

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Milena Costa da Silva

**BIOFIOS: FIOS DE SUTURA BIODEGRADÁVEIS DE QUITOSANA COMO
SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE N-ACETIL-D-GLUCOSAMINA**

Campina Grande - PB

2019

Milena Costa da Silva

BIOFIOS: FIOS DE SUTURA BIODEGRADÁVEIS DE QUITOSANA COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE N-ACETIL-D-GLUCOSAMINA

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito para à obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.**

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook

Agência Financiadora: CAPES

Campina Grande - PB

2019

VITAE DO CANDIDATO

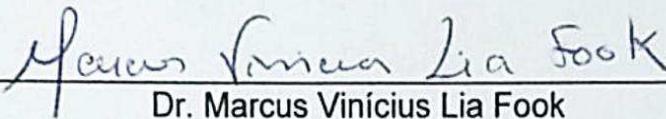
- Engenheiro de Materiais pela UFCG (2013)
- Mestre em Ciências e Engenharia de Materiais pela UFCG (2015)

MILENA COSTA DA SILVA

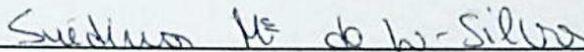
BIOFIOS: FIOS DE SUTURA BIODEGRADÁVEIS DE QUITOSANA COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE N-ACETIL-D-GLUCOSAMINA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais**.

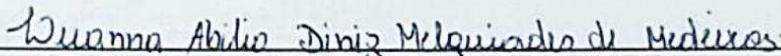
Aprovado em: 29/08/2019



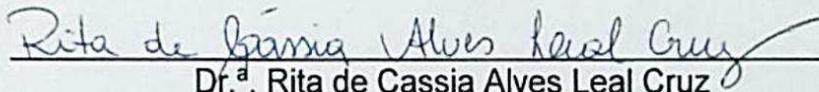
Dr. Marcus Vinícius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UFCG



Dr.^a Suédina Maria de Lima Silva
Examinadora Interna
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG



Dr.^a Luanna Abílio Diniz Melquiades Medeiros
Examinadora Externa
UFCG/PATOS



Dr.^a Rita de Cassia Alves Leal Cruz
Examinadora Externa
IESP



Dr.^a Renate Maria Ramos Wellen
Examinadora Interna
DEMAT/UFPB

S586b

Silva, Milena Costa da.

Biofios: fios de sutura biodegradáveis de quitosana como sistema de liberação controlada de N-Acetil-D-Glucosamina / Milena Costa da Silva. – Campina Grande, 2019.

193 f. : il. color.

Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".

Referências.

1. Polímeros. 2. Quitosana. 3. Fiação Úmida. 4. N-Acetil-D-Glucosamina. 5. Fios de Sutura. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Título.

CDU 678.7:620.1(043)

“Ó Senhor dos Exércitos, como é feliz aquele que em ti confia”
(Salmos 84:12)

AGRADECIMENTOS

Sou grata primeiramente a Deus por tudo que Ele me tem concedido, pelo dom da vida, por cuidar de mim a cada momento por me conceder forças nos momentos mais difíceis e por me fazer capaz de chegar até aqui.

A toda a minha família por toda a preocupação e paciência, por sempre tentar entender os momentos de ausência diante dos meus estudos e por todas as orações e palavras de encorajamento nos momentos de maiores necessidades.

Aos meus pais em especial, Joás e Eurice por toda contribuição financeira por sempre fazerem de tudo para que tivéssemos boa educação. Por todo o cuidado e zelo comigo e por toda a confiança que depositaram em mim.

A minha irmã, amiga, por toda a sua preocupação, por todo o seu amor, e por cuidar de mim como uma mãe, por sempre está comigo nos momentos de tristeza e de alegria, por torcer tanto pela minha felicidade e por minhas conquistas.

A hoje, o meu esposo, amigo, conselheiro, incentivador, ajudador e pai de Miguel, Nilton Júnior, por sempre trilhar comigo toda essa jornada acadêmica, desde da graduação até hoje sempre se fez presente, acreditou em mim, me incentivou, e me motivou, sempre me impulsionando a enfrentar novos desafios. Obrigada por todo o seu apoio emocional, físico e por sempre acreditar que seria capaz mesmo quando não achava isso possível. Sou grata a Deus por estarmos juntos pela nossa cumplicidade, eu sei que seria bem mais difícil chegar aqui sem você. Sem que nos momentos de desespero eu não tivesse você do meu lado para dizer “não se preocupa amor, Deus está cuidando de tudo”.

Não tenho palavras hoje para agradecer a Deus por vivenciar mais um milagre e hoje ser a mãe de Miguel, Ele com a sua infinita graça e bondade me concedeu essa dádiva de gerar um filho, foi muito bom por compartilhar esses momentos finais do Doutorado sentindo todo o seu carinho em formas de chute e pulinhos.

Ao meu Orientador Professor Marcus Vinícius Lia Fook, meu imensurável agradecimento por todo o apoio e confiança, por todas as oportunidades a mim concedidas, por acatar as ideias, as críticas e sugestões, por acreditar em mim e sempre me motivar.

A todos que fazem parte da Igreja Presbiteriana do Alto Branco pelo apoio, convívio e pelas orações.

A professora Rita de Cássia, sou muito grata por toda a sua contribuição científica e correções, pelo apoio diário e pela amizade.

A todos os amigos e colegas que ganhei aqui no laboratório CERTBIO; Williams, Hugo, Otto, Thiago Fidélis, Dagoberto, Willian, Felipe, Nicolas, Bianca, Michele, Daniel, Silvia, Hermano, Dayanne (Day). A Samuel que mesmo longe sempre presta apoio. A João e a Paulo pela ajuda com os ensaios de reometria. A dona Socorro por sua amizade e lealdade e por sempre esta disposta a nos ajudar. A Josué pelas suas contribuições. A Solomon, pela sua alegria contagiante, por sempre está disposto a ajudar e por todas as suas palavras de conforto e orações. A Henrique sou muito grata por todo apoio a mim prestado, por não colocar dificuldade em me ajudar, estender a mão quando mais precisei, de ir para o laboratório, de compartilhar as ideias e os desafios, por ser incentivador de vários projetos. Obrigada pelos esclarecimentos de várias dúvidas e pela paciência e compreensão, desejo-te um futuro promissor.

Em especial a Flávia, Francivaldi e Valéria por compartilhar todos os desafios, pelas palavras de incentivo, pelas dúvidas sanadas, pelos momentos de descontração e por cada “bom dia” e “boa tarde”. E a minha amiga Imarally, que sempre foi tão carinhosa e prestativa, que não hesitou em dividir e compartilhar seus conhecimentos.

A enorme família que ganhei aqui no CERTBIO, a Paulinha que representa mais que uma amiga, é como uma mãe para mim, sempre me apoiando, me incentivando, muito obrigada por cada abraço e demonstração de sentimento sincero. Ao Sr. Sérgio por ser sempre tão prestativo e estar disposto a ajudar, por toda a sua sinceridade e alegria, e por seu “bom dia professora, doutora Milena Costa”. A Dona Val, que sempre me passou tanto carinho e bondade. A Calos Leão pelas boas conversas e registros diários.

A Professora Dr^a Luana Abílio e Rosana Araújo pela a realização dos testes *in vivo*.

Ao professor Rômulo Navarro, (o avô de Miguel), e a professora Roberta, pelos momentos de descontração, como também pela contribuição científica, pelas correções e ajuda. Igualmente a professora Roberta.

Ao laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) pela oportunidade de desenvolver o trabalho e por toda a estrutura fornecida.

A todo o pessoal do NGI do CERTBIO, a Pedro por toda ajuda científica e companheirismo, a Dona Dailma, Jackeline, Tânia, Tônimo e Lívia.

A todos os docentes do Departamento de Engenharia de Materiais da UFCG, em especial a professora Suédina, pelo cuidado com o meu trabalho.

Aos professores que fizeram parte da banca: Prof^a Dr^a Suédina Maria de Lima Silva, Prof^a Dr^a Rita de Cássia Alves Leal Cruz, Prof^a Dr^a Renate Maria Ramos Wellen, Prof^a Dr^a Luanna Abilio Diniz Melquiades de Medeiros e ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook. Agradeço de coração todas as contribuições.

Agradeço de forma muito carinho a coordenação da Pósgraduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Professor Gelmires e Romualdo. A Márcia que sempre atendeu a todos os alunos com alegria e disposição e a André, pela dedicação em seu trabalho, pela sua amizade e por sempre está disposto a ajudar todos os alunos da melhor forma possível.

Á coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo suporte financeiro.

Muito Obrigada.

RESUMO

Fios de suturas cirúrgicos são biomateriais que tem como finalidade principal o fechamento da lesão. Sendo assim, devem apresentar propriedades mecânicas e biológicas adequadas para que o processo de cicatrização seja efetivo. Logo, este trabalho teve como objetivo desenvolver fios de quitosana, otimizando as propriedades mecânicas/biológicas para aplicação como fios de sutura absorvível biodegradável. Além disso, este trabalho teve como objetivo desenvolver fios de quitosana, otimizando as propriedades mecânicas/biológicas para aplicação como fios de sutura absorvível biodegradável. Além disso, utilizou-se o fio de quitosana como sistema de liberação controlada de fármaco, com o N-Acetil-D-glucosamina (GlcNAc), que assim como a quitosana é um derivado da quitina, combinando as propriedades farmacológicas da GlcNAc com as propriedades biológicas da quitosana. Concentrações de 1, 2, 3 e 4% de quitosana foram inicialmente caracterizadas a partir de ensaios reológicos, e escolheu-se as concentrações de 3 e 4% (m/v) por serem mais viáveis para o processo de fiação. Diante disto, obteve-se fios de quitosana, coagulados em solução de hidróxido de sódio, a partir da técnica de fiação por via úmida, utilizando estas concentrações (3 e 4% (m/v)) de quitosana. Seguiu-se com os ensaios nos fios de 3 e 4% de Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difratometria de Raio X (DRX), Ensaio Mecânico de Tração, Grau de Intumescimento (GI), ensaios de biodegradação *in vitro* em solução tampão de fosfato salino (PBS) e PBS/Lisozima e ensaio de citotoxicidade *in vitro*. A partir dos ensaios morfológicos verificou-se que os fios são cilíndricos e bem definidos. Por DRX observou-se que os fios de 4% tensionados apresentaram maior cristalinidade, o que acarretou em maiores resistências a carga conforme visto nos ensaios de tração. A avaliação do grau de intumescimento evidenciou que os fios de 3% (m/v) apresentaram maior inchamento, devido ter menor grau de cristalinidade, ou seja, maior grau de região amorfa no fio. No ensaio de biodegradação *in vitro*, constatou-se que a degradação total ocorre em 49 dias para as amostras de 3 e 4% em PBS/lisozima. Na sequência foi adicionado o GlcNAc (0,2 g) nos fios de 4% de quitosana, por este apresenta-se dentro das Normas de Fio de Sutura Cirúrgico. e observou-se o aspecto morfológico por MO e MEV, como também os aspectos físico-químicos pela técnica de Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Investigou-se ainda as propriedades mecânicas, ângulo de contato, o perfil *in vitro* de biodegradação e de liberação do fármaco, a citotoxicidade, pelo método de difusão em Ágar e avaliação dos fios na ferida cirúrgica em animais. Após a adição da GlcNAc verificou-se que a morfologia dos fios foi preservada, porém ocorreu a diminuição da força de tração). Contudo, os valores permaneceram com as especificações da Norma para fios de suturas cirúrgicas número 6-0. Constatou-se ainda, que o processo de biodegradação foi acelerado na presença da GlcNAc, e que sua liberação em 50% ocorreu em aproximadamente 34 dias. Com relação a cinética de liberação o modelo que apresentou melhor ajuste foi o de Ordem Zero, seguidos dos modelos de Peppas-Sahlin e Hopfenberg, controladas pelo modelo de difusão e erosão, sugerindo que a liberação de GlcNAc independente da concentração, uma situação desejável na formulação de liberação sustentada porque minimiza as oscilações da concentração de fármaco no sangue. Os dados de citotoxicidade *in vitro* dos fios de

quitosana e quitosana 4%/GlcNAc para células L929 mostraram que estes fios não são tóxicos para estas células. A partir da avaliação clínica realizada na ferida cirúrgica em ratos nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 14 dias, após o procedimento de incisão e sutura da pele, observou-se que os animais suturados com o fio de quitosana 4%/GlcNAc apresentaram fechamento total da ferida em 4 dias, onde iniciou-se o processo de formação do novo tecido. Para o fio de quitosana este fechamento ocorreu em 7 dias. Já para os fios comerciais de *catgut* cromado, observou-se o fechamento após 14 dias. Assim, os fios de quitosana com GlcNAc são promissores para o uso como sutura absorvível, seja no uso veterinário ou na medicina humana. Além disso, este dispositivo médico pode ser capaz de melhorar os processos de cicatrização, aliviar a dor e minimizar a infecção no local da cirurgia, devido à liberação prolongada de GlcNAc.

Palavras-chave: Quitosana. Fiação úmida. N-Acetil-D-Glucosamina. Fios de sutura.

ABSTRACT

Surgical sutures are biomaterials whose main purpose is to close lesion. Therefore, they must have adequate mechanical and biological properties for the healing process to be effective. However, this work aimed at the development of chitosan threads, optimizing the mechanical / biological properties for application as biodegradable absorbable sutures. In addition, chitosan yarn has been used as a controlled release system with N-Acetyl-D-glucosamine (GlcNAc), which, like chitosan, is a chitin derivative, to combine the pharmacological properties of GlcNAc with biological properties of Chitosan. Chitosan concentrations of 1, 2, 3 and 4% were initially characterized from rheological assays, and concentrations of 3 and 4% (w/v) were chosen because they are more viable for the spinning process. Therefore, the chitosan strands, coagulated in sodium hydroxide solution, were obtained from the wet spinning technique, using concentrations of 3 and 4% (w/v) of chitosan. 3 and 4% Optical Microscopy (MO), Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray Diffraction (XRD), Mechanical Traction Assay, Swelling Degree (GI), In vitro Biodegradation in Buffered Saline followed phosphate (PBS) PBS/lysozyme assay and in vitro cytotoxicity. From the morphological tests, it was found that the wires are cylindrical and well defined. By XRD it was observed that the 4% tensioned wires presented higher crystallinity, which resulted in higher load resistance, as seen in the tensile tests. The swelling degree evaluation showed that the 3% (m/v) strands presented greater swelling, due to the lower degree of crystallinity, that is, the higher degree of amorphous region in the strand. In the in vitro biodegradation assay, total degradation was found to occur within 49 days for the 3 and 4% PBS/lysozyme samples. GlcNAc (0.2 g) was added to 4% chitosan threads, which are within the Surgical Suture Yarn Standards. The morphological aspect was observed by OM and SEM, as well as the physicochemical aspects by the Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) technique. The mechanical properties, contact angle, in vitro biodegradation and drug release profile, cytotoxicity by agar diffusion method and wound evaluation in animal wound surgery were also investigated. After the addition of GlcNAc it was found that the yarn morphology was preserved, but the tensile strength (N) decreased. However, the values remained within the specifications of the 6-0 surgical suture standard. It was also found that the biodegradation process was accelerated in the presence of GlcNAc and its release in 50% occurred in approximately 34 days. As for release kinetics, the best fit model was Order Zero, followed by Peppas-Sahlin and Hopfenberg models, controlled by the diffusion and erosion model, suggesting that GlcNAc is concentration independent, a desirable situation in the release formulation. sustained as it minimizes fluctuations in the concentration of drugs in the blood. In vitro cytotoxicity data of 4% chitosan and chitosan / GlcNAc strands for L929 cells showed that they are not toxic to these cells. From the clinical evaluation performed on the surgical wound of animals on days 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 14 days, it was observed that animals sutured with 4% chitosan suture / GlcNAc presented closure. complete. wound within 4 days, and the process of formation of the new tissue began. For chitosan wire, this closure occurred within 7 days. For chrome catgut wire, closure was observed after 14 days. Thus, GlcNAc chitosan threads are promising for use as an absorbable suture, either for veterinary use or in human medicine. Additionally, this medical device may be able to improve

healing processes, relieve pain and minimize infection at the surgical site due to prolonged release of GlcNAc.

Keywords: Chitosan. Wet wiring. N-Acetyl-D-Glucosamine. Suture threads.

PUBLICAÇÕES

SILVA, M. C.; SILVA, H. N.; CRUZ, R. C. A.L.; AMOAH, S. K. S.; SILVA, S. M. DE L.; FOOK, M. V. L. N-Acetyl-D-Glucosamine-Loaded Chitosan Filaments Biodegradable and Biocompatible for use as Absorbable Surgical Suture Material. **Materials**. 2019.

SILVA, M. C.; CRUZ, R. C. A.L.; SILVA, H. N.; FOOK, M. V. L. Biodegradable suture threads as controlled drug delivery systems. **Materials Research Innovations**. 2019.

SILVA, M. C. DA; SILVA, H. N. DA; HOLANDA, S. A.; SILVA, A. R. O.; MARCUS VINICIUS LIA FOOK. Biodegradable polymeric wires: monofilament and multifilament Biodegradable. **Materials Research Innovations**, 2019.

SILVA, M. C.; SILVA, H. N.; HOLANDA, S.A.; SILVA, A.R.O; FOOK, M. V. L. Fios de Quitosana Mono e Multifilamentares para Suturas Cirúrgicas. II Simpósio de Biomateriais do Nordeste, 2019 (**Trabalho Premiado**).

MORAES, G. S.; FOOK, M. V. L.; BARBOSA, R. C.; **SILVA, M. C.** Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020180068873, título: "MÉTODO PARA OBTENÇÃO DE ESTRUTURAS TUBULARES BIOABSORVÍVEIS Á BASE DE BLENDAS GELATINA-QUITOSANA PARA APLICAÇÃO EM DISPOSITIVOS MÉDICOS", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 05/04/2018

DANTAS, C.E, CRUZ, R.C.A.L, **SILVA, M.C**, FOOK, M.V.L. Desenvolvimento de fios de quitosana/glicerol biodegradáveis para uso como biomaterial. 10º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. 15 Congresso da Sociedade Latino Americana de Biomateriais, Órgãos Artificiais e Engenharia de Tecido, 2018.

SILVA, M. C.; CRUZ, R. A. L.; FOOK, M. V. L. Obtenção de Fibras Ocas de Quitosana para Aplicação como Biomaterial. I Simpósio de Biomateriais do Nordeste, 2018 (**Trabalho Premiado**).

SILVA, M. C; CRUZ, R. A. L.; FOOK, M. V. L. Avaliação do Efeito da Concentração de PEO na Fibra de Quitosana. 5º Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais - OBI, 2017 **(Trabalho Premiado)**.

SILVA, M. C; FOOK, M. V. L.; FARIAS, K.A.S; Dos SANTOS, F.S.F.; CRUZ, R. A. L. Fibras Ocas de Quitosana a partir da Técnica de Fiação Úmida. 5º Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais - OBI, 2017 **(Trabalho Premiado)**.

