu\text{m}$ e das fibras de PCL+AGE $DM = 1,53 \pm 0,924 \mu\text{m}$.

Em relação a molhabilidade das membranas pode-se afirmar que tanto a HS quanto o AGE modificaram a superfície das membranas, alterando o ângulo de contato. As membranas de PCL, de PCL + HS e de PCL + AGE apresentaram os ângulos de contato de 123° , 102° e 95° , respectivamente.

A análise de FTIR do espectro da membrana de PCL+HS evidenciou uma pequena contribuição da HS na banda 1417 cm^{-1} referente a ligação C-O. No espectro da membrana de PCL+AGE também se observou a presença de bandas referentes as contribuições do óleo que são: 3006 cm^{-1} (-OH), 2851 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} , 1654 cm^{-1} (C=C), 1378 cm^{-1} , 1233 cm^{-1} (=CH) e 1159 cm^{-1} (C=O).

A análise termogravimétrica das membranas revelou que não houve modificação substancial na estabilidade térmica das membranas a partir da interação entre HS e AGE com PCL.

As membranas desenvolvidas nesta pesquisa possuem grande potencial para ser utilizado como curativo e dispositivo de liberação de fármaco. A utilização de outras substâncias pode trazer características ainda mais atraentes a estes materiais. A formação de blendas com outros polímeros, como por exemplo, acetato de celulose, quitosana, ácido hialurônico, etc. pode alterar as características térmicas e mecânicas das membranas. E também, a utilização de nanopartículas metálicas, como de ouro e prata, já que estes materiais possuem características importantes para aplicação médica, pois possuem ação antibacteriana e anti-inflamatória, trazendo benefícios ainda maiores para o tratamento de feridas.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, S.; WENDORFF, J. H.; GREINER, A. **Use of electro-spinning technique for biomedical applications**. *Polymer*, v. 49, p. 5603-5621, 2008.
- AIRES, A. M. M. **Biodispositivos Eletrônicos implantáveis e biodegradáveis nano/microfibras de poli (ϵ -caprolactona) (PCL)** - Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. 2012.
- ALBINI, L.T. **Solubilidade do biopolímero PCL em solventes para aplicação no processo de microencapsulação**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2012.
- ALCOBIA DS. **Produção de Nanofibras Alinhadas de Polímeros Biodegradáveis Para Crescimento e Regeneração de Células Neurais**. São Paulo: Universidade de São Paulo Instituto de Química, 2013.
- AMASS, W.; AMASS, A.; TIGUE, B. **A review of biodegradable polymer: uses current developmensts in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable and recent advances in biodegradation studies**. *Polymer international*, v.17, p.89-144, 1998.
- ASANE, G. S.; NIRMAL, S. A.; RASAL, K. B.; NAIK, A. A.; MAHADIK, M. S. & MADHUSUDAN RAO, Y - **Drug Delivery**. *Industrial Pharm.*, 34, p.1246, 2008.
- AULTON, M. E. - **Delineamento De Formas Farmacêuticas**, Artmed, Porto Alegre, 2005.
- BAČOVSKÁ, R., WISIAN-NEILSON, P., ALBERTI, M., PŘÍHODA, J., ZÁRYBNICKÁ, L., VORÁČ, Z. **Phenyl-methyl phosphazene derivatives for preparation and modification of hydrophobic properties of polymeric nonwoven textiles**. *Reactive and Functional Poymers*, v. 100, p. 53-63, 2016.
- BAJAY H. M., JORGE A. S., DANTAS S. R. P. E. - **Curativos e coberturas para o tratamento de feridas**. In: Jorge AS, Dantas SER, organizadores. *Abordagem multidisciplinar do tratamento de feridas*. São Paulo: Atheneu; 2003.
- BAJI, A.; MAI, Y.; WONG, S. C.; ABTAHI, M.; CHEN, P. **Electrospinning of polymer nanofibres: Effects on oriented morphology, structure and tensile properties**. *Composites Science and Technology*, v. 70, n. 5, p. 703-718, 2010.
- BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C. & DUEK, E. A. R. - **Polímeros: Ciência e Tecnologia.**, 15, p.13, 2005.
- BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. **Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique**. *Biotechnology Advances*, 2010.
- BORDES, C.; FRÉVILLE, V.; RUFFIN, E.; MAROTE, P.; GAUVRIT, J. Y.; BRIAÇON, S.; LANTÉRI, P. **Determination of poly(ϵ -caprolactone) solubility parameters: Application to solvent substitution in a microencapsulation process**. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 383, p.236-243, 2010.