SILVA, M. C; CRUZ, R. A. L.; FOOK, M. V. L.; DANTAS, M. J. L. Fibras de Quitosana Obtidas pela Técnica de Fiação Úmida: Avaliação da Morfologia e da Propriedade Mecânica. 13º Congresso da Sociedade Latino Americana de Biomateriais, Órgãos Artificiais e Engenharia de Tecidos-SLABO, 2016 **(Trabalho Premiado)**.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do processo de sutura com o fio farpado, sem a necessidade do nó. (Ingle et al., 2013).	35
Figura 2 - Representação esquemática da técnica de fiação por fusão (Rawal e Mukhopadhyay, 2014).....	39
Figura 3 - Representação esquemática da técnica de fiação por sopro (Medeiros et al., 2009).....	40
Figura 4 - Representação esquemática da técnica de eletrofiação (Adaptado. Sarbatly et al., 2016).	40
Figura 5 - Representação esquemática do processo de fiação úmida (Yoon et al., 2015).....	41
Figura 6 - Representação esquemática da estrutura química da quitosana.	45
Figura 7 - Representação esquemática da reação da produção da quitosana (Henning, 2009).	46
Figura 8 - Representação esquemática das cadeias de (a) glucosamina, e (b) N-acetilglucosamina (c) Unidades de repetição da cadeia de ácido hialurônico (ácido D-glicurônico e N-Acetilglucosamina) (Bissett, 2006).	48
Figura 9 - Áreas de pesquisas com a glucosamina. Adaptado (Dalirfardouei et al., 2016).....	49
Figura 10 - Representação esquemática dos benefícios de curativo quitosana (Paul e Sharma, 2004).	51
Figura 11 - Esquema representativo do processo de aceleração da cicatrização (Adaptado. Muzzarelli, 1997).	53
Figura 12 - Fluxograma de Obtenção dos Fios de Quitosana.	61
Figura 13 - Esquema representativo do processo de obtenção da solução de quitosana. (a) solução de ácido láctico, (b) flocos de quitosana e (c) solução de quitosana.	62
Figura 14 - Representação esquemática da molécula do Ácido Láctico.	63
Figura 15 - Representação esquemática da dissolução da quitosana.....	64
Figura 16 - Representação Esquemática da reação da quitosana com N-Acetil-D-Glucosamina.	65
Figura 17 - Fluxograma de Obtenção dos Fios de Quitosana 4%/GlcNAc.	66

Figura 18 - Representação esquemática do processo de obtenção da solução coagulante.	67
Figura 19 - Produtos finais (quitosana, água, lactato de sódio, metanol) na solução coagulante.	68
Figura 20 - Representação esquemática do processo de obtenção do fio de quitosana.	69
Figura 21 - Fios de quitosana e quitosana/GlcNAc sem nó (a); com nó simples (b) colocados na máquina Instron com o nó aproximadamente entre os grampos (c). ..	72
Figura 22 - Diagrama de Ishikawa para a força de tração dos fios de quitosana.	78
Figura 23 - Curvas de fluxo de viscosidade (mPa.s) versus taxa de deformação (s) ⁻¹ das soluções de 1,2,3 e 4% de quitosana dissolvidas em ácido láctico.	80
Figura 24 - Curvas do módulo de armazenamento G' e de perda G'' (Pa) em função ω rad/s, obtidas para as soluções de 1, 2, 3 e 4% de quitosana.	82
Figura 25 - Esquema representativo da seção transversal e longitudinal dos fios de quitosana no processo de coagulação.	84
Figura 26 - (a) Esquema representativo da seção transversal do fio de quitosana. (b) Gráfico de velocidade (%/s) versus tempo de coagulação (s) do fio de quitosana 3% (c) e do fio de quitosana 4%.	86
Figura 27 - Imagens obtidas por microscopia ótica do fio seco de quitosana com (a) 3% e (b) 4% de quitosana, com aumento de 350x.	88
Figura 28 - Imagens obtidas por microscopia ótica da seção transversal do fio de quitosana com (a) 3% de quitosana e (b) 4% de quitosana, com aumento de 350x.	90
Figura 29 - Micrografias dos fios de quitosana com 3% (a) aumento de 500x e (b) amostra com recobrimento metálico (ouro) com aumento de 2000x.	91
Figura 30 - Micrografias dos fios de quitosana com 4% (a) aumento de 500x e (b) amostra com recobrimento metálico (ouro) com aumento de 2000x.	92
Figura 31 - Micrografias da seção transversal dos fios de quitosana com 3% (a) aumento de 500x e (b) aumento de 2000x.	92
Figura 32 - Micrografias da seção transversal dos fios de quitosana com 4% (a) aumento de 500x e (b) aumento de 2000x.	93
Figura 33 - Difratoograma (DRX) da quitosana em flocos e dos fios de quitosana com 3 e 4 % de quitosana, não tensionados.	94
Figura 34 - Difratoogramas (DRX) da quitosana em flocos e dos fios de quitosana com 3 e 4 % de quitosana, tensionados.	95

Figura 35 - Gráfico de força de tração (N) dos fios de 3 e 4% de quitosana tensionados e não tensionados.....	97
Figura 36 - Grau de Intumescimento médio para os fios com 3 e 4 % de quitosana.	103
Figura 37 - Gráfico de biodegradação dos fios de 3 e 4% de quitosana em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias.	105
Figura 38 - Espectro de FTIR dos fios de 3% de quitosana, antes (a) e após o ensaio de biodegradação em solução de PBS (b) e PBS/lisozima (c) no período de 49 dias.	107
Figura 39 - Espectro de FTIR dos fios de 4% de quitosana, antes e após o ensaio de biodegradação em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 49 dias.	108
Figura 40 - Detalhe dos espectros de FTIR de várias bandas de absorção nos fios de 3% de quitosana.	109
Figura 41 - Detalhe dos espectros de FTIR de várias bandas de absorção nos fios de 4% de quitosana.	109
Figura 42 - Micrografias dos fios de quitosana com 3% em solução de PBS, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro).	111
Figura 43 - Micrografias dos fios de quitosana com 4% em solução de PBS, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro).	111
Figura 44 - Micrografias dos fios de quitosana com 3% em solução de PBS/lisozima, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro)..	112
Figura 45 - Micrografias dos fios de quitosana com 4% em solução de PBS/lisozima, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro)..	112
Figura 46 - Imagens obtidas por microscopia ótica do fio seco de (a) quitosana 4% com glucosamina, aumento de 350x e (b) fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc, aumento de 200x.	115
Figura 47 - Micrografia do pó de N-Acetil-D-Glucosamina (a) aumento de 500x e (b) aumento de 5000x.	116
Figura 48 - Micrografias do fio de quitosana 4%/GlcNAc (a) aumento de 500x e (b) aumento de 2000x.	116
Figura 49 - Micrografias da seção transversal do fio de quitosana 4%/ GlcNAc (a) aumento de 1000x e (b) aumento de 2000x.....	117
Figura 50 - Difratoograma do fio de (a) quitosana 4%, (b) quitosana 4%/GlcNAc e (c) do pó da GlcNAc.....	118

Figura 51 - Espectros de FTIR do pó de GlcNAc, do fio de quitosana e quitosana/GlcNAc.	120
Figura 52 - Detalhe do espectro de FTIR do fio de quitosana e quitosana/GlcNAc.	121
Figura 53 - Medidas de ângulo de contato para os fios de 4% de quitosana e 4%/GlcNAc, após 1 minuto de contato com a gota de água.	124
Figura 54 - Gráfico de biodegradação dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 7, 14, 21, 28 e 35 dias.	126
Figura 55 - Espectro de FTIR dos fios de Quitosana 4%/GlcNAc, antes e após o ensaio de biodegradação em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 35 dias.	128
Figura 56 - Detalhe dos espectros de FTIR em várias bandas de absorção nos fios de quitosana GlcNAc - PBS e quitosana/GlcNAc – PBS/Lis.....	129
Figura 57 - Micrografias dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS, aumento de 500x	130
Figura 58 - Micrografias dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS/Lisozima, aumento de 500x.	130
Figura 59 - Valores de força de tração (N) nos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc após 21 dias.....	132
Figura 60 - Espectro da solução de N-Acetil-D-Glucosamina (10 µg/mL), com absorção máxima ($\lambda_{MÁX}$) em 192 nm.	134
Figura 61 - Espectro das amostras de Liberação do fio de quitosana 4%/GlcNAc e da solução de N-Acetil-D-Glucosamina 10 µg/mL.	134
Figura 62 - Curva de calibração do N-Acetil-D-glucosamina, obtido pelo método espectrofotométrico UV/VIS.	135
Figura 63 - Gráfico do perfil de liberação do fármaco GlcNAc, nos fios de quitosana (quitosana 4%/GlcNAc), no período até 49 dias, obtidas por espectrofotômetro UV/Vis.....	138
Figura 64 - Imagens de Microscopia Ótica (a) controle positivo e (b) controle negativo.	143
Figura 65 - Ausência de descolorimento ao redor e sob as amostras do (a) fio de quitosana 4% e (b) fio de quitosana 4%/GlcNAc.	144
Figura 66 - Cirurgia externa em experimentos com animais. Quitosana, quitosana/GlcNAc e catgut, nos dias 0,1,2,3,4,5,6,7,14,21,28.	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Expoente “n” do modelo de Korsmeyer-Peppas e os mecanismos de liberação de fármacos de diferentes geometrias.	58
Tabela 2 - Materiais utilizados na pesquisa.....	60
Tabela 3 - Critérios da ISO-10993-5, para a pontuação de reatividade do ensaio de difusão em ágar	76
Tabela 4 - Diâmetro e retração dos fios em diferentes etapas do processamento. ..	89
Tabela 5 - Propriedades mecânicas dos fios de 3 e 4% de quitosana, secos e úmidos com e sem a presença do nó.....	99
Tabela 6 - Valores dos Diâmetros e Força a Tração de acordo com as Normas para Fios de Sutura cirúrgico ABNT NBR 13904.....	100
Tabela 7 - Valores da força de tração (N) dos fios de 3 e 4% de quitosana, submetidos a biodegradação após 21 dias na solução de PBS/Lisozima.	113
Tabela 8 - Propriedades mecânicas dos fios de quitosana 4%/GlcNAc secos e úmidos com e sem a presença do nó.....	122
Tabela 9 - Valores para a verificação da exatidão do método	136
Tabela 10 - Valores para verificação da precisão (repetibilidade)	136
Tabela 11 - Valores dos Modelos de Cinética de Liberação.....	140
Tabela 12 - Avaliação de citotoxicidade usando o teste de ágar	142

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% - Porcentagem

[H⁺] - Concentração Hidrogeniônica

± - Mais ou menos

° - Grau

°C - Grau Celsius

µg - Micrograma

µm - Micrometro

µm - Micrometro

3D - Tridimensional

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

AIC - Akaike Information Criterion

ANOVA - Análise de variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASTM - American Society for Testing and Materials

CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste

cm - Centímetro

cN/dtex - centiNewton/tex

DD - Grau de desacetilação

DRX - Difração de Raio - X

FBS - Soro Fetal Bovino

FDA - Food and Drug Administration

FTIR - Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

g - Gramas

G' - Módulo de armazenamento

G'' - Módulo de perda

GI - Grau de Intumescimento

GlcNAc - N-acetil-D-glucosamina

Gly-HCl - Cloridrato de glicina

GPa - Giga Pascal

h - Hora

H₂O - Água

HCl - Ácido Clorídrico

IC % - Índice de Cristalinidade

ISO - International Organization for Standardization

KV - Quilovolts

m/v – massa/volume

mA - Miliampere

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

mg - Miligrama

min - Minutos

mL - Mililitros

mm - Milímetro

MO - Microscopia Ótica

MPa - Mega Pascal

mPa.s - Milipascal – segundo

MSC - Model selection criterion

N - Newton

NaOH - Hidróxido de Sódio

NBR - Norma Brasileira

NBR - Norma Brasileira

NH₂ - Amina

NH₃⁺ - Amina protonada

nm - Nanômetro

Ø - Diâmetro

OH⁻ - Concentração hidroxiliônica

OH - Hidroxila

Pa - Pascal

PBS - Tampão de Fosfato Salino

pH - Potencial Hidrogeniônico

PKa - Constante de acidez

pOH - Potencial Hidroxiliônico

PS - Poliestireno

r^2 - Coeficiente de Correlação

r^2 - Coeficiente de Determinação

rad/s - Radiano por segundo

rpm - Rotação por minuto

UFMG - Universidade Federal de Campina Grande

UV-Vis - Espectroscopia UV/visível

λ - Comprimento de Onda

π - pi

ρ - Densidade

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1- Modelo de Ordem Zero	56
Equação 2- Modelo de Higuchi	57
Equação 3- Modelo Korsmeyer – Peppas (Lei de Potência).	57
Equação 4- Modelo de Peppas & Sahlin	58
Equação 5- Grau de Cristanilidade	70
Equação 6- Grau de intumescimento.	72
Equação 7- Perda de peso.....	73
Equação 8- Liberação Cumulativa.	74
Equação 9- Taxa de deformação no perfil	81

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1	Cicatrização	31
2.2	Suturas Cirúrgicas.....	32
2.2.1	Classificação dos Fios de Suturas	32
2.2.1.1	Quanto ao Diâmetro	33
2.2.1.2	Quanto ao Tipo	33
2.2.1.3	Quanto a Origem.....	33
2.2.1.4	Quanto a Configuração Física.....	34
2.2.2	Suturas com Fármacos.....	36
2.3	Fibras.....	37
2.3.1	Fibras Poliméricas	37
2.3.2	Método de Obtenção das Fibras.....	38
2.3.2.1	Fiação por Fusão	38
2.3.2.2	Fiação por Sopro.....	39
2.3.2.3	Eletrofiação	40
2.3.2.4	Fiação Úmida	41
2.3.3	Fibras de Quitosana	42
2.3.3.1	Fibras de Quitosana por Fiação Úmida	43
2.4	Quitosana	44
2.4.1	Estrutura da Quitosana.....	44
2.4.2	Propriedades e Aplicações da Quitosana	46
2.5	Glucosamina	48
2.6	Liberação Controlada de Fármacos	55
2.6.1	Modelos de Liberação	55

2.6.1.1	Modelo de Ordem Zero	56
2.6.1.2	Modelo de Primeira Ordem	56
2.6.1.3	Modelo de Higuchi	57
2.6.1.4	Modelo Korsmeyer-Peppas (Lei de Potência)	57
2.6.1.5	Modelo de Peppas & Sahlin	58
2.6.1.6	Modelo de Hopfenberg.....	59
3	MATERIAIS E MÉTODOS	60
3.1	Materiais	60
3.2	Metodologia	61
3.2.1	Preparação da Solução de Quitosana	62
3.2.2	Preparação da Solução de Quitosana/Glucosamina (Quitosana/GlcNAc).....	65
3.2.3	Preparação da Solução Coagulante	67
3.2.4	Processo de Fiação dos Fios de Quitosana e Quitosana 4%/GlcNAc... ..	67
3.2.5	Preparação dos Banhos de Lavagem e Secagem	68
3.2.6	Secagem dos Fios.....	68
3.2.7	Caracterizações.....	70
3.2.7.1	Ensaio Reológico	70
3.2.7.2	Microscopia Ótica (MO).....	70
3.2.7.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	70
3.2.7.4	Difratometria de Raios (DRX).....	70
3.2.7.5	Ensaio Mecânico sob Tração	71
3.2.7.6	Grau de Intumescimento (GI)	72
3.2.7.7	Ângulo de Contato	73
3.2.7.8	Biodegradação <i>in vitro</i>	73
3.2.7.9	Liberação <i>in vitro</i> da N-Acetil-D-Glucosamina	74
3.2.7.10	Cinética de Liberação.....	75
3.2.7.11	Citotoxicidade <i>in vitro</i> (Método Ágar).....	75

3.2.7.12	Avaliação <i>in vivo</i>	76
3.2.7.13	Análise Estatística	77
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
	Análise dos Fatores que Influenciam nas Propriedades dos Fios	78
4.1	Ensaio de Reologia	79
4.1.1	Estudo Preliminar - Determinação da Solução Usada para Obtenção dos Fios.....	79
4.2	Cinética de Coagulação	84
4.2.1	Estudo Preliminar - Determinação do Tempo de Coagulação dos Fios de Quitosana (Cinética de Coagulação)	84
4.3	Microscopia Ótica - (MO)	88
4.4	Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV)	90
4.5	Difratometria de Raios-X - (DRX)	93
4.6	Propriedades Mecânicas sob Tração	97
4.7	Grau de Intumescimento - (GI).....	103
4.8	Biodegradação <i>in vitro</i>	104
4.8.1	Análise por Perda de Massa.....	105
4.8.2	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier - (FTIR) para evidenciar a degradação.....	107
4.8.3	Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV) para Evidenciar a Degradação.....	110
4.8.4	Ensaio Mecânico sob Tração (N).....	113
4.9	Adição do N-Acetil-D-Glucosamina nos Fios de Quitosana 4%.....	114
4.9.1	Microscopia Ótica - (MO).....	114
4.9.2	Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV).....	115
4.9.3	Difratometria de Raio-X - (DRX)	117
4.9.4	Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier - (FTIR).....	119

4.9.5	Ensaio Mecânico sob Tração (N).....	122
4.9.6	Ângulo de Contato.....	123
4.9.7	Biodegradação <i>in vitro</i>	126
4.9.7.1	Análise por Perda de Massa.....	126
4.9.7.2	Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier - (FTIR) para Evidenciar a Degradação.....	128
4.9.7.3	Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV) para Evidenciar a Degradação.....	130
4.9.7.4	Ensaio Mecânico sob Tração (N).....	131
4.9.8	Validação do Método Analítico para a Quantificação da N-Acetil-D-Glucosamina.....	133
4.9.8.1	Determinação do Comprimento de Onda do N-Acetil-D-Glucosamina.....	133
4.9.8.2	Seletividade.....	134
4.9.8.3	Linearidade e Intervalo.....	135
4.9.8.4	Exatidão.....	136
4.9.8.5	Precisão.....	136
4.9.8.6	Limite de Detecção.....	137
4.9.8.7	Limite de Quantificação.....	137
4.9.9	Liberação do N-Acetil-D-glucosamina <i>in vitro</i> a partir dos fios de quitosana.....	137
4.9.10	Cinética de Liberação.....	140
4.9.11	Avaliação clínica da ferida cirúrgica.....	144
5	CONCLUSÃO.....	148
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	150

1 INTRODUÇÃO

Fios de sutura cirúrgicos são biomateriais que tem uma função dupla na reparação de tecido, sendo a primeira função de proteger a ação cirúrgica realizada, e a segunda de ação estética, podendo também ser aplicado na fixação de implantes e próteses (Kandimalla *et al.*, 2016). Assim sendo, para que se alcance a regeneração tecidual bem sucedida é imprescindível que os fios de suturas apresentem contribuições desejáveis para a sua finalidade como: criar um ambiente susceptível para o crescimento do tecido, ser antimicrobiano, não tóxico, ter boa compatibilidade e boas propriedades mecânicas, bem como, proporcionar mínima reação tecidual (Huaixan *et al.*, 2016; Kandimalla *et al.*, 2016).

Os fios de sutura podem ser classificados de acordo com o tipo de material (natural ou sintético), com relação a degradabilidade (absorvíveis e não absorvíveis) e de acordo com o número de filamentos (monofilamentar ou multifilamentar). Podendo ainda ser impregnados ou revestidos com fármacos (Kim *et al.*, 2007; Pillai e Sharma, 2010; Viju e Thilagavathi, 2012; Gogoi *et al.*, 2014).

Nesta perspectiva, a escolha do material utilizado, no que se refere as suas propriedades, é um fator primordial, seja pelo material ou por sua apresentação, pois deve-se buscar potencializar os dois efeitos de forma sinérgica, o efeito clínico e o efeito estético (Kandimalla *et al.*, 2016).

Dessa forma, a quitosana tem sido bastante utilizada para aplicações médicas por apresentar características atrativas para ser utilizada como biomaterial, tais como: biodegradabilidade, biocompatibilidade, não apresentar toxicidade, capacidade hemostática, como também a sua capacidade de poder inibir o crescimento de microrganismos (Vert *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2013b; Shen & Kamdem, 2015; Wang *et al.*, 2016; Gu *et al.*, 2016; Mohammadi *et al.*, 2016).

Fios de quitosana obtidos a partir da técnica de fiação úmida têm sido reportados, e pesquisas nesta área foram e estão sendo realizadas, por ser uma técnica simples e de custo competitivo, quando comparada com outras técnicas de fiação, como; fusão (Yang *et al.*, 2015), sopro (Ju *et al.*, 2016) entre outras.

O método baseia-se inicialmente na dissolução da quitosana em solução ácida, em seguida esta é fiada em um banho básico (Desorme *et al.*, 2013).

Ma *et al.* (2015), desenvolveram fios de quitosana pelo método de fiação úmida, onde a quitosana utilizada foi dissolvida em cloridrato de glicina (Gly-HCl), onde verificam que os fios têm enorme potencial de aplicação em curativo.

Li *et al.* (2016), obtiveram fios flexíveis de quitosana, modificadas com o ácido fórmico pela técnica de fiação úmida, podendo estas serem amplamente utilizadas na área biomédica.

Wang *et al.* (2005), obtiveram fibras ocas de quitosana pela técnica de separação de fase, com uma estrutura de parede bifásica, e verificaram a partir da análise *in vitro*, que essas fibras ocas são promissoras para a regeneração dos nervos periféricos e dos vasos sanguíneos.

Estudos também já foram realizados com fibras ocas de quitosana/polisulfona para serem utilizadas como dispositivos de assistência para aplicação no fígado bioartificial, onde foi verificado que a superfície da fibra com quitosana permite o crescimento e a proliferação celular de células específicas do fígado (Teotia *et al.*, 2015).

Apesar de apresentarem vantagens com relação às características biológicas, quando comparadas com os fios de origem sintética, os fios de quitosana de modo geral apresentam menor resistência mecânica (Li *et al.*, 2016), sendo a melhoria dessa uma das metas do trabalho proposto.

Por conseguinte, neste estudo objetiva-se obter fios de quitosana na perspectiva de otimizar propriedades mecânicas/biológicas, e associá-los com o N-Acetil-D-glucosamina (GlcNAc), obtendo controle sobre a cinética de liberação, melhorando a eficiência de direcionamento da liberação do fármaco, potencializando e acelerando o processo de cicatrização, para aplicação como fios de sutura biodegradável.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cicatrização

A cicatrização de feridas é um processo complexo e dinâmico de substituir estruturas celulares e camadas teciduais desvitalizadas e ausentes. A pele é um órgão protetor e fornece funções vitais como modulação da temperatura e regulação da umidade, bem como sensação, percepção e transmissão de estímulos. A capacidade de reparar e regenerar é fundamental para essas funções (Childs e Murthy, 2017; Singh *et al.*, 2017).

O reparo tecidual consiste em uma sequência de eventos moleculares e celulares para restaurar o tecido danificado, que ocorrem logo após o início de uma lesão tecidual. São portanto, divididas nas seguintes fases; hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (Gonzalez *et al.*, 2016).

No primeiro estágio, tem-se a hemostasia que ocorre no momento da incisão tecidual, esta refere-se ao processo fisiológico estimulado pelo fator tecidual com objetivo de interromper o sangramento no local da lesão. A perda de sangue é diminuída pela formação de um tampão plaquetário (Gale, 2011).

Em seguida tem-se a fase inflamatória, onde o organismo reúne rapidamente as ferramentas fisiológicas necessárias para iniciar o reparo do tecido danificado. A fase inflamatória persistirá até que todas as bactérias e detritos excessivos da ferida sejam removidos (Spotnitz *et al.*, 1997; Singh *et al.*, 2017).

Na fase proliferativa ocorre a formação da matriz celular e da reepitalização. As células proliferam e os fibroblastos começam a aparecer ao longo das bordas da ferida. O colágeno presente é relativamente desorganizado, no entanto, é durante a terceira fase, na fase de remodelação que o colágeno é modelado e unido para produzir uma cicatriz para fechar a ferida (Childs e Murthy, 2017; Singh *et al.*, 2017).

Após o processo de cicatrização, tem-se que a aparência do tecido cicatrizado é importante, e este fator estar diretamente relacionado a escolha dos materiais de sutura selecionados.

2.2 Fios de Sutura Cirúrgicas

Os fios de sutura cirúrgicas são os materiais mais antigos e mais utilizados para o fechamento de feridas. Este tem um papel proeminente entre todos os outros dispositivos de fechamento de ferida, devido também à sua capacidade de imobilizar próteses. O objetivo de uma sutura é estabilizar a ferida e promover a cura natural (Champeau *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019).

Desde então, vários materiais têm sido usados como suturas, como exemplo temos o fio de ferro, ouro, prata, *catgut*, tiras de couro, seda e linho (Chu, 2013). As suturas são utilizadas para o fechamento da fáscia, hemostasia, anastomose intestinal, cirurgia do trato urogenital, cirurgia do sistema músculo-esquelético, cirurgia cardiovascular, cirurgia ocular, cirurgia plástica, neurocirurgia entre outras aplicações (Dart e Dart, 2011).

De acordo com Chu (2013) e Lapointe *et al.* (2016), o fio de sutura perfeito deve apresentar alta resistência à tração e ao nó, ser fácil de manusear, deve ser biocompatível, não carcinogênico, ser resistente à infecção e a inflamação, não ser tóxico, ainda devem ser considerados o diâmetro do fio, o coeficiente de atrito, a absorção dos fluidos e a facilidade de remoção. Porém, embora tenha ocorrido grandes avanços nos materiais utilizados como fios de sutura cirúrgicos, deixando-os próximos das características acima citadas, nenhum fio de sutura é ideal para todas as situações. Tecidos diferentes têm diferentes requisitos para suporte, alguns precisam de poucos dias de implantes dos fios, como músculo, tecido subcutâneo e pele, enquanto outros necessitam de semanas ou até meses, como fáscia e tendão (Dart e Dart, 2011; Islam e Ehsan, 2011).

2.2.1 Classificação dos Fios de Sutura

Os fios de sutura são classificados de acordo com a Norma Brasileira de Fios para sutura cirúrgica - NBR 13904:2003, onde verifica-se que esses fios devem apresentar características relacionadas ao seu diâmetro, tipo, origem e ainda pode ser classificado segundo a configuração física.

2.2.1.1 Quanto ao Diâmetro

De acordo com a NBR 13904:2003, o diâmetro dos fios é apresentado pelo número cirúrgico sendo uma combinação de dois números, onde o primeiro é qualquer número diferente de zero, seguido de um zero, por exemplo (3-0). Ainda de acordo com a norma brasileira, o maior número cirúrgico é representado por 12-0, neste caso quanto maior o primeiro número (no caso 12), menor é o diâmetro desse fio. Já os fios com diâmetro maiores são apresentados apenas por 1 algarismo, iniciando em 0 e indo até 10. Os diâmetros dos fios podem ainda ser apresentado segundo o número métrico, que inicia em 0,01 até 12, onde a partir da divisão desse número por 10, tem-se o diâmetro mínimo do fio em (mm).

2.2.1.2 Quanto ao Tipo

Com relação a sua capacidade de reabsorção no interior do tecido as suturas cirúrgicas podem ser divididas em absorvíveis e não absorvíveis. Os materiais de sutura absorvíveis degradam-se e são absorvidos *in vivo* (Lapointe *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019). De forma mais abrangente os fios absorvíveis são aqueles que não precisam ser removidos após a cicatrização da ferida. Os fios *catgut* são do tipo absorvíveis de origem natural, tipicamente esse tipo de sutura é facilmente absorvido pelo corpo humano, principalmente devido às ações das enzimas e de outras células. No que se refere a fios absorvíveis sintéticos, estes apresentam uma maior padronização da degradação, da força de tensão, menor velocidade de absorção e menor indução de reação tecidual quando comparados aos de origem natural (Pillai e Sharma, 2010; Viju e Thilagavathi, 2012). Os fios não absorvíveis possuem uma elevada força de tensão durante longos períodos. Por outro lado, podem causar dores crônicas, possuindo também maior chance de formar erosões durante o período pós-operatório (Gogoi *et al.*, 2014; Lapointe *et al.*, 2016).

2.2.1.3 Quanto a Origem

Segundo a origem, os fios podem ainda ser divididos em animal, vegetal, sintético e mineral. De origem animal tem-se os fios *catgut* (colágeno derivados de submucosa intestinal de ovinos) e de seda (oriunda do bicho da seda *Bombyx mori* L).

Os fios de origem vegetais, são compostos pelos fios de algodão e linho. E os sintéticos, que podem ser classificados como, absorvíveis (ácido poliglicólico (Dexon), poliglactina 910 (Vycril)) ou não absorvíveis (poliamida (Nylon), polipropileno (Prolene)) e os de origem mineral que são os fios aço (Lapointe *et al.*, 2016).

2.2.1.4 Quanto a Configuração Física

Referente a classificação de acordo com a configuração física, os fios podem ser monofilamentados ou multifilamentados. O fio monofilamentado é estruturado com um único filamento, apresenta coeficiente de atrito mais baixo e como consequência, atravessa com mais facilidade os tecidos resistentes. Portanto, produzem menor lesão tecidual e tendem a provocar menor traumatismo do tecido e são particularmente importantes em tecidos delicados como o olho (Lapointe *et al.*, 2016). Estes tipos de fios apresentam um elevado coeficiente de rigidez, porém possuem menor resistência, uma vez que têm superfícies mais lisas do que os fios multifilamentares. Eles apresentam um perfil de manipulação menos favorável com tendência para desatar. Este tipo de fio é associado a um menor risco de infecção (Barros *et al.*, 2011; Lapointe *et al.*, 2016).

O fio monofilamentar apresenta-se contínuo tendo assim a vantagem de uma distribuição uniforme das tensões ao longo do fio. Porém, alguma desvantagem no uso desse tipo de fio está relacionada ao fechamento da ferida que se baseia em uma única linha de sutura, o que poderá acarretar em uma menor força de tração (Sahlin *et al.*, 1993).

As suturas multifilamentares são constituídas por vários filamentos torcidos ou a partir do entrançamento de múltiplos filamentos juntos. Isto oferece melhores propriedades de manuseio e flexibilidade, comparativamente com os materiais de monofilamento (Greenberg e Clark, 2009; Lapointe *et al.*, 2016).

Os fios trançados são formados a partir de estruturas densas estreitas que consistem em fios de filamentos que se deslocam em um caminho ondulado. Esse tipo de fio geralmente é formado por três ou mais fios entrelaçados (Rawal *et al.*, 2015). Pelo exposto é mais provável a disseminação de bactérias em fios multifilamentares do que em fios monofilamentares (Im *et al.*, 2007).

Recentemente desenvolveu-se comercialmente os fios farpados, circunstância que permite incluir uma nova classificação, quanto a aparência do fio (farpado e não farpado) (Filho *et al.*, 2015).

Para superar algumas das armadilhas e limitações impostas às suturas lisas, as suturas farpadas foram desenvolvidas com o objetivo de ancoragem. Esse tipo de fio está disponível em materiais absorvíveis e não absorvíveis, oferecendo várias vantagens como por exemplo, a eliminação da necessidade do nó (Greenberge e Clark, 2009; Ingle *et al.*, 2013).

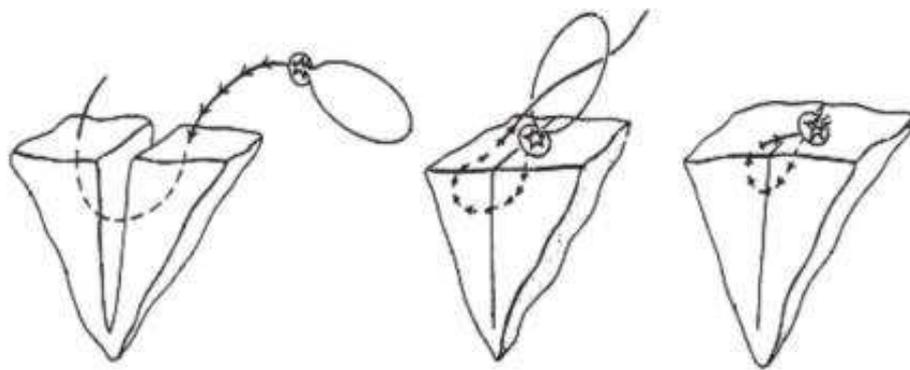


Figura 1 - Representação do processo de sutura com o fio farpado, sem a necessidade do nó. (Ingle *et al.*, 2013).

A complexidade envolvida na cicatrização de feridas, incluindo os diferentes tipos de tecidos presentes ou a variedade de feridas cirúrgicas, exige diferentes tipos de fios de sutura. A escolha dos materiais e o processo utilizado para sua obtenção é baseado em grande parte no tipo de ferida e nas preferências dos cirurgiões. Hoje, os cirurgiões podem escolher entre vários materiais de sutura com propriedades química, física, mecânica e biológica diferentes e desejáveis (Chu, 2013).

Grande interesse tem emergido com relação a novos tipos de suturas cirúrgicas associada à fármacos, para melhorar seu desempenho em tecidos. As suturas de liberação de fármacos podem reduzir as complicações pós-operatórias e acelerar a cicatrização de feridas, facilitando a liberação prolongada do fármaco. Isso reduz a necessidade de medicamentos sistêmicos e o potencial de efeitos colaterais associados (Dart e Dart, 2011).

2.2.2 Fios de Sutura com Fármacos

As suturas cirúrgicas são utilizadas para o fechamento da ferida e, portanto, pode ser um dispositivo médico potencialmente adequado para a entrega local de medicamentos para tratar a dor no local da cirurgia. Entre as suturas, tem recebido considerável atenção as suturas biodegradáveis, pois oferecem grandes promessas no campo do fornecimento de medicamentos. As suturas são uma estratégia eficaz para o fornecimento de agentes antibacterianos ou anti-inflamatórios ao local da cirurgia (Lee *et al.*, 2013a; Joseph *et al.*, 2017).

Após o implante da sutura no corpo, o paciente geralmente se submete a um tratamento farmacológico para reduzir a resposta inflamatória, a dor, e para prevenir a infecção. O medicamento é geralmente administrado por via oral ou injetável. Contudo, o modo de administração oral sofre de baixa biodisponibilidade do fármaco e é geralmente necessária uma quantidade elevada de fármaco em tratamentos orais ou por injeção para alcançar o efeito terapêutico, o que pode acarretar efeitos secundários em tecidos e órgãos não direcionados. Uma entrega local de medicamentos pode limitar esses efeitos colaterais e aumentar a adesão do paciente (Champeau *et al.*, 2017).

Segundo Mehetre *et al.* (2015), tem-se dois tipos de fios com fármaco, os fios monolíticos onde o fármaco está dissolvido ou disperso ao longo do fio de polímero, e os fios ocos, que são do tipo reservatório onde o fármaco é adicionado na secção interna da fibra.

É importante destacar que fatores como a localização, o tamanho, o grau da lesão, bem como a taxa de regeneração tecidual (dependendo da idade do paciente e outros parâmetros), afetam o processo de cicatrização da ferida (Elsner e Zilberman, 2009).

As suturas com liberação de medicamento podem aliviar a dor no local da cirurgia durante o período de cicatrização da ferida, apresentando propriedades mecânicas comparáveis às da sutura cirúrgica sem o fármaco (Lee *et al.*, 2013a). A potencialidade das suturas também está relacionada com o processo de obtenção. Logo, diferentes técnicas para obtenção de fibras poliméricas tanto de origem sintética como natural, tem sido utilizada para obtenção de fios de suturas. Os fármacos podem ser incorporados nos fios durante ou após a sua fabricação e diferentes técnicas tem sido relatada.

2.3 Fibras

A fibra é uma das invenções mais importantes da história da humanidade. Antigamente as pessoas plantavam algodão para extrair as fibras para a confecção de vestuário para substituir o uso de couro. Os chineses extraíam a seda para melhorar a qualidade de suas roupas, porém, o material era muito caro. As fibras diferem umas das outras principalmente pela sua natureza química, sua forma, superfície, contorno, comprimento e diâmetro (Houck e Siegel, 2015; Kuo e Lan, 2014). As fibras podem ser classificadas em naturais ou sintéticas, podendo também ser designada de acordo com a sua natureza química, sendo originadas naturalmente de proteínas, celulose, minérios ou sintética. As fibras proteicas são compostas de polímeros de ácidos aminados, as fibras celulósicas são feitas de polímeros formados a partir de hidratos de carbono, as fibras minerais (inorgânicas) podem ser compostas por sílica obtida a partir de rochas ou areia e já as fibras sintéticas são feitas de polímeros que se originam a partir de moléculas orgânicas (Houck e Siegel, 2015). Em 1935, a primeira fibra sintética foi inventada e seus produtos foram comercializados em 1940, promovendo assim, o rápido desenvolvimento das fibras. Na década de 70, a DuPont americana, desenvolveu as fibras de aramida, com 17 cN/dtex, levando assim a alta resistência das fibras (Kuo e Lan, 2014).

2.3.1 Fibras Poliméricas

Grandes variedades de fibras poliméricas podem ser encontradas na literatura sendo obtidas por diferentes técnicas, com diversas formas, dimensões, podendo ter a função de carreadoras, sendo designadas como: fibras porosas, fibras tubulares, fibras ocas, fibras com fármacos, microfibras e nanofibras (Bell *et al.*, 2016).

As fibras são estruturas muito interessantes uma vez que são altamente anisotrópicas e apresentam uma área superficial elevada devido à sua alta relação de superfície/volume (Kinadjian *et al.*, 2016). A preparação das fibras poliméricas deve ser avaliada a partir de diferentes perspectivas, incluindo o peso molecular do polímero, grau de orientação, cristalinidade, densidade, secagem e o método de processamento (Kuo e Lan, 2014; Ozipek, 2014).

Diferentes tipos de materiais poliméricos têm sido utilizados em suturas cirúrgicas, alguns destes polímeros são: polipropileno, poliimida, poliamida (nylon 6 e nylon 66) e poliéster policarbonato, que compreendem as suturas não reabsorvíveis. E polímeros bioabsorvíveis tais como: ácido poliláctico, ácido poliglicólico, poliglactina, poli-caprolactona, polidioxanona, os seus copolímeros que também são utilizados (Ingle *et al.*, 2013).

As fibras poliméricas obtidas a partir de polissacarídeos, associados a outros materiais ou processos que permitem a flexibilidade, são materiais desejáveis para o tratamento de feridas por estes serem na sua maioria, biocompatíveis, não-tóxicos e com a capacidade de potencializar a cicatrização de feridas, reduzindo assim o tempo para a cura (Sweeney *et al.*, 2014).

Dependendo do tipo de processo de fabricação é possível obter fibras com diferentes formas incluindo, circular, oca e outras formas não definidas, de modo a variar o seu manuseio, propriedades físicas e mecânicas. Essas alterações morfológicas, não afetam apenas as propriedades relacionadas a rigidez, mas também outras propriedades como a capilaridade, área superficial, tamanho dos poros e degradabilidade (Ingle *et al.*, 2013). Segundo Zhu e Yu (2013), existem seis características principais que são consideradas essenciais para uma fibra ser selecionada como um produto específico. Essas características são: tamanho e forma da fibra, propriedades de tração e flexão, transições térmicas, propriedades de superfície e absorção de umidade das fibras.

2.3.2 Método de Obtenção das Fibras

Alguns métodos foram desenvolvidos para obtenção de fibras poliméricas, como: fiação por fusão (Yang *et al.*, 2015), fiação por sopro (Zhao *et al.*, 2016), eletrofiação (Fuh *et al.*, 2016) e fiação por via úmido (Ozipek, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Arafat *et al.*, 2015).

2.3.2.1 Fiação por Fusão

A técnica de fiação por fusão (Figura 2), pode ser utilizada por polímeros como por exemplo: poli (tereftalato de etileno), poliolefinas, poliuretanos e poliamidas.

Na fiação por fusão, o polímero na forma de pó ou grão é alimentado em uma extrusora, onde a massa fundida do polímero é bombeada através de uma fiação sob pressão (Rawal e Mukhopadhyay, 2014).

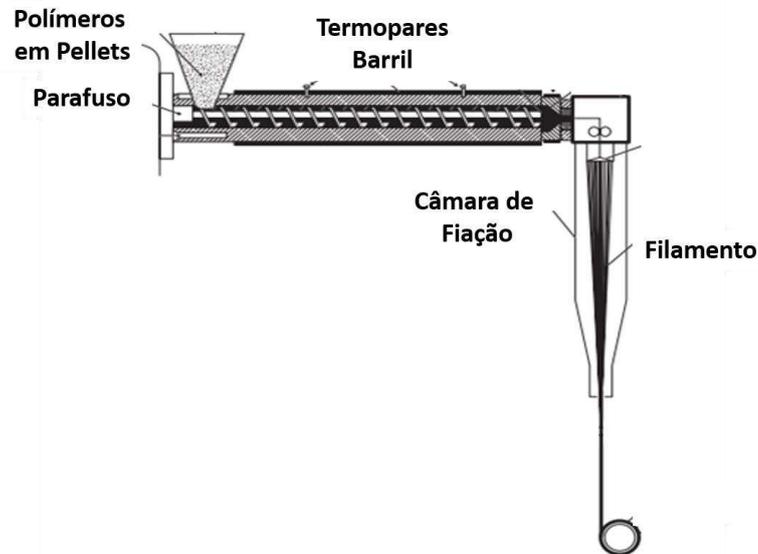


Figura 2 - Representação esquemática da técnica de fiação por fusão (Rawal e Mukhopadhyay, 2014).

Bautista-Quijano *et al.* (2016), desenvolveram também pela técnica de fiação por fusão, fibras de nanotubos de carbono com policarbonato, onde foram avaliadas as propriedades elétricas e mecânicas das fibras, visando a aplicação em sensores a base de polímeros, onde suas aplicações podem ser utilizadas desde o monitoramento de saúde até a robótica.

2.3.2.2 Fiação por Sopros

O método de fiação por sopros (Figura 3), é a técnica mais utilizada para produção de nanofibras, onde tem-se uma bomba e uma seringa com uma solução polimérica e um fluxo de gás constante como força motriz para a formação de fibras (Medeiros *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2016).

Este método permite a produção de fibras na mesma faixa de tamanho das obtidas por eletrofiação, com maior potencial para aumento de produção em escala comercial (Medeiros *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2016).

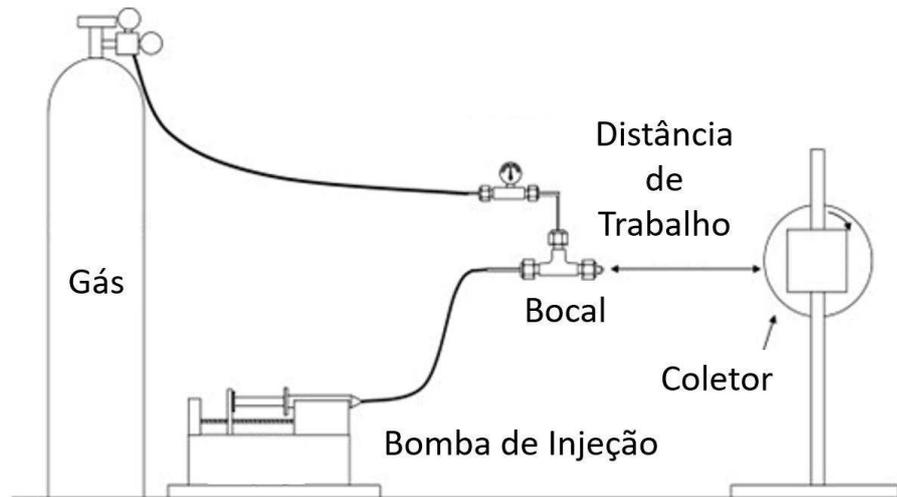


Figura 3 - Representação esquemática da técnica de fiação por sopro (Medeiros *et al.*, 2009).

2.3.2.3 Eletrofiação

Em um sistema de eletrofiação, uma alta tensão eletrostática passa através de uma gota da solução do polímero. Ainda é importante destacar que os polímeros utilizados neste processo devem possuir na sua estrutura química grupos funcionais do tipo dipolo (ou seja, que sejam polares ou que apresentem alguma polaridade), o que permitirá que a tensão eletrostática passe pela solução polimérica e forme o fio (Sarbatly *et al.* 2016). Conforme apresentado na Figura 4.

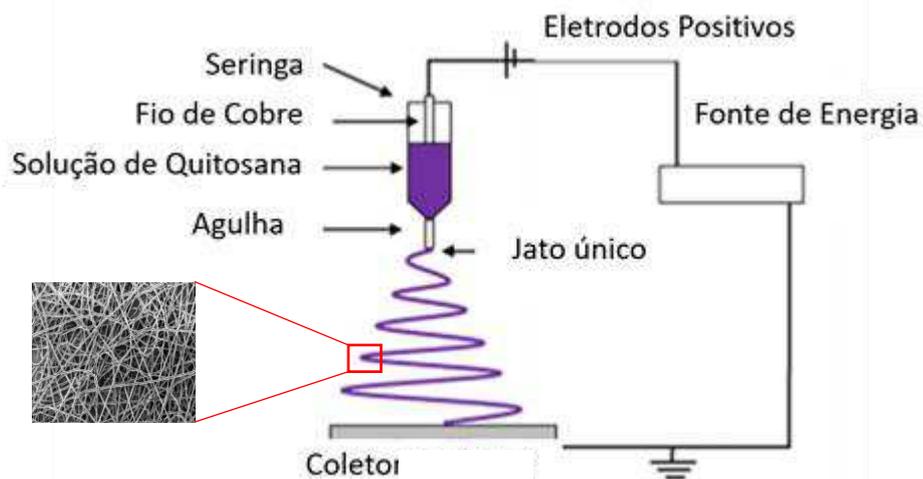


Figura 4 - Representação esquemática da técnica de eletrofiação (Adaptado. Sarbatly *et al.*, 2016).

Na superfície da seringa, forma-se uma gota que é distorcida em forma cônica, o qual depende da viscosidade da solução e portanto, do peso molecular do polímero utilizado. Nesta técnica as fibras são formadas de forma aleatória, formando uma estrutura do tipo membrana, além disso, pode-se ainda obter estruturas tridimensionais para a restauração tecidual (Ni *et al.*, 2014; Alnaqbi *et al.* 2016).