BRASIL – **Resolução RDC n.15, de 15 de março de 2012.** Dispõe de requisitos de boas praticas para o processamento de produtos para saúde e outras providencias. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0015_15_03_2012.html. Acesso em 20 de abril de 2019.

BRASIL – **Resolução RDC n.17, de 16 de abril de 2010.** Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos e dá outras providencias. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_06_04_2010.html. Acesso em: 15 de abril de 2019.

BRITO, Talita A. V. - **Preparação e Caracterização de Nanofibras da Blenda PLLA/PCL obtidas pelos Processos de Eletrofição e Rotofiação.** Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Campinas, 2015

COIMBRA, Patrícia M. A. - **Preparação E Caracterização De Sistemas De Liberação Controlada De Fármacos Com Base Em Polímeros De Origem Natural.** Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 2010.

COLLINS G, FEDERICI J, IMURA Y, LUIZ H. CATALANILH. **Charge generation, charge transport, and residual charge in the electrospinning of polymers: A review of issues and complications.** Journal of Applied Physics, Melville, v.111, n.4, p719-724, fev. 2012.

COSTA, R. G. F.; OLIVEIRA, J. E.; PAULA, G. F.; PICCIANI, P. H. S.; MEDEIROS, E. S.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. **Eletrofição de Polímeros em Solução. Parte I: Fundamentação Teórica.** Polímeros, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

CRAFOORD C, JORPES E. **Heparin as a prophylactic against thrombosis.** JAMA. 1941;116:2831-5, 1941.

CUNHA C, PANSERI S, ANTONINI S. **Emerging Nanotechnology Approaches in Tissue Engineering for Peripheral Nerve Regeneration.** Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, Elsevier, v.7, n.1, p50-59, fev. 2011.

DA SILVA, L.G. **Caracterização físico química e avaliação da liberação in-vitro dos conjugados poli(ε-caprolactona)/tetraciclina e poli(ε-caprolactona)/ácido etilsalicílico.** Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá. 2012.

DASH, T.K.; KONKIMALLA, V.B. **Poly-ε-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review.** Journal of Controlled Release. v. 158, p. 15–33, 2012.

DE NARDI AB, RODASKI S, SOUSA RS, BAUDI DLK, CASTRO JHT. **Se-condary cicatrization in dermoepidermal wounds treated with essential fatty acids, vitamins A and E, soy lecithin and polynyl -pyrrolidone-iodine in dogs.** Arch Vet Sci. 2004.

DECLAIR V. **Tratamento de úlceras crônicas de difícil cicatrização com ácido linoléico.** J Bras Med. 2002.

DEMIR MM, YILGOR I, YILGOR E, ERMAN B. **Electrospinning of polyurethane fibers.** Polymer, Elsevier, v.43, n.11 p3303-3309, maio 2002.

DEVLIN, T. M. - **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 4a ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, p. 291- 294, 2002.

DREYER, J. P. **Eletrofição Do Poli(Óxido De Etileno) E Acetato De Celulose E A Influência Da Incorporação De Aromatizantes No Processo De Eletrofição**, Universidade Federa de Santa Catarina, 2015.

DVIR, T., TIMKO, B.P., KOHANE, D. S., LANGER, R. – **Nanotechnological strategies for engineering complex tissues**. Nature Nanotechnology, v. 6, n. 1, p. 13-22, 2011.

EHRlich H. P., HUNT T. K.- **Effects of cortisone and vitamin A on wound healing**. Ann Surg. 1968.

ERLICHE, J., STIVALA, S. S. **Chemistry and Pharmacology of Heparin**. Journal of Pharmaceutical Sciences, V.62, n. 4, p. 517-544, 1973.

FARMACOPÉIA Brasileira. São Paulo: Atheneu, v.1, p.321-326, 2010.

FERREIRA, M. A., de Souza, B. M. V., Rigotti, M.A., Loureiro, M. R. D. -**Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional**. Revista Escola de Enfermagem – Universidade de São Paulo – USP, 2011.

GARG, K., BOWLIN, G. - **Electrospinning Jets And Nanofibrous Structures**. Department of Biomedical Engineering, Virginia Commonwealth University, 2011.

GHOMI, E. R., KHALILI, S., KHORASANI, S. N., NEISIANY, R. E., RAMAKRISHNA, S. - **Wound dressings: Current advances and future directions**. Journal of Applied Polymer Science, v. 136, n. 27, 2019.

GOETZ, L. A.; JALVO, B.; ROSAL, R.; MATHEW, A. P. **Superhydrophilic Anti-Fouling Electrospun Cellulose Acetate Membranes Coated With Chitin Nanocrystals For Water Filtration**. Journal of Membrane Science, 2016.

GOLDSTEIN J.I.; NEWBURY D. E.; ECHIL P; Joy DC; Romig Jr AD; Lyman CE; Fiori C; Lifshin E. **Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis**. New York: Plenum Press; 1992.

GONÇALVES, Natércia A. - **Nanofibras De Poli(ε-caprolactona) E Oli(óxido De Etileno): Fabricação Pela Técnica De Eletrofição E Efeitos Radiolíticos**. Recife, Pernambuco, 2015.

GREENWAY D. L. A., DYKE K. G. H. - **Mechanism of the inhibitory action of linoleic acid on the growth of Staphylococcus aureus**. J Gen Microbiol. 1979.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I. **A Comprehensive Review Summarizing The Effect Of Electrospinning Parameters And Potential Applications Of Nanofibers In Biomedical And Biotechnology**. Arabian Journal of Chemistry, 2015.

HAMÚ Z. C., PINTO M. M., CHAGAS L. A. F. - **Ácidos graxos essenciais, vitaminas A e E e lecitina de soja: uma nova opção no tratamento de lesões graves com perda de substância com ou sem presença de infecção**. Revista Brasileira de Medicina, 1999.

HATANAKA E, CURI R. **Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão.** Revista Brasileira de Farmacologia, 2007.

HERNÁNDEZ RM, ORIVE G, MURUA A, PEDRAZ JL. **Microcapsules And Microcarriers For In Situ Cell Delivery.** Advanced Drug Delivery Reviews, Elsevier, v.62, n.7-8, p711-730, jun.2010.

HUANG, Zheng-Ming. ZHANG, Y.-Z. KOTAKI, M. RAMAKRISHNAB, S. **A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications in Nanocomposites.** Department of Engineering Mechanics, Tongji University, Shanghai, PR China, 2003.

JANG JH, CASTANO O, KIM HW. **Electrospun Materials As Potential Platforms For Bone Tissue Engineering.** Advanced Drug Delivery Reviews, Elsevier, v.61, n.12, p1065-1083, out. 2009.

JEDLIŃSKI, Z.; KURCOK, P.; ADAMUS, G. & JUZWA, M. - Acta Biochim. Polymer, 47, p.79, 2000.

JIN L, ABRAHAMS JP, SKINNER R, PETITOU M, PIKE R, CARREL RW. **The anticoagulant activation of antithrombin by heparin.** Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94(26):14683-8, 1997.

JOHNSON, E. A., KIRKWOOD, T. B. L., STIRLING, Y., **Four Heparin Preparation: Anti-Xa Potentiating Effect of Heparin after Subcutaneous Injection.** Thromb. Haemostas. (Stuttg.), v.35, p. 586-591, 1976.

KAI D, LIOW SS, LOH XJ. **Biodegradable Polymers For Electrospinning: Towards Biomedical Applications.** Materials Science and Engineering: C, Elsevier, 12p, 2014.

KHOR, H. L.; SCHANTZ, J. T.; PHAN, T-T.; LIM, T. C.; TEOH, S. H.; HUTMACHER, D. W. - **Poly(E-Caprolactone) Films As A Potential Substrate For Tissue Engineering Na Epidermal Equivalent.** Materials Science and Engineering, v. 2002.

KIM, C. – **Controlled Realease Dosage Form Desing.** 1° edição Lancaster: Technominc, 2000.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. **Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review.** Journal of Food Protection, Des Moines, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

KIM, S.; KIM, J.-H.; JEON, O.; KWON, I. C.; PARK, K., **Engineered Polymers For Advanced Drug Delivery.** European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics, 2009.

KULKARNI A, BAMBOLE VA, MAHANWAR PA. **Electrospinning of Polymers, Their Modeling and Applications.** Polymer-Plastics Technology and Engineering, v.49, n.5, p427-441, abril 2010.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. **Ozone in water treatment: application and engineering.** Chelsea: AWWARF and Lewis Publishers, 1991.