2.3.2.4 Fiação Úmida

A técnica de fiação úmida (Figura 5), é um dos métodos mais antigos utilizados para a preparação de fibras e foi desenvolvido pela indústria têxtil no início de 1900, com a finalidade de produzir fibras sintéticas ou artificiais, como rayon e viscose. Esta tecnologia de fiação baseia-se na solução do polímero previamente dissolvido (onde a concentração polimérica depende principalmente da solubilidade do mesmo e da pressão de fiação), que é fiado através de finos orifícios, onde uma fieira do polímero no estado líquido se transforma em filamentos sólidos em um banho de coagulação. Geralmente são utilizadas bombas infusoras para a fiação da solução polimérica no banho coagulante. Durante esta fase as fibras recém-formadas podem ser esticadas. Por conseguinte banho de lavagens geralmente feitos com água destilada, são empregados nas fibras com a finalidade de remover o solvente. Banhos de metanol ou etanol, são muitas vezes utilizados com a função de pré-secagem (Notin *et al.*, 2006a; Ozipek, 2014; Arafat *et al.*, 2015).

As composições químicas, as concentrações, a temperatura utilizada no banho coagulante e o estiramento das fibras, podem proporcionar diferentes propriedades mecânicas e físicas as fibras obtidas (Zhu e Yu, 2013).

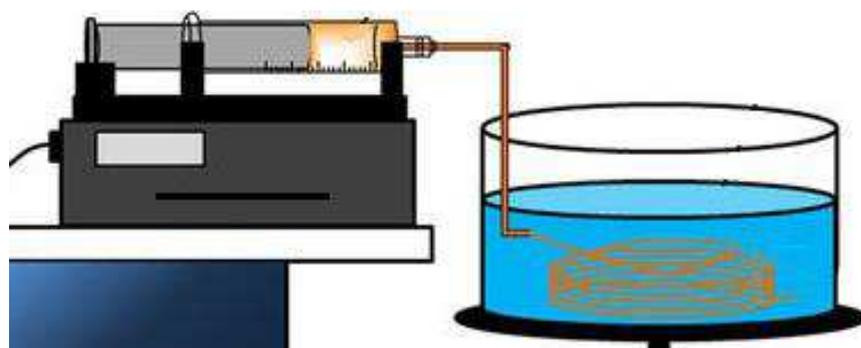


Figura 5 - Representação esquemática do processo de fiação úmida (Yoon *et al.*, 2015).

Segundo Huang *et al.* (2013), após o polímero líquido ter sido fiado, as fibras resultantes quando orientadas por estiramento ou alongamento, possuem um aumento na orientação da cadeia polimérica e no grau de cristalinidade, aumentando conseqüentemente a resistência à ruptura das fibras.

A vantagem da técnica de fiação úmida, é que poucos passos são necessários para preparar as fibras, quando comparadas com outras técnicas de produção. A técnica de fiação úmida é simples e rápida, sendo aplicável para a produção de fibras em larga escala (Kagaya *et al.*, 2012).

As propriedades das fibras como: diâmetro, densidade e propriedades mecânicas são afetadas pelos parâmetros utilizados no processo de fiação. As velocidades de fiação por via úmida, geralmente são mais baixas em comparação com a fiação seca, sendo esta variável diretamente influenciável nas propriedades das fibras obtidas. Outros fatores como: diâmetro da agulha, tempo de lavagem, velocidade de enrolamento e secagem também são responsáveis pelas propriedades obtidas nas fibras (Ozipek, 2014; Wang *et al.*, 2015).

Nie *et al.* (2009) produziram fibras de poliácrlonitrila pela técnica de fiação úmida e avaliaram estas fibras como carreador de fármaco (tamoxifeno), obtendo uma encapsulação bem-sucedida com alta capacidade de carga e boa eficiência de encapsulação. Quase todas as tecnologias de fiação, tais como: fiação por fusão, fiação por sopro, eletrofiação e fiação por via úmida, podem ser obtidas com a finalidade de ser empregada como sistema de liberação controlada de fármaco (Zhu e Yu, 2013).

2.3.3 Fibras de Quitosana

As fibras de quitosana são geralmente fiadas a partir de soluções viscosas. A fiação por fusão torna-se inviável para a quitosana porque nesta técnica este tipo de polímero degrada-se por aquecimento (Lee *et al.*, 2007). Esse tipo de fibra vem sendo utilizada em diversos segmentos como em curativos (Jayakumar *et al.*, 2011), com a função de promover a regeneração de um determinado tipo de tecido, como também, de limitar a ação fúngica e a proliferação de bactérias em fios para suturas cirúrgicas bioabsorvíveis e scaffolds (Li *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2016b).

2.3.3.1 Fibras de Quitosana por Fiação Úmida

As fibras de quitosana podem ser obtidas pelo processo de fiação úmida. A quitosana é dissolvida em uma solução aquosa ácida com $\text{pH} \leq 6$, protonando os grupos amina. A solução polieletrólítica resultante é utilizada como um lubrificante de fiação e é convertida em fibras de quitosana por coagulação da solução (Notin *et al.*, 2006a; Desorme *et al.*, 2013).

Cruz *et al.* (2016), obteve fios de quitosana pela técnica de fiação úmida com diferentes solventes, avaliando a influência da utilização dos solventes na resistência mecânica e no diâmetro. Onde verificou-se que as fibras apresentaram boas propriedades para aplicação como suturas. Li *et al.* (2014), desenvolveram fibras de quitosana/óxido de grafeno, que foram preparadas pelo método de fiação por via úmida e usadas como adsorventes para a remoção de ácido fucsina. A partir de alguns ensaios verificou-se que óxido de grafeno melhorou a resistência à tração das fibras de quitosana e estudos termodinâmicos indicaram que a adsorção do ácido nas fibras foi um processo espontâneo e exotérmico.

Li *et al.* (2012), conseguiram obter a partir da técnica de fiação úmida, uma nova abordagem para obtenção de fibras de quitosana a partir da utilização de óxido de lítio e úreia, com banho coagulante de sulfato de sódio e etanol, aumentando suas propriedades de tração em mais de 21%, quando comparadas com as fibras obtidas pelo método convencional. Araiza *et al.* (2008) obtiveram fibras ocas de quitosana pelo método de fiação úmida o qual envolve a lavagem sucessiva com água para parar o processo de coagulação, onde a quitosana é dissolvida com ácido acético, e o banho de coagulação é uma solução de hidróxido de sódio. Com a reação sendo interrompida no banho de coagulação e após vários banhos de lavagem em água. Desta forma é possível por este método obter fibras ocas de quitosana com diferentes diâmetros interno.

A capacidade filmogênica e de formação de fibra de quitosana se dá pela presença das ligações glicosídicas ao longo da cadeia da quitosana, sendo útil para aplicações de fiação de fibras (Desorme *et al.*, 2013).

2.4 Quitosana

Em 1859, Rouget obteve uma porção de quitina solúvel em ácido, depois de ferver com uma solução de hidróxido de potássio concentrada. Este foi considerado o primeiro relatório científico sobre a quitosana. Após isto, a síntese e a ocorrência da quitosana em diversos organismos, principalmente nos fungos foi testado (Lizardi-Mendoza *et al.*, 2016).

A quitosana caracteriza-se por ser uma produção polimérica natural, uma vez que pode ser obtida a partir de insetos, esqueleto de crustáceos como: caranguejo, camarão e lagosta (Usman *et al.*, 2016), fungos, leveduras e também no exoesqueleto de espécies marinhos, incluindo tartarugas, corais e medusas (Rafique *et al.*, 2016). Apresentando, conseqüentemente, grande importância econômica e ambiental, pois as carapaças de alguns desses animais onde se encontra a quitina, principalmente nos crustáceos, são resíduos abundantes rejeitados pela indústria pesqueira, onde em alguns casos as consideram poluentes (Dash *et al.*, 2011).

Após os tratamentos desses resíduos como a desmineralização e desproteíntização, é possível obter os derivados solúveis em ácidos sendo a quitosana o mais importante deles. No entanto, uma das limitações na utilização destes produtos, é a sua obtenção em larga escala e a sua insolubilidade em água (Hamed *et al.*, 2016).

2.4.1 Estrutura da Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo linear de origem natural do tipo copolímero, composto de N-acetil-2-desoxi-D-glucosamina e 2-amino-2-desoxi-D-glucosamina (Figura 6), ligadas por unidades (1 → 4) β - glicosídicas, que são distribuídas em diferentes porcentagens, dependendo das porções acetiladas, que são definidas no processo de desacetilação da quitina (Shukla *et al.*, 2013).

Assim como a maioria dos polissacarídeos e proteínas, a quitosana é constituída de cadeias poliméricas individuais que são mantidas juntas por ligações intra e intermoleculares, como ligações dipolo-dipolo e forças de Van der Waals (Dash *et al.*, 2011).

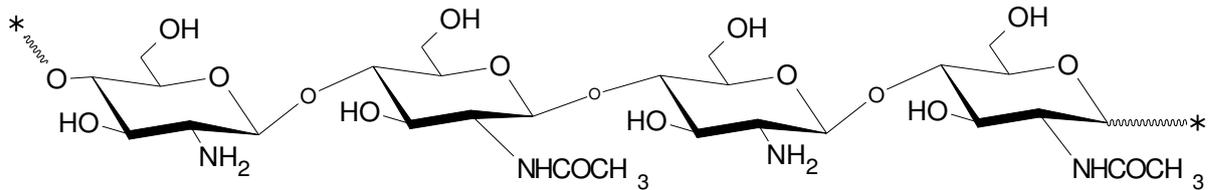


Figura 6 - Representação esquemática da estrutura química da quitosana.

O grau de desacetilação da quitosana é geralmente definido pelo teor de glucosamina, podendo o grau de desacetilação da quitosana variar de 70 a 95%. E considera-se que quando o grau de desacetilação da quitina é maior do que cerca de 70% (dependendo da origem do polímero e da distribuição de grupos acetamidas, ao longo das cadeias), o biopolímero tornar-se solúvel em uma solução aquosa ácida e nestas condições é nomeada quitosana (Alves e Mano, 2008; Shukla *et al.*, 2013; Hamed *et al.*, 2016).

Na Figura 6, tem-se a demonstração da reação de produção da quitosana através da reação da molécula de quitina com hidróxido de sódio (NaOH). Trata-se de uma reação onde a hidroxila (OH) do NaOH ataca o carbono da amida (a). O nitrogênio captura o íon H⁺ do meio (H₂O), quebrando a ligação entre carbono e nitrogênio (b), formando a estrutura da quitosana, hidróxido de sódio e ácido acético (c) (Henning, 2009).

Os grupos laterais anexados a quitosana fornecem uma determinada versatilidade e uma funcionalidade específica, altera as propriedades biológicas e/ou modifica as propriedades físicas (Dash *et al.*, 2011).

A quitosana pode ser classificada de acordo com seu peso molecular, sendo de baixo, médio e alto peso molecular. A quitosana é insolúvel em pH neutro e alcalino em solução aquosa, mas é solúvel em ácidos diluídos, tais como ácido acético, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido láctico e ácido málico juntamente com ácido clorídrico (HCl) diluído (Rassu *et al.*, 2015; Hamed *et al.*, 2016).

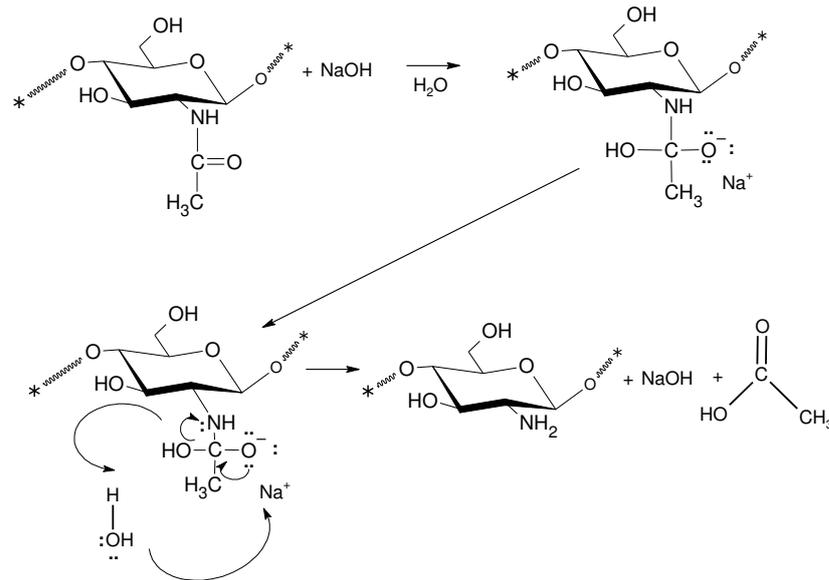


Figura 7 - Representação esquemática da reação da produção da quitosana. (Fonte Própria).

Ainda segundo Endres e Weichold (2019), a solubilização da quitosana ocorre em soluções ácidas, onde os ácidos utilizados devem apresentar força suficiente para protonar os grupos amino livres, ou seja com $pK_a < 5$. Ácidos com $pK_a < 3$ devem ser evitados pois podem causar significativa despolimerização da cadeia principal da quitosana. Destacando que isso pode ocorrer mesmo utilizando soluções ácidas em quantidades estequiométricas com relação aos grupos amina.

Os grupos amino protonados da quitosana se tornam um polycátion que pode subsequentemente formar complexos iônicos com uma ampla variedade de espécies aniônicas naturais ou sintéticas (Croisier e Jérôme, 2013).

2.4.2 Propriedades e Aplicações da Quitosana

Materiais a base de quitosana vem sendo muito utilizado como biomaterial, pois apresentam propriedades como biodegradabilidade (Shen e Kamdem, 2015), biocompatibilidade (Lee *et al.*, 2013b), não toxicidade (Wang *et al.*, 2016), hemostática (Gu *et al.*, 2016), antimicrobiana (Goy *et al.*, 2009), antifúngica, mucoadesividade (Needleman *et al.*, 1997), imunomoduladoras (Moran *et al.*, 2018), e analgésica, que possivelmente ocorre pela capacidade dos grupos amino protonarem na presença de íons de prótons que são liberados na região inflamatória, o que resulta em um efeito analgésico (Okamoto *et al.*, 2002).

Com relação a biodegradação tem-se que a degradabilidade da quitosana está relacionada principalmente ao grau de desacetilação, mas, também a sua massa molecular. No entanto, a cinética de biodegradação é inversamente proporcional ao grau de cristalinidade. Ou seja, quando o grau de desacetilação da quitosana diminui, a sua cristalinidade também diminui, o que resulta no aumento da taxa de biodegradação. E com relação a massa molecular temos que cadeias de quitosana menores serão mais rapidamente degradadas em oligossacarídeos do que a quitosana com maior massa molecular (Dash *et al.*, 2011; Kurita *et al.* 2000; Croisier e Jérôme, 2013).

Produtos à base de quitosana como: filmes (Endres e Weichold, 2019; Hafsa *et al.* 2016; Praxedes *et al.* 2016; Puga *et al.* 2016), hidrogéis (Kozicki *et al.*, 2016), nanofibras (Song *et al.*, 2016), nanoparticulas (Chanphai e Tajmir-Riahi, 2016), esferas (Braga *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2015; Das e Pal, 2016), micropartículas (Kang *et al.* (2017); Cerchiara *et al.* (2016); Ma *et al.* (2016); Mantripragada e Jayasuriya (2016), scaffolds (Kanimozhi *et al.* (2016); Tylingo *et al.* (2016)) e fios (Xia *et al.* (2015); Lee *et al.*, (2016); (Silva *et al.*, 2019a); (Silva *et al.*, 2019b), podem ser obtidos a partir da diferentes tipos de processamentos.

Esse polímero também tem sido estudado para diversos fins, como na remoção de corante (Kyzas *et al.*, 2013), adsorção de íons metálicos (Fan *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2016), proteção contra corrosão de metais (Carneiro *et al.*, 2015), no tratamento de água (Yang *et al.*, 2016a) e no revestimento de frutas (Kerch, 2015; Vieira *et al.*, 2016).

Na área biomédica a quitosana também tem sido vastamente pesquisada na entrega de genes (Veilleux *et al.*, 2016), sistemas de liberação de fármacos (Elgadir *et al.*, 2014; Facchi *et al.*, 2016; Nayak *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2019b), biossensores (Susanto *et al.*, 2013), tratamento de câncer (Miwa *et al.*, 2012; Sujima Anbu *et al.*, 2016), curativos (Dragostin *et al.*, 2016), na engenharia de tecidos (Silva *et al.*, 2016), em implantes (Kim *et al.*, 2011), cicatrização de feridas (Ahmed e Ikram, 2016), lentes de contato (Khan *et al.*, 2017), uso clínico (Nawrotek *et al.*, 2016) e bioimagem (Agrawal *et al.*, 2010).

Trabalhos dedicados ao estudo de fios de quitosana para uso em sutura podem ser encontrados na literatura (Montenegro e Gordeiro (2012), realizaram um estudo em ratos com fios de quitosana e confirmaram a atividade bacteriostática dos fios.

Viju e Thilagavathi (2012), avaliaram a atividade antimicrobiana das suturas de seda trançada quitosana, onde a sutura que foi tratada com a maior concentração de quitosana apresentou excelente atividade antimicrobiana. Gokarneshan e Dhatchayani (2018) desenvolveram uma sutura de seda revestida com quitosana e incorporaram-na com um extrato de um fungo *Thermomyces* natural, que reduziu a porcentagem de crescimento bacteriano.

2.5 Glucosamina

A glucosamina (Figura 8(a)) é um amino-monossacárido gerado a partir de quitina ou quitosana por hidrólise, sendo uma substância solúvel em água. É um componente natural das glicoproteínas encontradas nos tecidos conjuntivos e nas membranas da mucosa gastrointestinal, e é o precursor bioquímico de todos os açúcares amino no corpo humano (Xing *et al.*, 2006; Dalirfardouei *et al.*, 2016). Esta é produzida no corpo pela adição de um grupo amino à glicose, essa molécula é depois acetilada em N-acetil-glucosamina (Figura 8(b)).

A glucosamina pode ser encontrada na forma de sulfato de glucosamina, cloridrato de glucosamina e N-acetil-glucosamina (Hungerford e Valaik, 2003).

Esta atua como substrato para a biossíntese de polímeros como glicosaminoglicanos, como por exemplo, o ácido hialurônico, que é formado pelas unidades de repetição do N-acetil-glucosamina (GlcNAc) e D-ácido glicurônico (Figura 8(c)).

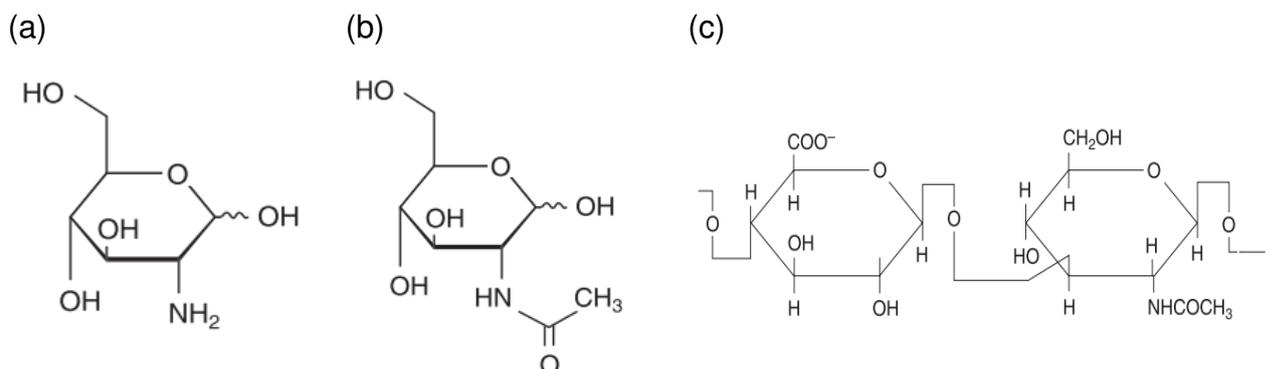


Figura 8 - Representação esquemática das cadeias de (a) glucosamina, e (b) N-acetilglucosamina (c) Unidades de repetição da cadeia de ácido hialurônico (ácido D-glicurônico e N-Acetilglucosamina) (Bissett, 2006).

A N-Acetil-D-glucosamina tem um excelente perfil de segurança. Uma grande dose de GlcNAc foi administrado na via intravenosa de voluntários humanos e não ocasionou toxicidade, e nem alteração da concentração de glicose no sangue

De acordo com Chen *et al.* (2010), a N-Acetil-D-glucosamina apresenta segurança no uso oral como também tópico.

Além de ter mostrado benefícios em prevenir ou tratar uma grande variedade de doenças como: artrose em cães (Hubert *et al.*, 2010), ratos (Ibrahim *et al.*, 2012), e em humanos (Persian *et al.*, 2007). É também um agente terapêutico no tratamento de câncer (Jung *et al.*, 2012), em doenças inflamatórias como na mucosa intestinal e gástrica (Gindzienski *et al.*, 1971; Kanazawa e Fukudo, 2006), e também é considerada um suplemento dietético na Europa aprovada pela FDA - *Food and Drug Administration* (Mehta *et al.*, 2007).

Pesquisas ainda apontam que os compostos de glucosamina também apresentam benefícios sobre as células da pele, aumenta a produção de ácido hialurônico e promove a proliferação e síntese de colágeno pelos fibroblastos, acelerando o processo de cicatrização de feridas (Chen *et al.*, 2008; Kelechi *et al.*, 2012; Schoukens, 2019), melhorando também a hidratação e a qualidade da pele e atuando na diminuição de rugas (Bissett, 2006; Humpolíř *et al.*, 2016; Prudden *et al.*, 1970).

A Figura 9 apresenta as diferentes doenças para as quais a glucosamina vem sendo pesquisada.

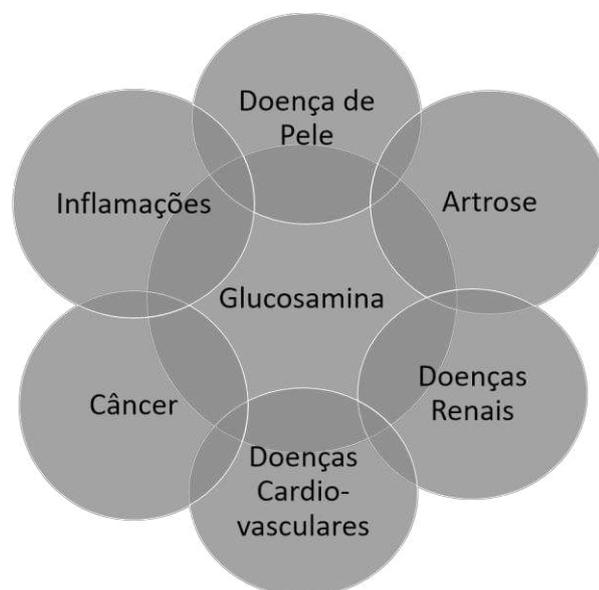


Figura 9 - Áreas de pesquisas com a glucosamina. Adaptado (Dalirfardouei *et al.*, 2016).

Qian *et al.* (2013), avaliaram uma melhor absorção intestinal e biodisponibilidade da glucosamina utilizando a quitosana e obtiveram resultados que sugerem que uma formulação de glucosamina com a quitosana pode proporcionar um melhor efeito terapêutico na dose convencional.

Existem numerosas evidências de estudos que indicam as propriedades anti-inflamatórias da glucosamina e seus derivados, sendo estes os suplementos mais usados no tratamento da osteoartrite. O mecanismo mais descrito para os efeitos anti-inflamatórios da glucosamina é a inibição da ativação da sinalização do NF- κ B (Meininger *et al.*, 2000).

Fox e Stephens (2007), estudaram a glucosamina com o objetivo de avaliar o alívio de sintomas em pacientes que sofrem de artrose, fornecendo os componentes para o reparo da cartilagem, aliviando a dor. E verificaram que a glucosamina oferece benefícios para aqueles que sofrem de artrose.

Chunjie *et al.* (2011), investigaram a eficácia e a segurança do tratamento combinado da glucosamina por via oral e hialuronato intra-articular em pacientes com artrose da articulação mandibular, e concluíram que a aplicação da glucosamina com o ácido hialurônico na cavidade articular é segura e pode reduzir as dores dos pacientes.

Segundo Towheed *et al.* (2005), a glucosamina atua reduzindo a dor, melhorando a sua função física nos pacientes sem apresentar efeitos secundários nos mesmos.

Ainda de acordo com Marto *et al.* (2017), o N-Acetil-D-glucosamina é um precursor do ácido hialurônico, aumentando sua quantidade na pele e consequentemente, preservando a hidratação e a elasticidade da pele.

Diante disto, tem-se que a glucosamina e a quitosana tem sido estudada e avaliada no processo de cicatrização de feridas, sendo este, um processo dinâmico que envolvem múltiplos componentes celulares que atuam em conjunto para restaurar a integridade do tecido lesado, esse fenômeno de cicatrização envolve diferentes estágios: hemostasia, inflamação, proliferação, maturação e/ou remodelação (Paul e Sharma, 2004; Günes e Tihminlioglu, 2017; Ouyang *et al.*, 2018).

Um dos principais objetivos que desejam ser alcançados no processo de cicatrização é o seu fechamento rápido, deixando uma cicatriz mínima ou esteticamente aceitável (Mahoney *et al.*, 2012; Thu *et al.*, 2012).

Para que isso ocorra o curativo utilizado no tratamento de feridas deve apresentar algumas características como; proporcionar umidade, permitir a troca gasosa vapor de água/oxigênio, proteção contra infecções e contaminação, remover o excesso do exsudado e componentes tóxicos da superfície da ferida, fácil aplicação, e ter propriedades mecânicas adequadas para uma fácil remoção evitando o traumatismo. Também deve ser não-tóxico e não-alérgico (Mahoney *et al.*, 2012; Thu *et al.*, 2012; Günes e Tihminlioglu, 2017).

Segundo Mccarty (1996), a administração de glucosamina nos primeiros dias após a cirurgia ou trauma pode aumentar a produção de ácido hialurônico na ferida, promovendo uma rápida cicatrização, além de diminuir possíveis complicações relacionadas ao processo de cicatrização.

Na literatura tem-se encontrado pesquisas referentes aos curativos a base de quitosana e glucosamina, isto ocorre devido este material apresentar propriedades biocompatíveis, biodegradáveis, efeito hidratante, propriedades anti-inflamatórias, hemostáticas e biológicas como, bactericidas e fungicidas que aceleram a cicatrização de feridas, sendo estas úteis para esse tipo de tratamento. A quitosana atua ainda como matriz e suporta o crescimento do tecido 3D estimulando a proliferação celular, podendo ainda bloquear terminações nervosas reduzindo a dor (Muzzarelli, 1997; Koide, 1998; Silva *et al.*, 2006; Sezer *et al.*, 2007; Jayakumar *et al.*, 2011; Pawar *et al.*, 2013; Ouyang *et al.*, 2018; Schoukens, 2019).

A Figura 10, apresenta a ação de curativos de quitosana no tratamento de feridas.

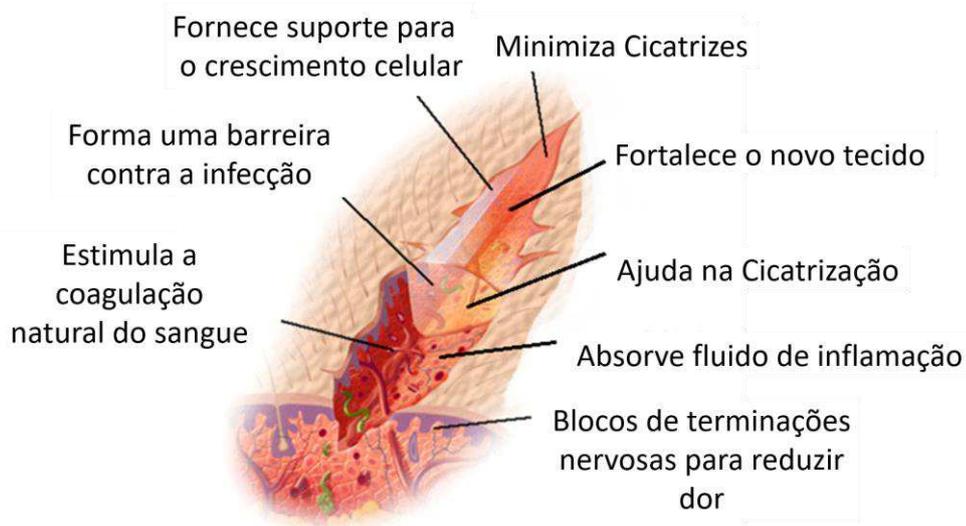


Figura 10 - Representação esquemática dos benefícios de curativo quitosana (Paul e Sharma, 2004).

A quitosana apresenta duas propriedades importantes que estão relacionadas com a sua capacidade de ativação dos macrófagos, são estas os processos de cicatrização e de biodegradação. No processo de biodegradação tem-se o processo de despolimerização da quitosana pela lisozima, que está presente no fluido da lesão. Esta por sua vez ativa os macrófagos e estimula os fibroblastos. Gerando assim dois açúcares o N-Acetil-D-Glucosamina e a glucosamina, iniciando a proliferação de fibroblastos e ajudando na deposição de colágeno, estimulando assim o aumento do nível de ácido hialurônico natural no local da ferida ambos estão envolvidos no processo de reepitalização, favorecendo a produção de tecidos com cicatrização lisa e vascularizadas. O N-acetil-glucosamina é o maior componente do epitélio e sua presença é essencial na reparação tecidual das feridas (Muzzarelli, 1997; Koide, 1998; Paul e Sharma, 2004; Silva *et al.*, 2006; Schoukens, 2019).

De acordo com Muzzarelli (1997), materiais a base de quitosana são despolimerizados por lisozima e N-acetil-D-glucosaminidase, que são enzimas encontradas no tecido do corpo, permitindo a reabsorção pelo curativo e a liberação de N-Acetil-D-Glucosamina e seus oligômeros, que exercem ações benéficas, como a ativação de macrófagos, vascularização dos tecidos formados, presença de elementos celulares normais e deposição ordenada de fios de colágeno que resultam no processo de aceleração da cicatrização (Figura 11).

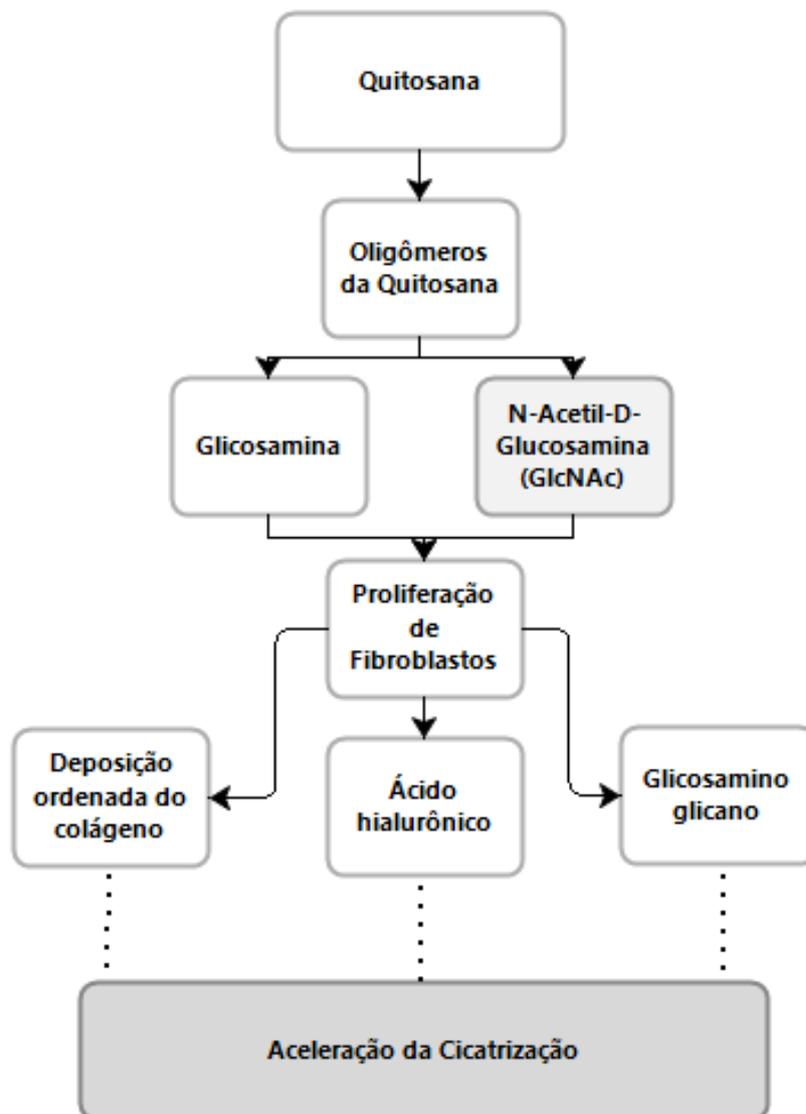


Figura 11 - Esquema representativo do processo de aceleração da cicatrização (Adaptado. Muzzarelli, 1997).

A quitosana é polímero biologicamente compatível e não tóxico, que foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), para uso em curativos no ano de 2003 com o produto HemCon™ Bandage (Chitosan) (Wedmore *et al.*, 2006).

Porém, algumas modificações realizadas na estrutura química da quitosana pode torná-lo mais ou menos tóxico. Logo, qualquer tipo de reagentes residuais devem ser removidos cuidadosamente (Dash *et al.*, 2011).

A glucosamina tem sido apontada como um candidato promissor para a prevenção e/ou tratamento de doenças relacionadas a pele, devido à sua atividade antioxidante e anti-inflamatória (Muzzarelli, 1997; Dalirfardouei *et al.*, 2016).

Há um certo número de estudos sobre a sua administração por via oral ou tópica para a hidratação, redução de rugas, antienvhecimento e no tratamento de hiperpigmentação. A produção de ácido hialurônico induzida por glucosamina melhora processo de cicatrização de feridas especialmente nos estágios iniciais, ele funciona como um promotor de inflamação precoce, o que é um passo necessário para todo o processo de cicatrização de feridas da pele. O ácido hialurônico não só melhora a cicatrização de feridas, mas também acelera o fechamento da ferida, bem como aumenta a proliferação de fibroblastos e a síntese de colágeno (Muzzarelli, 1997; Dalirfardouei *et al.*, 2016).

Tamai *et al.* (2002), avaliou a cicatrização de lesões de cartilagem criadas artificialmente nas articulações de coelhos, após a administração de 400mg/kg de glucosamina, e verificou que o mesmo acelera a cicatrização de lesões em coelhos, conclui-se ainda que a dose de glucosamina administrada nos animais não causou efeitos secundários, e com relação à parte lesada, ocorreu a proliferação das células de cartilagem de forma maciça.

Estudos foram realizados com a glucosamina em cicatrização de feridas e verificou-se que a administração em quantidades adequadas, nos primeiros dias após cirurgia ou trauma pode aumentar a produção de ácido hialurônico na ferida, promovendo uma cicatrização mais rápida e possivelmente diminuindo as complicações relacionadas com a cicatrização. Pois este material apresenta características farmacológicas que irá aumentar da síntese de ácido hialurônico durante a restauração da ferida irá acelerar a cicatrização e reduzir o risco de complicações como os queloides (Mccarty, 1996).

A glucosamina é absorvida a partir do trato gastrointestinal com administração oral e rapidamente sofre metabolismo através do fígado sendo eliminado através das fezes e urina. A sua biodisponibilidade oral depende se a glucosamina passa a barreira do sangue gastrointestinal. Uma vez que a glucosamina é uma substância solúvel em água estando no ambiente ácido, como o estômago, a 37 °C e pKa de 6,91, a eficiência da absorção pelo estômago é baixa e acredita-se que a maior parte da glucosamina é absorvida pelo intestino delgado, os níveis de pico são em cerca de 8 horas após a ingestão oral (Tamai *et al.*, 2002; Fox e Stephens, 2007).

Qian *et al.* (2013), avaliaram uma melhor absorção e biodisponibilidade da glucosamina utilizando a quitosana e obtiveram resultados que sugerem que uma formulação de glucosamina com a quitosana pode proporcionar um melhor efeito terapêutico na dose convencional. Devido a esta baixa biodisponibilidade via oral, estudos têm sido realizados com a glucosamina por via de administração transdérmica, que possui várias vantagens em terapia em comparação com a via oral. Estes incluem contornar o metabolismo e primeira passagem ou outros possíveis problemas associados à passagem através do gastrointestinal, produzindo níveis plasmáticos relativamente constantes de fármacos e melhorando a adesão do doente (Tekko *et al.*, 2006). Chattopadhyay *et al.* (2016), obtiveram um sistema transdérmico utilizando goma de Guar e sulfato de glucosamina. Que ocasionou em redução do inchaço como também a recuperação da cartilagem danificada do joelho. Qian *et al.* (2013), estudaram o efeito da quitosana sobre a permeabilidade da glucosamina e observaram em seus estudos que a quitosana aumentou a concentração plasmática e a biodisponibilidade da glucosamina, podendo servir como um intensificador eficaz de absorção para a glucosamina.

2.6 Liberação Controlada de Fármacos

Os sistemas de liberação controlada têm como objetivo melhorar a terapia medicamentosa. Estes sistemas foram desenvolvidos para permitir o controle da exposição do fármaco ao longo do tempo, ajudar o fármaco a atravessar barreiras fisiológicas, conduzir o fármaco ao local de ação desejado, minimizando a sua exposição em outras partes do corpo, podendo aumentar a adesão do paciente, reduzindo a frequência de administração (Siepmann *et al.*, 2012).

2.6.1 Modelos de Liberação

As formas de liberação controlada permitem que farmacêuticos, físicos, matemáticos, químicos e engenheiros trabalhem em conjunto com o objetivo de projetar sistemas controlados de administração de medicamentos. O uso de equações matemáticas permite descrever o tipo de liberação em função do tempo, prevendo assim a cinética de liberação antes dos sistemas serem realizados (Bruschi, 2015).

2.6.1.1 Modelo de Ordem Zero

No Modelo de Ordem Zero (Equação 1), a liberação ocorre apenas em função do tempo, e o processo ocorre a uma taxa constante independente da concentração do fármaco. Esse modelo pode ser usado para descrever a liberação do fármaco a partir de várias formas farmacêuticas de liberação controlada, como em alguns casos de sistemas transdérmicos e sistemas osmóticos (Dash *et al.*, 2010; Bruschi, 2015).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_0 t + b \quad (1)$$

Sendo, M_t a quantidade absoluta de fármaco liberada no tempo t . M_∞ a quantidade total de fármaco liberada no tempo infinito. K_0 a constante cinética e b a quantidade inicial de fármaco na solução.

O Modelo de Ordem zero, ou liberação de taxa constante do fármaco, é desejável a fim de minimizar as oscilações na concentração de fármaco no sangue. Tais execuções podem levar a períodos de subexposição ou superexposição, são particularmente prováveis de ocorrer para drogas que são rapidamente absorvidas e rapidamente eliminadas (Siepmann *et al.*, 2012).

2.6.1.2 Modelo de Primeira Ordem

Esta relação pode ser usada para descrever a dissolução do fármaco em produtos farmacêuticos com formas de dosagem tais como as que contêm água (Dash *et al.*, 2010).

As formas farmacêuticas que seguem este perfil de dissolução, tais como as que contêm fármacos hidrossolúveis em matrizes porosas, liberam o fármaco de forma proporcional à quantidade remanescente no seu interior de tal modo que a quantidade de fármaco liberada por unidade de tempo diminui (Manadas *et al.*, 2002).

2.6.1.3 Modelo de Higuchi

Quando o fármaco se encontra disperso na matriz polimérica, a sua liberação ocorre por um mecanismo que pode ser explicado pelo modelo de Higuchi, que descreve a liberação de fármacos a partir de sistemas de matriciais (Equação 2). Esse modelo é fundamentado na Primeira Lei de Fick e tem sido muito utilizado para relatar a liberação de fármacos por várias formas farmacêuticas modificadas, como no caso de sistemas transdérmicos e comprimidos de matriz com fármacos solúveis em água. E descreve a liberação de um fármaco a partir de uma geometria planar fina (Freitas *et al.*, 2018).

De acordo com Costa (2002), esse modelo assume que o fármaco na camada superficial do sistema dissolve-se na matriz polimérica e difunde-se para fora do mesmo, quando a quantidade do fármaco se esgota, a próxima camada começa a exaurir.

Este modelo permite o cálculo da liberação de fármaco a partir de um tipo de sistema bastante complexo sendo K_H a constante de liberação de Higuchi, que é dependente da raiz quadrada do tempo (Siepmann e Peppas, 2011; Parmar e Sharma, 2018).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H \sqrt{t} + b \quad (2)$$

2.6.1.4 Modelo Korsmeyer-Peppas (Lei de Potência)

Este modelo cinético que também é conhecido como Lei de potência, foi desenvolvido por Korsmeyer e Peppas, e tem sido utilizado por vários pesquisadores por descrever a liberação de fármaco através da difusão Fickiana e do transporte anômalo (Korsmeyer *et al.*, 1983). O modelo é representado pela Equação 3.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (3)$$

Esta equação estabelece uma relação exponencial entre a liberação com o tempo.

Onde K representa a constante cinética que apresenta as características estruturais e geométricas da forma de liberação controlada. n é o expoente de liberação. M_t é a quantidade do fármaco em função do tempo e M_∞ é a quantidade total do fármaco. De acordo com Siepmann e Peppas (2001), o expoente “ n ” varia de acordo com a geometria das matrizes dos fármacos, o valor de “ n ” caracteriza os diferentes mecanismos de liberação, conforme apresentada na Tabela 1.

Tabela 1- Expoente “ n ” do modelo de Korsmeyer-Peppas e os mecanismos de liberação de fármacos de diferentes geometrias.

Expoente, n			Mecanismo de Liberação
Filmes	Cilindro	Esferas	
0.5	0.45	0.43	Difusão Fickiana
$0.5 < n < 1.0$	$0.45 < n < 0.89$	$0.43 < n < 0.85$	Transporte Anômalo
1.0	0.89	0.85	Transporte Caso II

Fonte: Siepmann e Peppas (2001).

2.6.1.5 Modelo de Peppas & Sahlin

O modelo baseia-se no pressuposto de que é possível calcular os dois mecanismos contributivos aproximados: difusão e relaxamento (Peppas & Sahlin, 1989).

Peppas e Sahlin (1989), desenvolveram um modelo de cinética de liberação conforme apresentada na Equação 4 abaixo.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^m + K_2 t^{2m} \quad (4)$$

Considerando o lado direito da equação, o primeiro termo representa a contribuição da difusão de Fick, enquanto o segundo termo representa a contribuição de relaxamento do Caso II. O coeficiente m é o expoente de difusão puramente fickiano para um sistema de qualquer geométrica.

O coeficiente **m** está relacionado ao coeficiente **n** da lei de potência, que foi dado para qualquer forma, incluindo filmes, cilindros e esferas (Tabela 1).

2.6.1.6 Modelo de Hopfenberg

Este é um modelo utilizado para explicar a liberação de fármacos a partir de polímeros erodíveis em várias formas geométricas. Hopfenberg propôs uma série de equações para descrever a liberação do fármaco a partir de filmes planares, esféricos ou cilíndricos, com erosão heterogênea (Siepmann *et al.*, 2012).

Erosão superficial ou heterogênea é um fenômeno que ocorre quando a invasão da água é lenta ou a hidrólise do sistema ocorre em ritmo muito rápido. Em outras palavras, a taxa de degradação das matrizes poliméricas (degradação do polímero) ocorre em uma taxa muito mais rápida do que a intrusão de água no polímero (Siepmann *et al.*, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi executado na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO). Para isso, os materiais utilizados e as caracterizações realizadas estão descritos a seguir.

3.1 Materiais

Tabela 2 mostra os materiais utilizados na pesquisa.