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. - **Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização**. Vitória: PROSAB, p. 169-208, 2003.

LIU, S.; MAHESHWARI, R. & KIICK, K. L. - **Macromolecules**, 42, p.3, 2009.

LUNA, C. B.B., SILVA, D. F., BASÍLIO, S. K. T., ARAÚJO, E.M., SILVA, A. L., BEZERRA, A. F. C - **Desenvolvimento de Blendas Poliméricas visando a Tenacificação dos Polímeros: Uma revisão**. Seminário de Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 36, n. 1, p. 67-80, jan./jun. 2015.

MAGALHÃES M.S.F, FECHINE F.V., MACEDO R.N, MONTEIRO D.L.S., OLIVEIRA C.C., BRITO G.A.C., **Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats**. Acta Cir Bras. 2008.

MAHAN LK, ESCOTT-STUMP S. K. - **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11^a ed. São Paulo: Roca; 2005.

MEDEIROS ES, GLENN GM, KLAMCZYNSKI AP, ORTS WJ, MATTOSO LHC. **Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions**. Journal of Applied Polymer Science, p2322-2330, abril 2009.

MOAT, J., CARGILL, J., SHONW, J., UPTON, M. – **Application of a novel decontamination process using gaseous ozone**. Canadian Journal of Microbiology, v. 55, n. 8, p.928-933, 2009.

MORAES SEGUNDO, J. D. P. - **Influência da adição de surfactantes em fibras altamente alinhadas de poli (caprolactona) obtidas por eletrospiação**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Campinas, 2015. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/265717>. Acesso em: 20 de março 2019.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. **Biodegradable polymers as biomaterials.**, Program Polym Sci, v. 32, p. 762, 2007.

OKUTAN, N.; TERZI, P.; ALTAY, F. **Affecting Parameters on Electrospinning Process and Characterization Of Electrospun Gelatin Nanofibers**. Food Hydrocolloids, 2014.

ORÉFICE RL, PEREIRA MM, MANSUR HS. **Biomateriais; Fundamentos e Aplicações**. 1.ed., 1. reimpr. Rio de Janeiro: Cultura Médica: Guanabara Koogan, 2012.

PAULA, M. M. S.,- **Síntese Sonoquímica De Nanopartículas Metálicas**, Laboratório de Materiais Compósitos da Universidade Federal Do Amazonas – UFAM, Manaus - Amazonas, 2018.

PIEPER B, CALIRI MH. **Nontraditional wound care: a review of the evidence for use of sugar, papaya/papain, and fatty acids**. J Wound Ostomy Continence Nurs. 2003.

PLACE, E. S., EVANS, N.D., STEVENS, M. M. – **Complexity in biomaterials for tissue engineering**. Nature Materials. v. 8, n.6 p. 457-470, 2009.

PLIVELIC, T.S.; CASSU,S.N.; GONÇALVES, M.C.; TORRIANI, I.L.**Experiências Simultâneas de Espalhamento de Raios Xe Calorimetria Diferencial de Varredura**

(SAXS/WAXD/DSC)com **Resolução Temporal Utilizando Radiação Síncrotron**. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n° 3, p. 199-206, 2005.

PRESTES, E. B. **Avaliação da eficiência do ozônio como sanitizante em hortaliças folhosas minimamente processadas**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RAMAKRISHNA, S. et al. **Introduction. In: An Introduction to Electrospinning and Nanofibers**. Singapore: World Scientific Publishing Company, 2005.

REDIGUIERI, C. F., DE BANK, P. A., ZANIN, M. H. A., LEO, P., CERIZE, N.N. P., DE OLIVEIRA, A. M., PINTO, T. J. A. - **The effect of ozone gas sterilization on the properties and cell compatibility of electrospun polycaprolactone scaffolds**. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, v. 28, n. 16, p. 1918–1934, nov. 2017.

RICARDO, J. C. **Avaliação da Aplicabilidade de Membranas de Poli (ϵ – Caprolactona) Para Liberação Controlada de Fármacos no Tratamento De Feridas**. *Dissertação*, Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, 2020.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. **Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization**. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, p.826, 1999.

SALTZMAN, W., **Drug Delivery - Engineering Principles For Drug Therapy**. Oxford University Press: NY, 2001.