Tabela 2 – Materiais utilizados na pesquisa

Materiais	Fornecedor
Quitosana grau médico	Produzida pelo CERTBIO, a partir do exoesqueleto do camarão <i>Lipopenaeus vannamei</i> , apresentando peso molecular de 270 kDa e grau de desacetilação DD= 88%(*). Esta apresenta registro no SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado), sob protocolo AEBD12D e planta sob protocolo A18AA04.
Hidróxido de Sódio, (NaOH)	Neon® (São Paulo, Brasil)
Metanol, (CH₃OH)	Neon® (São Paulo, Brasil)
Ácido Lático, (C₃H₆O₃).	Vetec® (Duque de Caixas/Rio de Janeiro, Brasil).
N-Acetil-D-Glucosamina>99%	Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha).
Tampão Fosfato Salino – PBS	Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha).
Lisozima	Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha).

(*). O grau de desacetilação foi calculado por FTIR (Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier), de acordo com os cálculos de Brugnerotto *et al.*, (2001).

3.2 Metodologia

O fluxograma a seguir apresenta a metodologia utilizada para obtenção dos fios de quitosana (Figura 12).

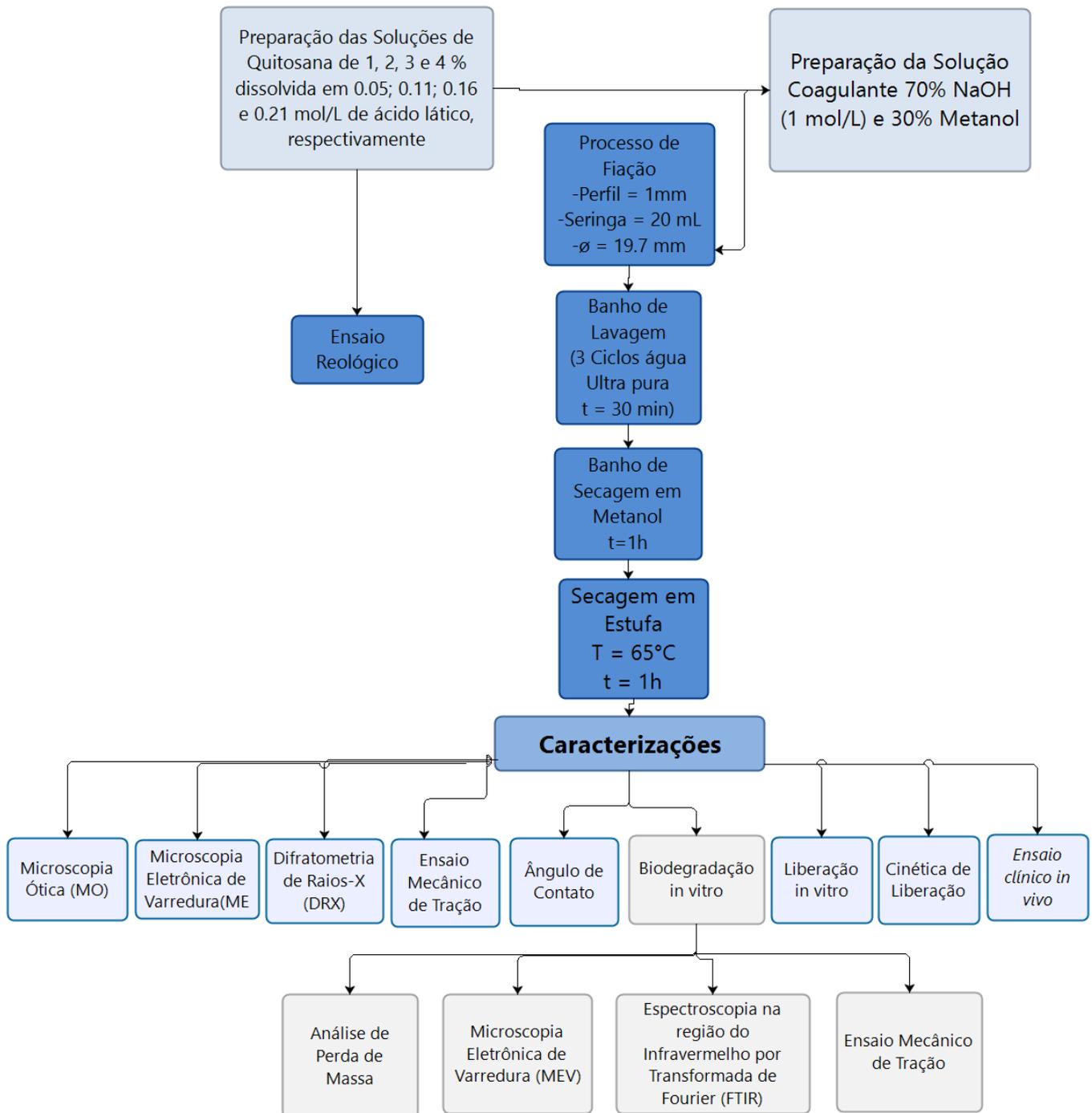


Figura 12 - Fluxograma de Obtenção dos Fios de Quitosana.

3.2.1 Preparação da Solução de Quitosana

Foram preparadas soluções de quitosana (Figura 13) com diferentes concentrações 1, 2, 3 e 4% (m/v), a partir da dissolução do polímero na forma de flocos em uma solução aquosa de ácido láctico utilizada em quantidades estequiométricas, em relação aos grupos amina da quitosana (Apêndice A). Onde a dissolução da quitosana ocorreu a partir da protonação dos grupos amina, sendo a concentração de ácido láctico (Figura 14) de 0,05 mol/L; 0,11 mol/L; 0,16 mol/L e 0,21 mol/L, para as concentrações de 1, 2, 3 e 4% de quitosana, respectivamente, conforme apresentado no Apêndice B. A solução de quitosana permaneceu em agitação mecânica constante a temperatura ambiente $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por cerca de 2h, com velocidade constante de 600 rpm. Em seguida as soluções foram acomodadas em tubos falcons e centrifugado por 5 min a 3000 rpm para eliminar bolhas de ar.

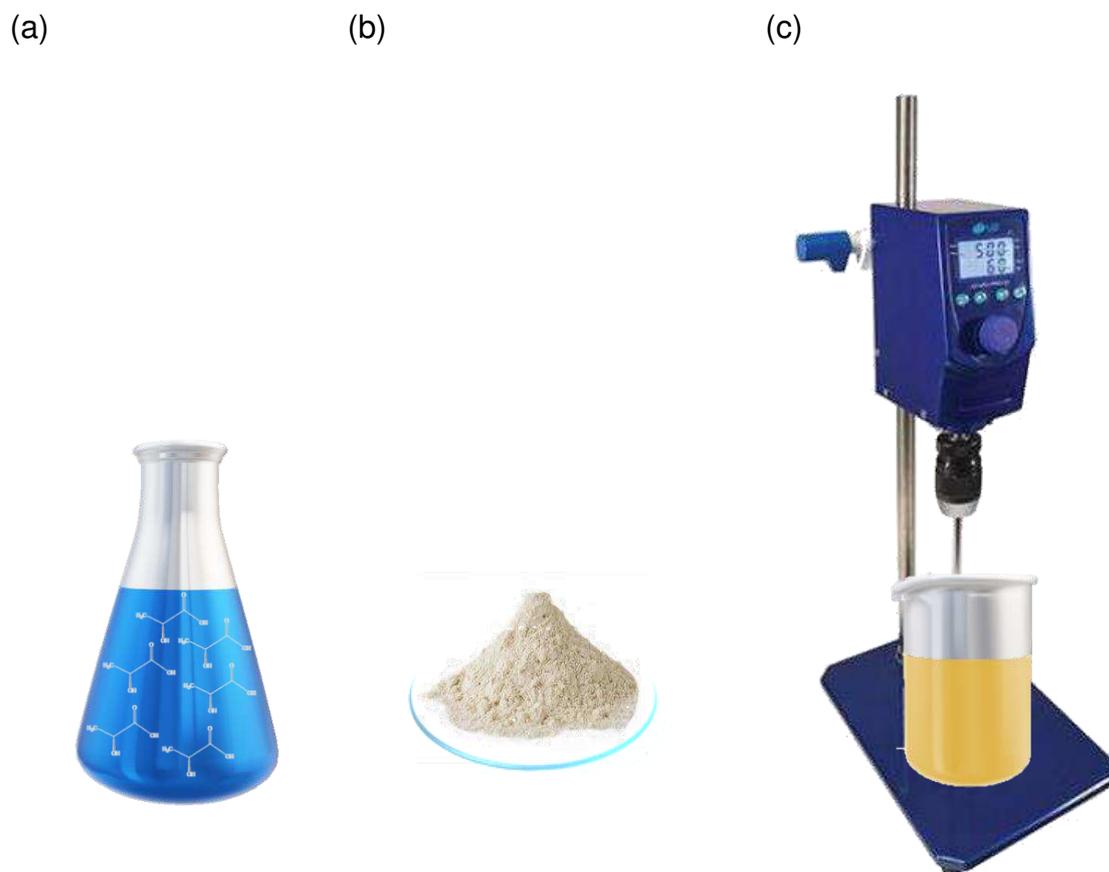


Figura 13 - Esquema representativo do processo de obtenção da solução de quitosana. (a) solução de ácido láctico, (b) flocos de quitosana e (c) solução de quitosana.

Utilizou-se as concentrações de 3 e 4% de quitosana para obtenção dos fios, por estas apresentarem propriedade reológicas mais satisfatórias para o processo de fiação, conforme apresentado nos resultados reológicos (Figura 19), para as concentrações de quitosana de 1, 2, 3 e 4 %.

A escolha para a utilização do ácido láctico (Figura 14) ocorreu, por este gerar como subproduto o íon lactato, que é metabolizado no corpo humano. Sendo não tóxico, evidenciando também melhorias na cicatrização de feridas.

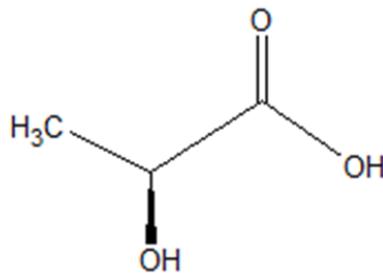
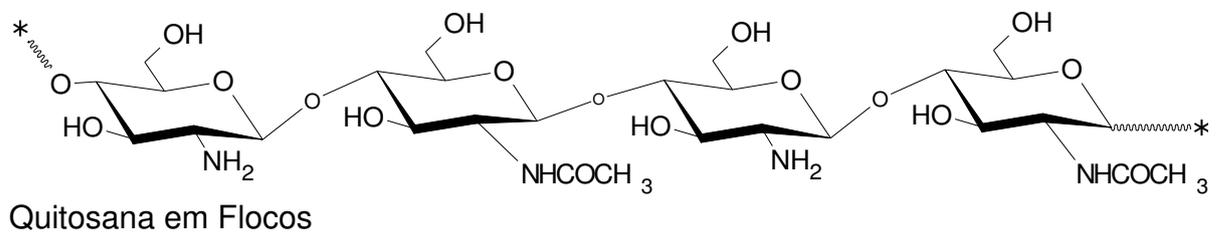


Figura 14 - Representação esquemática da molécula do Ácido Láctico.

Para a obtenção da solução de quitosana (4%), utilizou-se a solução de ácido láctico (0.21 mol/L), que apresentou pH = 2,5 e concentração hidrogeniônica de $3,16 \times 10^{-3}$ mol/L. Após a solubilização da quitosana o pH passou para 3,8 e ocorreu conseqüentemente a diminuição da concentração de $[H^+]$ para $1,58 \times 10^{-4}$ mol/L.



Solubilização



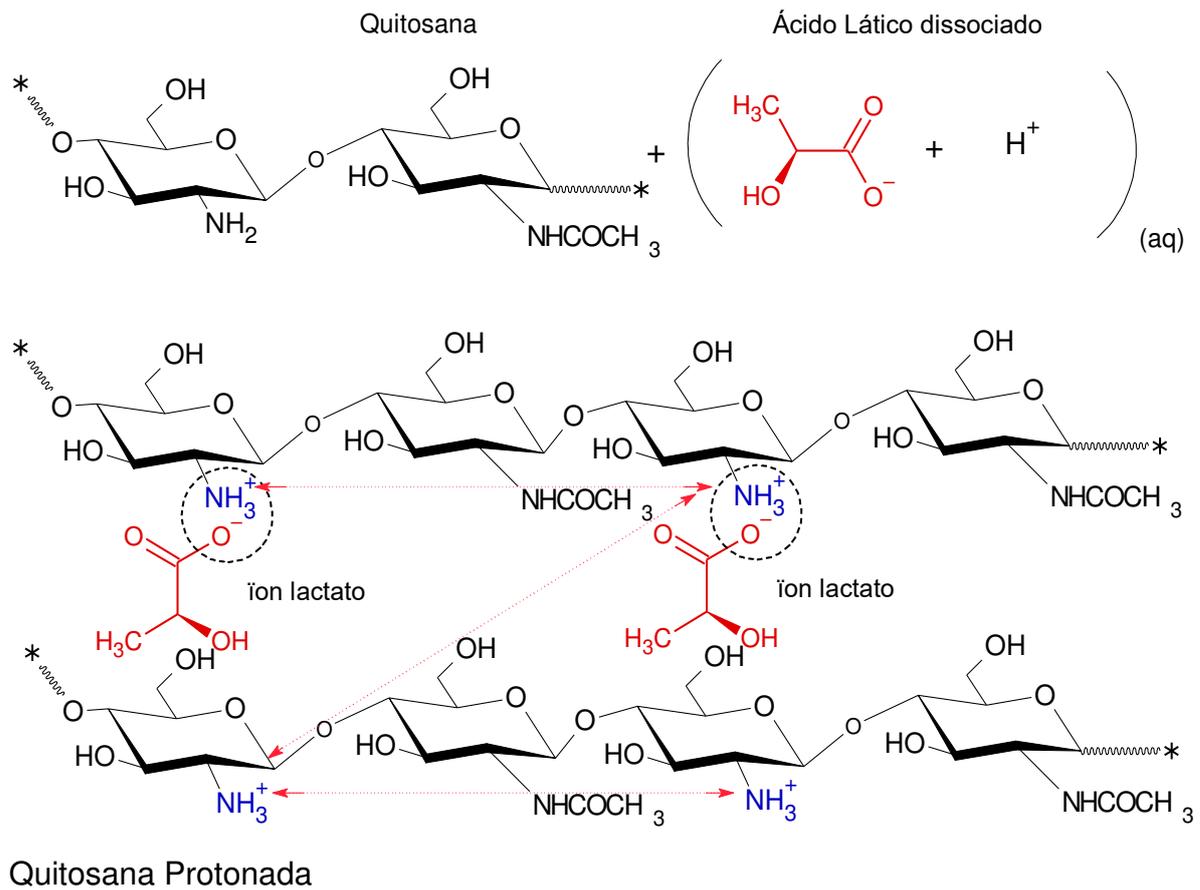


Figura 15 - Representação esquemática da dissolução da quitosana (Fonte Própria).

O cátion $[H^+]$ do ácido láctico se ligou ao grupo amino (NH_2) da quitosana, protonando-a (NH_3^+), ou seja, os grupos desacetilados da quitosana ficaram carregados positivamente (Figura 15), tornando-se um polieletrólito. Provavelmente a concentração do ácido láctico adicionado a quitosana, foi maior que a quantidade necessária para atacar a amina (NH_2) da quitosana, ou seja, mesmo utilizando relações estequiométricas verificou-se que o meio ainda ficou ácido, com concentração hidrogeniônica livre de $1,58 \times 10^{-4}$ mol/L.

Devido a presença dos grupos protonados da quitosana (NH_3^+), tem-se a repulsão entre os monômeros polieletrólitos. Essa repulsão de Coulomb, maximiza a distância entre eles, mas não os separam devido as ligações intramoleculares que são do tipo covalentes (Cai *et al.*, 2016). Tem-se ainda que grupos ($-OH$) presentes ao longo das cadeias poliméricas de quitosana formam ligações de hidrogênio (Endres e Weichold, 2019).

3.2.2 Preparação da Solução de Quitosana/Glucosamina (Quitosana/GlcNAc)

Para se obter a solução de Quitosana/Glucosamina (Quitosana/GlcNAc), a solução de quitosana foi, inicialmente, obtida a 4% (m/v), e em seguida foi adicionada, lentamente 0,2 g de GlcNAc com agitação contínua mantida por 30 min a 600 rpm. (Apêndice C).

Essa pequena quantidade de GlcNAc foi estudada nos fios de quitosana devido ao sistema de liberação em estudo ser transdérmico, aumentando assim sua disponibilidade quando comprado com o uso oral, conforme apresentado por Persiani *et al.* (2005).

A Figura 16 apresenta o esquema representativo da possível interação da N-Acetil-D-Glucosamina na molécula de quitosana.

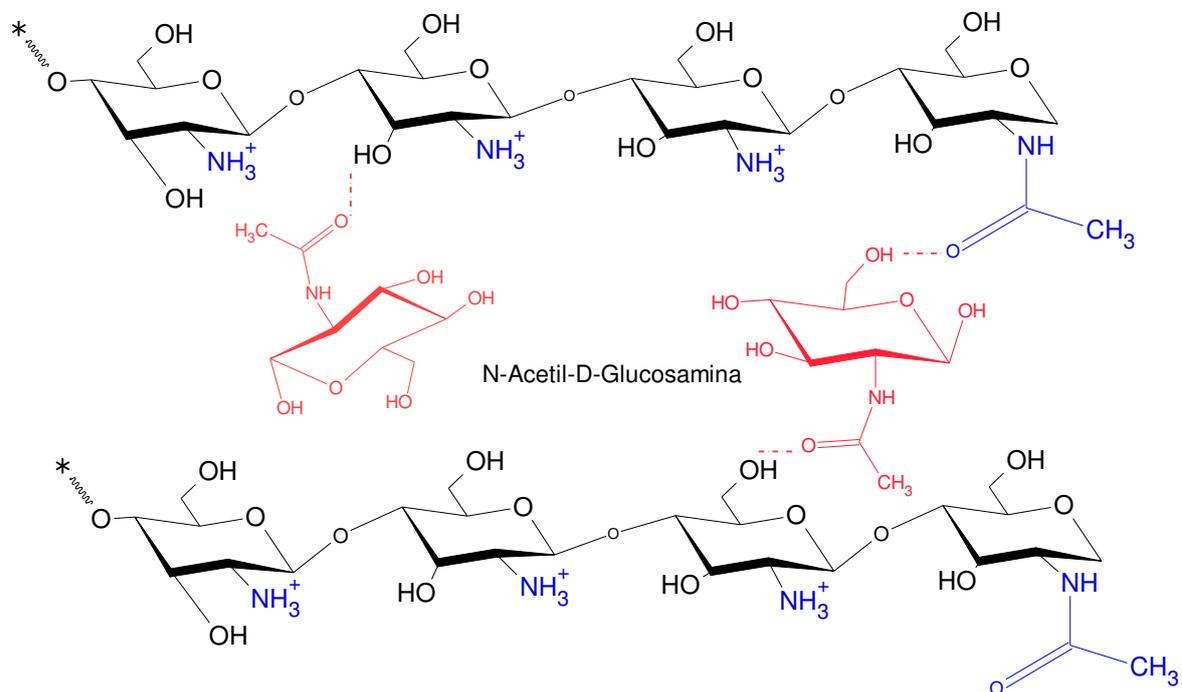


Figura 16 - Representação Esquemática da reação da quitosana com N-Acetil-D-Glucosamina. (Fonte Própria).

Pode-se inferir (Figura 16), que as moléculas de GlcNAc provavelmente tem interação por meio dos grupos OH, o grupo cetona da quitosana. Essa preferência ocorre, em detrimento da interação do grupo NH (GlcNAc), com o grupo OH da quitosana, por impedimento estérico. Ou seja, a ligação com amina secundária não ocorre, mesmo esta sendo altamente reativa. Desta forma pode-se também ocorrer ligações do fármaco com a quitosana nas regiões acetiladas (12%).

O fluxograma a seguir apresenta a metodologia utilizada para obtenção dos fios de Quitosana/GlcNAc (Figura 17).

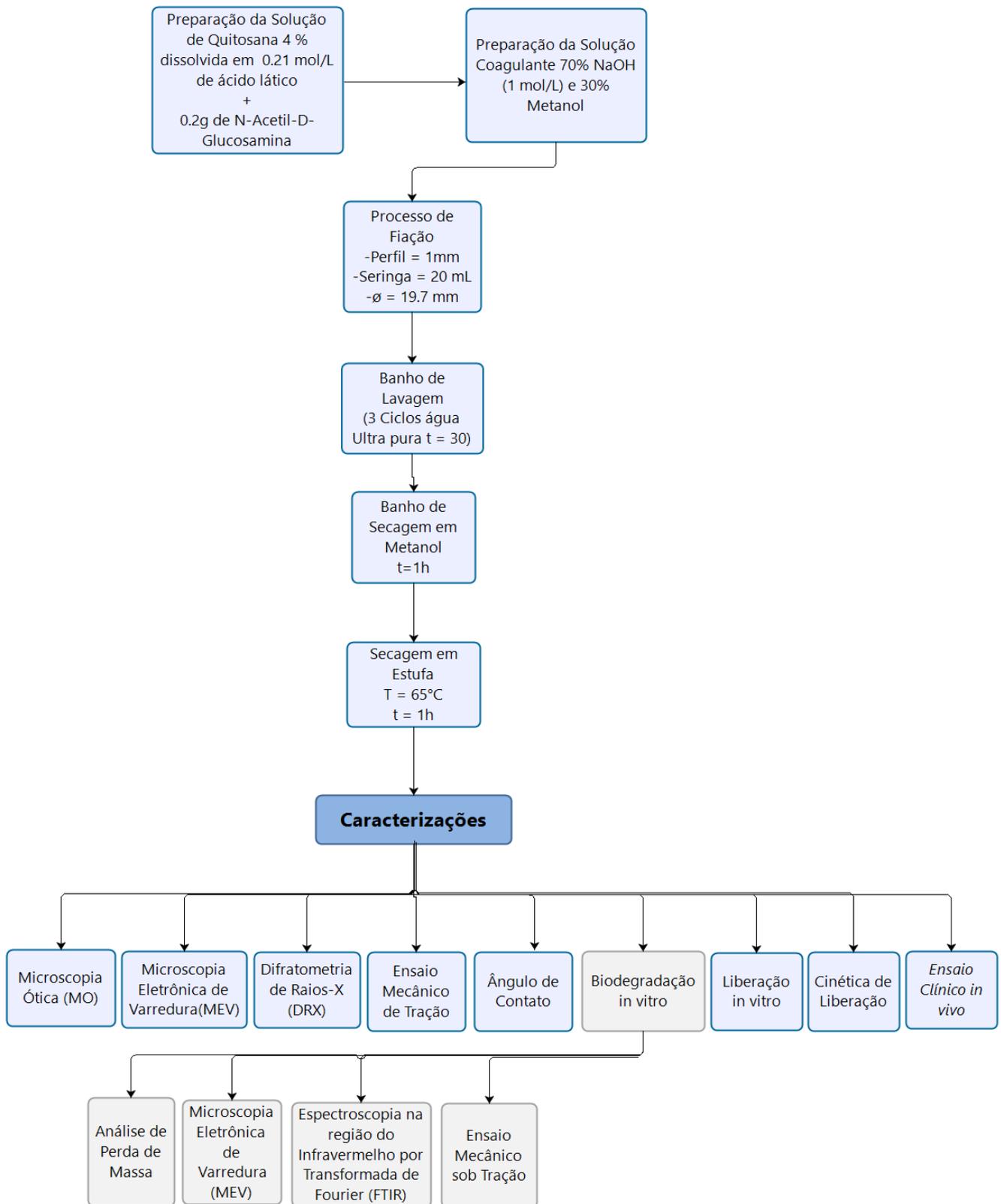


Figura 17 - Fluxograma de Obtenção dos Fios de Quitosana 4%/GlcNAc.