SANTOS, Cayane G.; Roggia I.; Fernandes L. S.; Raffin R. P. - **Uso De Blendas Poliméricas Em Nano E Microencapsulação**. *Disciplinarum Scientia*. Série: Naturais e Tecnológicas, Santa Maria, v. 16, n. 2, p. 311-323, 2015.

SERRANO, M.C.; PAGANIA, R.; VALLET-REGÍ, M.; PEÑA, J.; RAMILA,A.; IZQUIERDO, I.; PORTOLÉS, M.T. **In vitro biocompatibility assessment of poly(ϵ -caprolactone) films using L929 mouse fibroblastos**. *Biomaterials*, v. 25, p. 5603–5611, 2004.

SILL TJ, RECUM HA. **Electrospinning: Applications In Drug Delivery And Tissue Engineering**. *Biomaterials*, Elsevier, v.29, n.13, p1989-2006, maio 2008.

SILVEIRA, I. C. T. **Cloro e ozônio aplicados a desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em DAPHNIA SIMILIS**. Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

SINHA, V. R.; BANSAL, K.; KAUSHIK, R.; KUMRIA R.; TREHAN, A. **Polycaprolactone Microspheres And Nanospheres: An Overview**. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004.

SISSON,A.L., DUYGU E., LENDLEIN, A. The contemporary role of ϵ -caprolactone chemistry to create advanced polymer architectures. *Polymer*, v.54, p. 4333-4350, 2013.

SOLOMÃO, Z. **Desenvolvimento e caracterização de compósitos de Poli(ϵ -caprolactona)(PCL) e Beta-Fosfato Tricálcico (Beta-TCP) para uso em biomateriais**. *Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas*.Campinas, 2011.

SWARBRICK, J. - **Encyclopedia Of Pharmaceutical Technology**. Informa Healthcare, England, 2007.

TANAKA, Y.; GONG, J. P. & OSADA, Y. - **Program Polymer Science**, 30, p.1 (2005). USEPA - **United States Environmental Protection Agency**. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. 1999. Disponível em: http://www.epa.gov/OGWDW/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf. Acesso em: 30 abril de 2019.

VATANKHAH E, PRABHAKARAN MP, JIN G, MOBARAKEH LG, RAMAKRISHNA S. **Development of nanofibrous cellulose acetate/gelatin skin substitutes for variety wound treatment applications**.v.28, n.6, p909-930, fev. 2014.

VIDAL, F. J. R. **Proceso de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización**. Madrid : Ediciones Díaz de Santos, p.253, 2003.

VIEIRA, Eduardo de O. - **Eletrofição de Blenda de Acetato de Celulose E Spiropyran Para Identificação De Cianeto Em Acetonitrila**. Universidade Federal De Santa Catarina, Centro De Ciências Físicas E Matemáticas, Departamento De Química, 2016.

VILLANOVA, Janaina C. O., ORÉFICE, Rodrigo L. CUNHA, Armando S. - **Aplicações Farmacêuticas De Polímeros**. Departamento de Produtos Farmacêuticos, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 2010.

WANG T, TURHAN M, GUNASEKARAN S. **Selected Properties Of Ph-Sensitive, Biodegradable Chitosan-Poly (Vinyl Alcohol) Hydrogel**. Polymer Internacional, v.53, p911-918, maio 2004.

WANNATONG L, SIRIVAT A, SUPAPHOL P. **Effects of Solvents on Electrospun Polymeric fibers: Preliminary Study On Polystyrene**. Polymer International, v.53, p1851-1859, jun. 2004.

WESSLER, K.**Sistemas de p(3HB) e p(3HB-co-3HV) com policaprolactona-triol:comportamento de fases, reologia, propriedades mecânicas e processabilidade**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Joinville, 2007.

WILLIAMS, J. M.; ADEWUNMI, A.; SCHEK, R. M.; FLANAGAN, C. L.; KREBSBACH, P. H.; FEINBERG, S. E.; HOLLISTER, S. J.; DAS, S. **Bone Tissue Engineering Using Polycaprolactone Scaffolds Fabricated Via Selective Laser Sintering**. Biomaterials. 2005.

WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D. W. **The Return Of A Forgotten Polymer— Polycaprolactone In The 21st Century**, Progress in Polymer Science. v. 35, 2010.