3.2.3 Preparação da Solução Coagulante

Os materiais e parâmetros utilizados nesta etapa foram predeterminados a partir de experimentos realizados inicialmente em uma fase exploratória. A metodologia utilizada para a preparação da solução coagulante foi a metodologia utilizada por Silva *et al.*(2019b), conforme Apêndice B.



Figura 18 - Representação esquemática do processo de obtenção da solução coagulante.

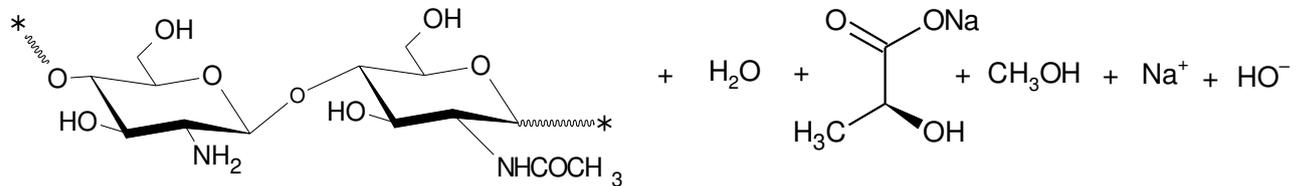
A solução coagulante para a obtenção dos fios (Figura 18), foi preparada a partir da reação de uma solução de 70% de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol/L, com 30% de metanol - CH₃OH. A solução de hidróxido de sódio foi filtrada em filtro de seringa de 20 µm para retirar cristais de NaOH que não foram dissolvidos na solução.

Nesta etapa a solução coagulante apresentou pH=12,95; pOH=1,05 e conseqüentemente concentração hidroxiliônica de 0,089 mol/L.

3.2.4 Processo de Fiação dos Fios de Quitosana e Quitosana 4%/GlcNAc

As soluções de Quitosana e Quitosana 4%/GlcNAc foram colocadas em uma seringa (20 mL) e com auxílio de uma bomba injetora (Pump 11 Pico Plus Elite, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA), fiada com fluxo de 45 mL/h (Cruz *et al.*, 2016), diretamente no banho coagulante, sendo a distância do final do perfil até o fundo do Becker com solução coagulante foi fixada em 8,6 cm e toda a fiação ocorreu em temperatura ambiente.

Os fios foram obtidos pela neutralização da solução ácida de quitosana com a solução coagulante de caráter básico, formando os fios logo após o contato da solução de Quitosana e/ou Quitosana/GlcNAc com o banho coagulante, gerando também os produtos finais (Figura 19).



Fio de quitosana (coagulado)

Figura 19 - Produtos finais (quitosana, água, lactato de sódio, metanol) na solução coagulante.

O tempo de permanência dos fios na solução coagulante foi de 10 min, pois conforme visto no estudo exploratório os fios apresentam coagulação completa em apenas 72 segundos. Quando utilizado, solução coagulante de NaOH 1 mol/L, quitosana de alta massa molar e perfil de fiação com diâmetro de 1mm, conforme apresentado na Figura 26.

3.2.5 Preparação dos Banhos de Lavagem e Secagem

Foi realizado banhos de lavagem com água ultrapura, logo após os fios serem retiradas do banho de coagulação. Os fios ficaram imersos em água ultrapura por 90 min, sendo a água trocada a cada 30 min (3 ciclos), até apresentarem aproximadamente um pH=7.

Após esse período os fios permaneceram em um banho de secagem, contendo 100% de metanol por 1 h (Figura 20). A metodologia utilizada para o processo de lavagem dos fios de quitosana foi o reportado por Silva *et al.*(2019b).

3.2.6 Secagem dos Fios

Durante o processo de secagem (Apêndice E), os fios foram tensionados em 10%, com relação ao comprimento inicial, e acomodados na estufa a temperatura de 65 °C, com circulação de ar, por 1 h (Figura 20).



Figura 20 - Representação esquemática do processo de obtenção do fio de quitosana.

3.2.7 Caracterizações

3.2.7.1 Ensaio Reológico

Foi realizada a caracterização reológica das soluções de 1, 2, 3 e 4 % no Reômetro Haake Mars III, equipado com geometria de placas paralelas e um sistema com banho térmico para controle de temperatura. Foi utilizada a temperatura constante de 37 ° C, e o *gap* foi de 0,500 mm para todas as soluções.

3.2.7.2 Microscopia Ótica (MO)

A técnica por Microscopia Ótica, foi utilizada com o objetivo de avaliar a cinética de coagulação, a morfologia e os aspectos macroscópicos dos fios obtidos, através de um Microscópio Óptico Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D e variação de 50 X-400 X, acoplado a uma estação de análise de imagens. As imagens foram realizadas nos aumentos de 350 x. A medição do diâmetro dos fios (n = 10) foi realizada utilizando o software ImageJ®.

3.2.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia da superfície e a seção transversal dos fios de quitosana e quitosana/GlcNAc foram observadas usando o Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada, PHENON, modelo MEV PROX, (PHENOM WORD-800-07334 (Holanda, UE), com aumento de até 45000x, profundidade de foco de 1 mm, resolução de 30nm, 5,10 e 15 KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa). As amostras dos fios foram colocadas em fita de carbono. A seção transversal foi obtida a partir da fratura do fio em nitrogênio líquido, e o tamanho médio dos poros foi medido usando o software ImageJ®.

3.2.7.4 Difratomia de Raios (DRX)

Os perfis de difração de raios-X (XRD) foram registados em um difratometro Shimadzu modelo XRD-7000 (Shimadzu, Tóquio/Quioto, Japão) com uma radiação Cu-K α Ni-filtrada.

Os perfis de DRX foram coletados na faixa de espalhamento $2\theta = 10-40^\circ$, com resolução de $0,02^\circ$, a uma velocidade de varredura de 1° min^{-1} . As análises foram realizadas aplicando 40 kV de tensão e 30 mA de corrente. As amostras foram dispostas em paralelo, depois submetidas ao ensaio. Para avaliar a mudança de cristalinidade dos fios de quitosana e quitosana/GlcNAc foi calculado o grau de cristalinidade (%). Para isto realizou-se a deconvolução dos padrões de difração de raios-X das amostras, os picos foram ajustados com funções Gaussianas usando ajuste não linear de mínimos quadrados, com o software ORIGIN PRO 9.0. O grau de cristalinidade das amostras foi calculado pela seguinte Equação 5.

$$\text{Grau de Cristalinidade (\%)} = \frac{\text{Área Cristalina}}{\text{Área Total (área cristalina + área amorfa)}} \times 100 \quad (5)$$

3.2.7.5 Ensaio Mecânico sob Tração

O ensaio mecânico sob tração, foi utilizado para caracterizar as propriedades mecânicas dos fios de quitosana e quitosana/GlcNAc. O teste foi realizado na Instron Modelo 6633, de acordo com a Norma ASTM D2256: Standard Test Method for Tensile Properties of Yarns by the Single-Strang Method. O ensaio foi realizado a partir de 15 amostras. Utilizando célula de carga de 500 KN, velocidade de 120 mm/h e distância entre as garras de 100 mm. O teste foi conduzido à temperatura ambiente de $24 \pm 2^\circ \text{ C}$ e umidade relativa de $60 \pm 2\%$.

Fios sem nó (Fig. 21a), e com nó simples (Fig. 21b), foram testados em estado seco e sob condições de incubação, com o filamento embebido por 5 min em PBS a 37° C para mimetizar condições *in vivo*, e os testes realizados em 2 minutos após a remoção dos filamentos do fluido, de acordo com os padrões de teste de sutura absorvível da *United States Pharmacopeia*. A falha foi definida como a ruptura do fios, e a resistência à tração ou tensão na falha foi definida como a força de tração (N) medida na falha. Os dados de deslocamento-carga resultantes foram convertidos em dados de força de tração (N), alongamento na ruptura (%), módulo de Young (GPa) e resistência à tração máxima (MPa). Todos os nós simples foram amarrados usando luvas cirúrgicas e foram amarrados por um único investigador em várias sessões para evitar qualquer variação na força do nó.

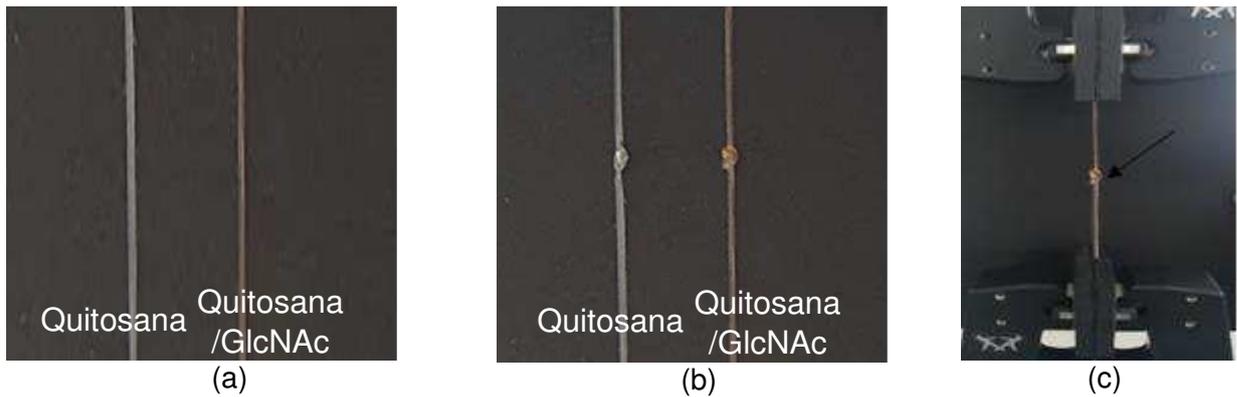


Figura 21 - Fios de quitosana e quitosana/GlcNAc sem nó (a); com nó simples (b) colocados na máquina Instron com o nó aproximadamente entre os grampos (c).

Os fios foram colocados na máquina Instron com o nó aproximadamente entre os grampos (Figura 21c). Todos os fios utilizados estavam no padrão fio de sutura 6-0 de acordo com U.S. Pharmacopeia. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão para dez amostras. Os dados foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) e a significância do modelo foi verificada com o teste T, com nível de significância de 95% ($p < 0,05$), utilizando o software Action Stat Quality®.

3.2.7.6 Grau de Intumescimento (GI)

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar a absorção do PBS em meio fisiológico pelos os fios de quitosana. Os fios foram inicialmente pesados e em seguida mantidos no PBS. Em intervalos de tempo pré-determinado as amostras foram retiradas da solução e secas superficialmente em papel filtro, para retirar o excesso de solução e pesadas novamente. A partir da Equação 6 calculou-se o grau de intumescimento de cada amostra no tempo t. Onde, W_t é o peso da amostra no tempo t e W_0 é o peso inicial da amostra.

$$GI = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (6)$$

3.2.7.7 Ângulo de Contato

O ensaio de ângulo de contato foi realizado com o objetivo de avaliar a molhabilidade dos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc.

Para a medição do ângulo de contato utilizou-se um sistema de medição do ângulo de contato (Krüss GmbH Germany, modelo: DSA 100), este sistema coloca automaticamente uma gotícula de água na superfície do fio, empurrando a gota para baixo e soltando-a na superfície, sem permitir o controle do usuário. E então uma câmera captura a forma da gotícula de água na superfície, a partir da qual o ângulo de contato é medido por um software comercial.

Os ângulos de contato dos fios foram medidos em uma média de 5 amostras para cada tipo de fio estudado. O ensaio foi realizado na Ilha da Madeira/Portugal.

3.2.7.8 Biodegradação *in vitro*

O ensaio foi realizado a partir das normas ASTM F1635-04 Standard teste Method for *in vitro* Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants (2009) e ASTM F2103-01 Standard Guide for Characterization and Testing of Chitosan Salts as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue-Engineered Medical Products Applications (2007). A biodegradação dos fios foi estudada a partir da análise da perda de massa, FTIR e pelas alterações morfológicas observados por MEV. Os fios com 3 e 4% de quitosana e quitosana 4%/GlcNAc, foram cortados em tamanhos iguais (5 cm) em seguida pesados, sendo utilizadas 3 amostras para cada composição. Os fios foram avaliados em solução de lisozima/PBS (pH = 7), na concentração de 1,5 µg/mL, como também na solução de PBS (pH = 7) para controle e acondicionados em temperatura de 37 °C e em pH=7,4. Em intervalos regulares (7,14,21,28,35,42, e 49 dias), os fios foram retirados da solução de PBS e PBS/Lisozima, lavados com água destilada e colocados em papel absorvente para remover o excesso de água superficial, em seguida foram pesados. A concentração de lisozima foi escolhida por corresponder à concentração no corpo humano (Brouwer *et al.*, 1984; Freier *et al.*, 2005; Lim *et al.*, 2008). As soluções foram trocadas semanalmente para garantir a atividade enzimática.

As amostras dos fios de quitosana foram avaliadas em 49 dias e de fios de quitosana 4%/GlcNAc em 35 dias. A partir da Equação 7 foi possível calcular a porcentagem de perda de peso.

Onde, W_0 refere-se ao peso inicial do fio, e W ao peso dos fios retirados da solução após períodos pré-estabelecidos. A porcentagem de biodegradação foi expressa em médias e com desvio padrão.

$$\text{Perda de Peso (\%)} = \frac{W_0 - W}{W_0} \times 100 \quad (7)$$

3.2.7.9 Liberação *in vitro* da N-Acetil-D-Glucosamina

A quantidade de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) liberada a partir dos fios de quitosana/GlcNAc foi medida usando um espectrofotômetro (UV-VIS) ultravioleta-visível (Shimadzu, modelo 1800, Kyoto, Japão). Os valores máximos para a absorvância de GlcNAc em PBS (pH = 7,4) também foram determinados usando um Espectrofotômetro de UV-VIS. A amostra do fio de 36 cm foi incubada em uma solução de PBS 50 mL (pH = 7,4) e mantida em $37 \pm 0,5$ °C. Uma alíquota do meio de liberação (3 mL) foi retirada através de uma seringa com filtro de membrana de 0,45 μm (millipore, Bedford, MA, EUA) em intervalos de tempo pré-determinados (1, 24, 192, 336, 504, 672, 840 e 1176 h), e uma quantidade equivalente do meio da dissolução (mantido em 37 °C), foi substituído. As amostras coletadas foram então analisadas para o conteúdo GlcNAc medindo a absorvância em 192 nm ($\lambda_{\text{máx}}$ de GlcNAc em solução tampão fosfato pH 7,4). Os experimentos foram realizados em triplicada para cada formulação dos fios, a fim de minimizar a variação de erro. Os valores médios foram utilizados para tratamento e plotagem de dados. A concentração do fármaco foi calculada de acordo com uma curva padrão, e a liberação cumulativa foi obtida a partir da Equação 8 .

$$\text{Liberação Cumulativa (\%)} = \frac{\sum_{i=0}^n C_i V_o \times 100}{m} \quad (8)$$

Onde V_0 é o volume da amostra (3,0 mL), C_i é a concentração (mg/L) do fármaco no tempo, e m é a massa do fármaco incorporado no polímero (0,8 mg).

3.2.7.10 Cinética de Liberação

Também foi avaliada o modelo de liberação do sistema a partir da análise da cinética de liberação. As amostras foram avaliadas nos tempos de 1, 24, 192, 336, 504, 672, 840 e 1176 horas. Para isso, utilizou-se o DDSolver, que é um programa complementar para modelagem e comparação de perfis de dissolução de fármacos, sendo usado para facilitar a modelagem de dados de dissolução usando métodos de otimização baseados em uma biblioteca de modelos com o objetivo de otimizar o cálculo, reduzir os erros do usuário e fornecer uma maneira conveniente de relatar dados de dissolução com rapidez e facilidade (Zhang *et al.*, 2010).

3.2.7.11 Citotoxicidade *in vitro* (Método Ágar)

O ensaio de difusão em Ágar foi realizado para avaliar a citotoxicidade dos fios de quitosana e quitosana/GlcNAc conforme a ISO 10993-5. Extratos foram preparados a partir dos fios de quitosana e quitosana/GlcNAc na proporção de 0,2 g/ml de solvente para extração (água ultrapura), o solvente extrator com as respectivas amostras foram autoclavadas a $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 h. Os papéis de filtro com uma área de 100 mm^2 (10 mm x 10 mm) foram embebidos com os extratos. Para experimentos de citotoxicidade, células L929 obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro e preservadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO (Brasil), foram cultivadas em placa de 6 poços com 35 mm de diâmetro em meio RPMI 1640 contendo 10 % de Soro Fetal Bovino (FBS) em fornos umidificados a uma temperatura constante de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ em uma atmosfera com $5\text{ \%} \pm 1\text{ \%}$ de CO_2 . As suspensões celulares com concentração de $1,1$ a $1,3 \times 10^5$ células/mL, em um volume de 5 mL, foram semeadas em 24 h. Após este período, as culturas que apresentaram uma monocamada de células uniforme e com confluência superior a 80% foram utilizadas para o ensaio. Em seguida, o meio foi substituído por 1 ml de meio ágar preparado contendo 1,8% de ágar e 0,01% de solução vermelha neutra e MEM (Meio Essencial Mínimo) 2x concentrado. Após a solidificação do ágar (10 min), os papéis filtrantes embebidos nos extratos dos filamentos (quitosana e quitosana/GlcNAc) foram colocados na superfície do ágar, assim como os controles positivo (látex) e negativo (filtro Whatman n1). No centro de cada placa, as amostras foram realizadas em duplicada.

Após 24 h de incubação, o índice de descoloração (formação de halo) e o índice de lise foram avaliados usando um microscópio óptico. A lise celular foi definida como uma perda da integridade da membrana celular, visível sob o microscópio de luz invertida (NIKON TS100 digital, Tóquio, Japão) com o recurso de ampliação de imagem do software NISElements. A lise celular foi classificada de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 - Critérios da ISO-10993-5, para a pontuação de reatividade do ensaio de difusão em ágar

Grau	Reatividade	Descrição da zona de reatividade
0	Nenhum	Nenhuma zona detectável em torno ou abaixo do espécime
1	Leve	Algumas células mal formadas ou degeneradas sob espécime
2	Suave	Zona limitada à área sob espécime
3	Moderado	Tamanho da amostra de extensão da zona até 1,0 cm
4	Severo	Zona que se estende além de 1,0 cm além da amostra

Fonte: (ISO-10993-5, 2009).

3.2.7.12 Avaliação *in vivo*

O ensaio *in vivo* foi realizado em parceria com a Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UACB/UFCG). A realização da cirurgia ocorreu no Laboratório de Bioensaios (LBio), Campus de Patos/Paraíba. Onde foram utilizados 36 ratos da raça Wister, do sexo masculino, com peso entre 250 e 300 g. O procedimento foi realizado por incisão do dorso de 2 cm, seguida da sutura, utilizando o fio de quitosana 4 %, quitosana 4%/GlcNAc e o fio comercial catgut. A avaliação clínica, visual e tátil da ferida cirúrgica foi feita diariamente durante quatorze dias, observando à presença de reação inflamatória, como: calor, rubor e edema. A pesquisa foi aprovada pela comissão de ética em uso em animais sob parecer CEP/CEUA nº068-2017.

3.2.7.13 Análise Estatística

Diferenças nos valores médios para os fios de quitosana e quitosana/GlcNAc foram comparadas, em relação à significância de suas propriedades mecânicas, bem como no teste de biodegradação pelo teste-T. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. A análise estatística foi realizada com auxílio do software Action Stat Quality®.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise dos Fatores que Influenciam nas Propriedades dos Fios

Antes do início das caracterizações, realizou-se um estudo prévio dos fatores que influenciam de forma mais efetiva nas propriedades mecânicas dos fios de quitosana. Logo, obteve-se um diagrama de Ishikawa, onde esses fatores foram expostos de maneira que facilitasse a análise e a obtenção de fios com boas propriedades mecânicas, visualizando também quais seriam os fatores de riscos.

A Figura 22 apresenta o diagrama de Ishikawa para a força a tração (N) dos fios de quitosana, desenvolvido para este sistema.

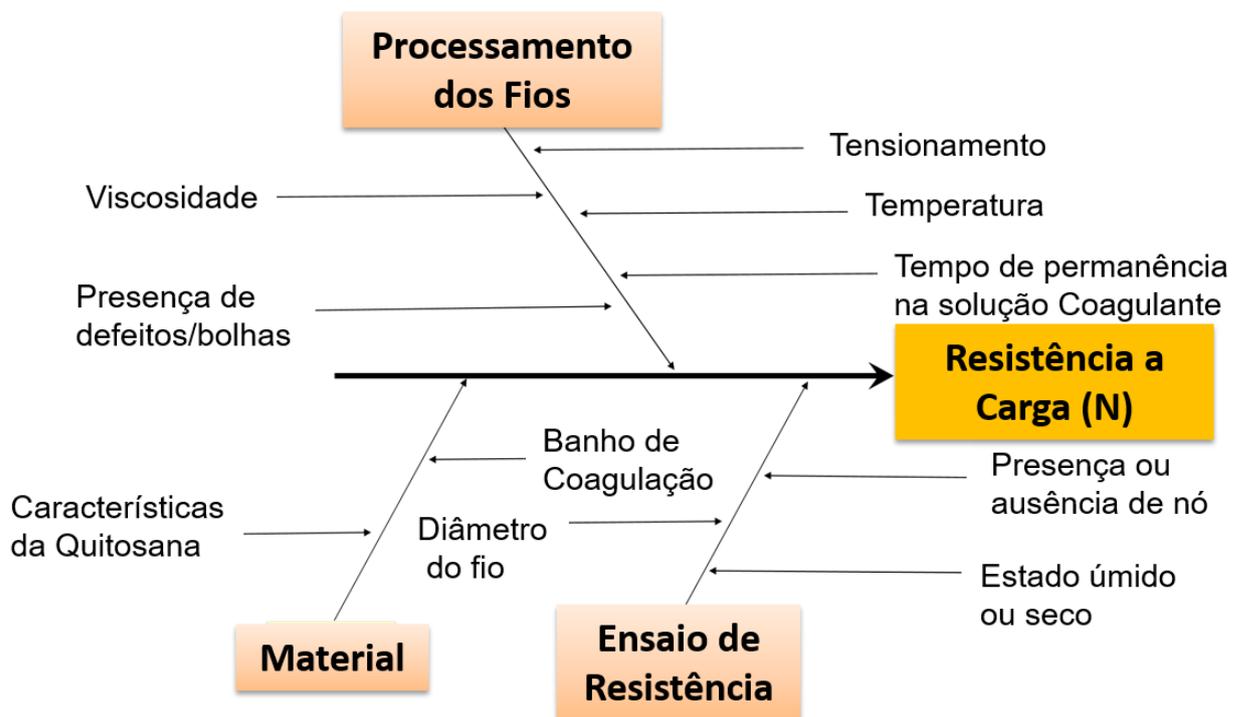


Figura 22 - Diagrama de Ishikawa para a força de tração dos fios de quitosana.

O diagrama de Ishikawa (Figura 22), conhecido também como diagrama causa e efeito ou *espinha de peixe*, apresenta fatores significantes que tem influência direta ou indireta nas propriedades finais dos fios de quitosana, sendo a maioria destes fatores controláveis.

Verificou-se a partir do diagrama que os materiais utilizados, como a quitosana que é o polímero utilizado para obtenção do fio, devem ser observados e analisados quanto a suas características (massa molecular, grau de desacetilação, concentração da solução e o ácido utilizado na solubilidade). Os reagentes utilizados na solução coagulante também foram estudados destacando a análise do tempo de permanência do fio no banho e a concentração da solução.

No processamento dos fios pode-se observar maiores índices de influência na força a tração, destacando no processo de fiação a importância da viscosidade da solução, que não pode ser fluida, como também não pode apresentar alta viscosidade. Observa-se ainda que as bolhas são defeitos que afetam negativamente a força de tração dos fios, por serem concentradores de tensão.

A partir de estudos prévios verificou-se ainda que o tensionamento e a temperatura da secagem dos fios afetam diretamente sua resistência, sendo necessário também uma análise desses fatores.

Logo, a partir do diagrama exposto (Figura 22), foi possível verificar quais os parâmetros seriam avaliados e estudados. Haja visto, que a pesquisa teve como um dos objetivos principais obter boas propriedades mecânicas dos fios de quitosana, controlando e analisando todas as características que influenciam no processo.

4.1 Ensaio de Reologia

4.1.1 Estudo Preliminar - Determinação da Solução Usada para Obtenção dos Fios

Inicialmente foi analisada a viscosidade das soluções com diferentes concentrações de quitosana 1, 2, 3 e 4% (m/v), com a finalidade de selecionar a concentração com viscosidade mais adequada para o processo de fiação úmida. Para isto, foram avaliadas estas soluções de quitosana dissolvidas em ácido láctico (v/v), a partir das relações estequiométricas calculadas, conforme apresentada no Apêndice A.

A Figura 23 apresenta o gráfico da curva de viscosidade (mPa.s) das soluções de quitosana nas concentrações de 1, 2, 3 e 4% (m/v).

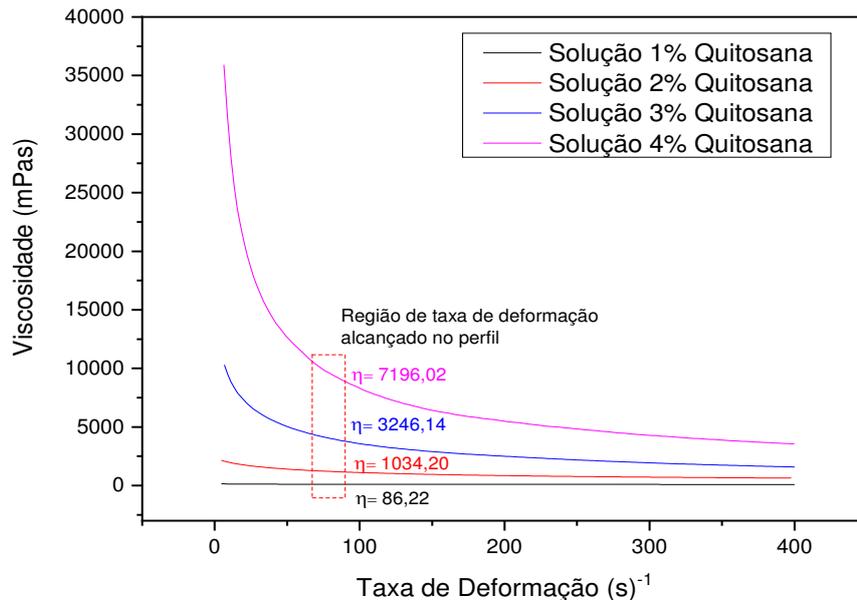


Figura 23 - Curvas de fluxo de viscosidade (mPa.s) versus taxa de deformação (s^{-1}) das soluções de 1,2,3 e 4% de quitosana dissolvidas em ácido láctico.

Através da análise visual foi possível observar que as amostras apresentavam-se homogêneas e transparentes, indicando uma boa dissolução do polímero pelo ácido láctico.

A partir destes resultados (Figura 23), verificou-se que as viscosidades das soluções são baixas para as concentrações de 1 e 2 % de quitosana. Nestas amostras observa-se um comportamento de fluido Newtoniano, a curva apresenta-se predominantemente linear pelo resultado do movimento livre das cadeias poliméricas. Este comportamento é comum em soluções muito diluídas (Hamdi *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2019).

Materiais que apresentam esse comportamento de diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, são conhecidos como pseudoplásticos. A viscosidade das soluções de quitosana é função da massa molecular e da interação entre estas moléculas. Assim, em soluções diluídas (soluções ácidas), o surgimento dos grupos NH^+ provoca repulsões eletrostáticas entre as cadeias, facilitando sua dispersão pelo solvente, o que diminui a interação intermolecular e conseqüentemente a viscosidade das soluções, com a diluição, exibindo um comportamento newtoniano (Morais *et al.* 2013; Afzal *et al.* 2018; Kumar *et al.* 2018).

Observa-se que o aumento da concentração das soluções de quitosana, ocasiona a variação de forma gradual do formato das curvas (Figura 23), isto se deve a maior interação e emaranhamento intermolecular. Uma vez que, em soluções mais concentradas se tem maior número de cadeias disponíveis para interação.

Para as concentrações de 3 e 4% de quitosana, tem-se um aumento significativo da viscosidade, é importante destacar que esses valores de viscosidade (mPa.s) inicialmente apresentados, foram encontrados a partir da taxa de cisalhamento (s^{-1}) com valor zero (0).

Constata-se ainda no gráfico da Figura 23, um declínio na viscosidade das soluções com concentrações mais elevadas (3 e 4%), com o aumento da taxa de deformação, comportamento este de fluido pseudoplástico (fluido não newtoniano), sendo essa mudança mais acentuada para a amostra de 4%. A maior viscosidade é apresentada para a solução de 4%, isto ocorre, pois, as cadeias do polímero se aproximam, e promovem uma interação intermolecular, restringindo os movimentos individuais das cadeias formando uma rede mais compacta e conseqüentemente mais viscosa.

Porém, no processo de fiação úmida as taxas de deformação são diferentes de zero, assim se fez necessário calcular este valor durante o processo de fiação. De acordo Dresvyanina *et al.* (2013), como a taxa média de deformação para um capilar, de raio “r”, está relacionado com a taxa de alimentação da solução do polímero “Q”, pela Equação 9, podemos assim calcular a taxa de deformação que atua no perfil, durante a fiação do fio, substituindo os valores de Q= 45 mL/h e raio R = 0,5 mm, conforme os cálculos apresentados no Apêndice F.

$$y = \frac{2Q}{\pi R^3} \quad (9)$$

A taxa de deformação no perfil de fiação (determinada na Equação 9) foi de 63,69 (s^{-1}), logo, durante o processo de fiação nesta taxa de deformação as viscosidades (η) são de 86,22; 1034,20; 3246,14; 7196,02 mPa.s, para as concentrações de 1, 2, 3 e 4 % respectivamente (Figura 23).

Este resultado corrobora com Dresvyanina *et al.* (2013), que apresentou em seu trabalho com filamentos de quitosana a 4% dissolvido em solução de ácido acético (2%), regiões de taxa de deformação no perfil cilíndrico entre 6000 e 7000 mPa.s.

Com o objetivo de avaliar os módulos de armazenamento e perda, foram medidos os módulos de G' e G'' em função ω rad/s (Figura 24), para as soluções de 1, 2, 3 e 4% de quitosana.

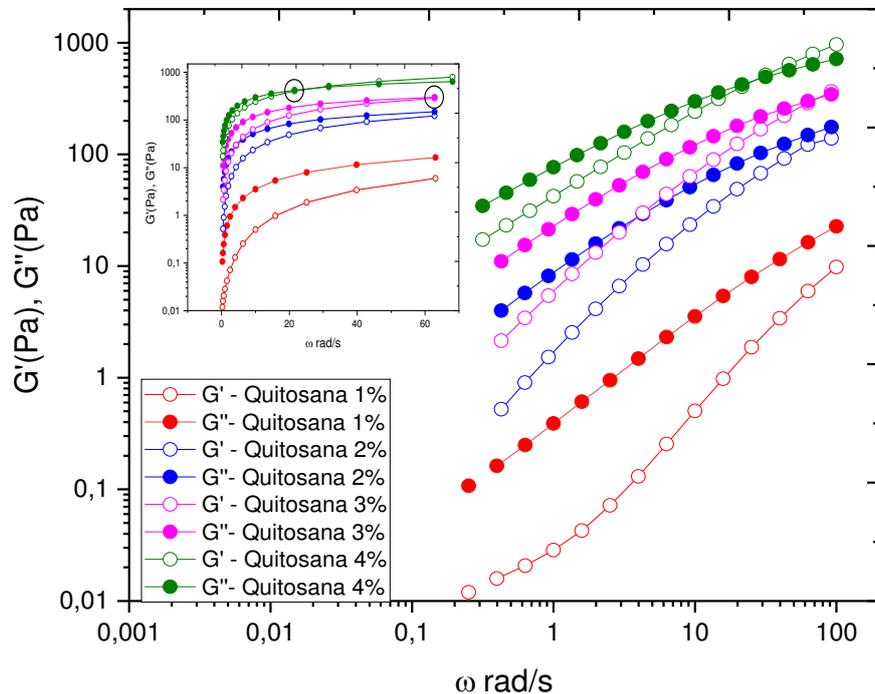


Figura 24 - Curvas do módulo de armazenamento G' e de perda G'' (Pa) em função ω rad/s, obtidas para as soluções de 1, 2, 3 e 4% de quitosana.

A partir dos resultados apresentados nos gráficos da Figura 24, verifica-se que o aumento da frequência angular, ocasionou aumento no módulo de armazenamento G' e no módulo de perda G'' .

Em todas as amostras tem-se para frequências menores a predominância do caráter viscoso, ou seja, aos valores do módulo de perda (G'') são superiores aos valores do módulo de armazenamento (G'). Quanto maior os valores do módulo de G'' , maior a indicação do caráter viscoso da solução. Segundo Afzal *et al.* (2018), isso ocorre devido às repulsões eletrostáticas intermoleculares, que ocorrem nas solução ácidas de quitosana, que são carregadas positivamente.

Para a solução de 1 e 2% de quitosana (Figura 24), verifica-se que o perfil de predominância viscosa ocorre ao longo de todo o intervalo de frequência oscilatória estudado.

Sendo o módulo de perda G'' superior ao módulo de armazenamento G' , esse é o comportamento típico de sistemas diluídos, pois não ocorre o cruzamento das curvas de G' e G'' . A curva de 1% de quitosana, indica a energia viscosa, e o comportamento do material viscoso desta solução (Luo *et al.*, 2019; Zhang e Waymouth, 2017).

Para as amostras de 3 e 4% (Figuras 24), respectivamente, tem-se que, com o aumento da frequência angular ocorre um crescimento dos valores de G' e G'' . Verifica-se ainda que o crescimento é mais acentuado para o módulo elástico, assim, o G' cruza-se a curva do G'' . Em baixas frequências tem-se um comportamento de líquido, onde o módulo de perda G'' é maior que o módulo de armazenamento G' . Em frequências angulares maiores de 20 e 62 rad/s para as amostras de 4, 3% respectivamente, ocorre o cruzamento desses módulos indicando uma contribuição elástica predominante. A alta dependência dos módulos viscoelásticos com a frequência indica um comportamento de gel fraco (Zavaleta-Avejar *et al.*, 2014; Luo *et al.*, 2019). Esse aumento nos módulos G' e G'' com relação ao aumento da concentração da solução de quitosana, provavelmente ocorre devido ao aumento da densidade de carga, que está associada a disponibilidade dos grupos polares (maior para a solução com 4% de quitosana). Quanto maior a densidade de carga, maior o emaranhamento da cadeia e consequentemente o aumento dos módulos (Mir *et al.*, 2011; Zavaleta-Avejar *et al.*, 2014; Luo *et al.*, 2019).

Morais *et al.* (2013), afirmam que quando se aumenta o gradiente de pressão, a organização das cadeias poliméricas da solução é transformada em um alinhamento na direção do fluxo. Assim, quando se aplica uma tensão sobre a amostra, através da utilização de uma seringa, a solução é capaz de escoar (Silva *et al.*, 2006).

Assim, a partir dos ensaios reológicos decidiu-se utilizar as concentrações de 3 e 4% de quitosana no processo de fiação para a obtenção dos fios de quitosana, devido a estas apresentarem propriedades reológicas necessárias para poder ser alimentada e fiada através do perfil, preservando a corrente laminar.

4.2 Cinética de Coagulação

4.2.1 Estudo Preliminar - Determinação do Tempo de Coagulação dos Fios de Quitosana (Cinética de Coagulação)

As propriedades de cinética de coagulação das amostras de 3 e 4% (m/v) de quitosana em 0,16 e 0,21 mol/L de ácido láctico, respectivamente, foram avaliadas com o objetivo de determinar as melhores condições para o processo de coagulação do fio de quitosana, quando utilizado solução coagulante (solução aquosa de NaOH 1 mol/L (70%) e metanol (30%)), quitosana grau médico com massa molar de 270 KDa (conforme apresentado na Tabela 2) e perfil de fiação com abertura de 1 mm.

As soluções de quitosana foram colocadas em seringas de 20 mL e fiadas, em placas de petri contendo a solução coagulante. Todo o processo foi examinado com auxílio de um microscópio ótico, onde foi possível capturar imagens em tempo real do processo, e em seguida avaliar e medir a fronteira entre a região do fio coagulada (raio externo) e não coagulada (raio interno) (Figura 25), com auxílio do software ImageJ (Wisconsin, WI, EUA).

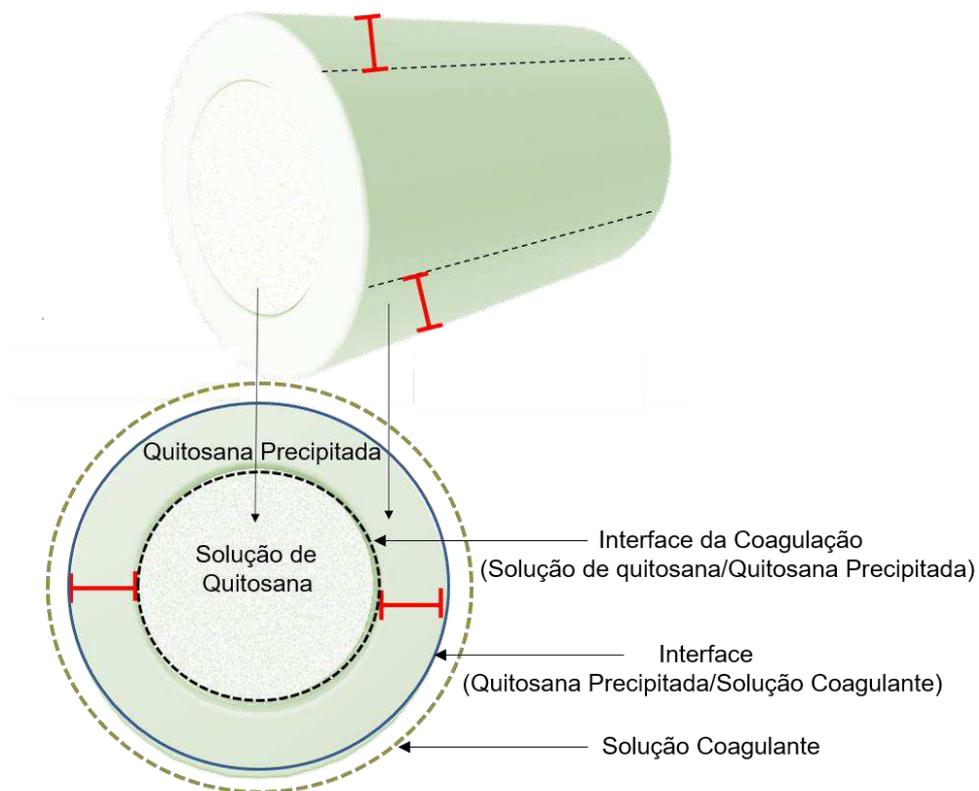


Figura 25 - Esquema representativo da seção transversal e longitudinal dos fios de quitosana no processo de coagulação. Fonte : Arquivo Próprio.

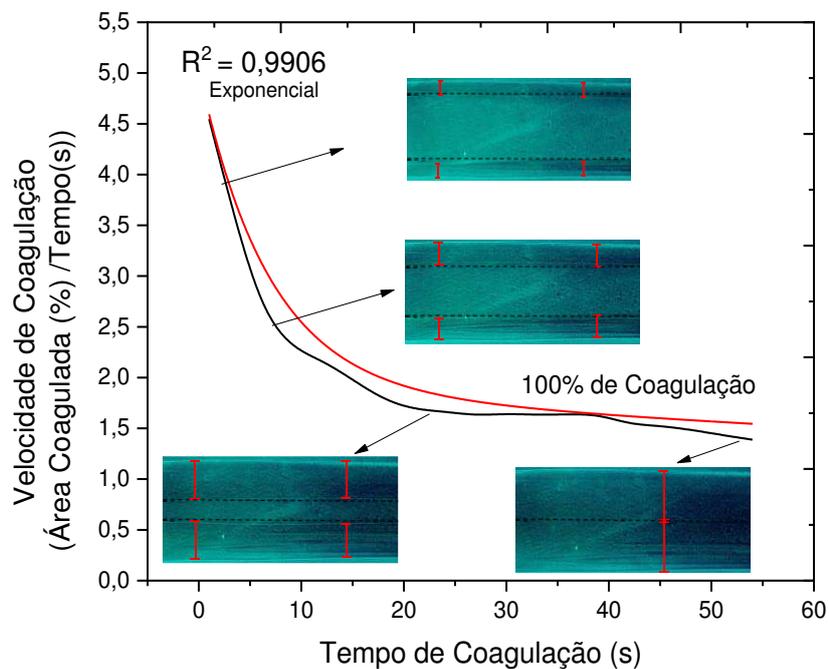
De acordo com Enache *et al.* (2018), o real mecanismo de coagulação da quitosana é muito complexo e não é totalmente comprovado, pois este processo envolve muitos parâmetros, como concentração do polímero, grau de desacetilação, massa molar média, natureza do agente de coagulação, concentração do agente de coagulação, temperatura do banho de coagulação, entre outros fatores.

Durante os instantes iniciais do processo de coagulação é possível observar a presença de dois círculos concêntricos e definidos o círculo externo, já com a quitosana precipitada e o círculo interno, onde tem-se ainda a presença da solução de quitosana. A fronteira entre o polímero coagulado e não coagulado pode ser visualizada (os dois círculos concêntricos) (Figura 25).

A partir das medidas dos raios internos e externos avaliados segundo a segundo, foi possível obter o gráfico de velocidade da área coagulada versus o tempo de coagulação, conforme apresentado na Figura 26 (a) e (b), para os fios com 3 e 4% de quitosana, respectivamente.

Verifica-se que a reação de coagulação foi completa em 54 e 72 segundos para os fios de quitosana 3% e 4% respectivamente (Figura 26 (a) e (b)).

(a)



(b)

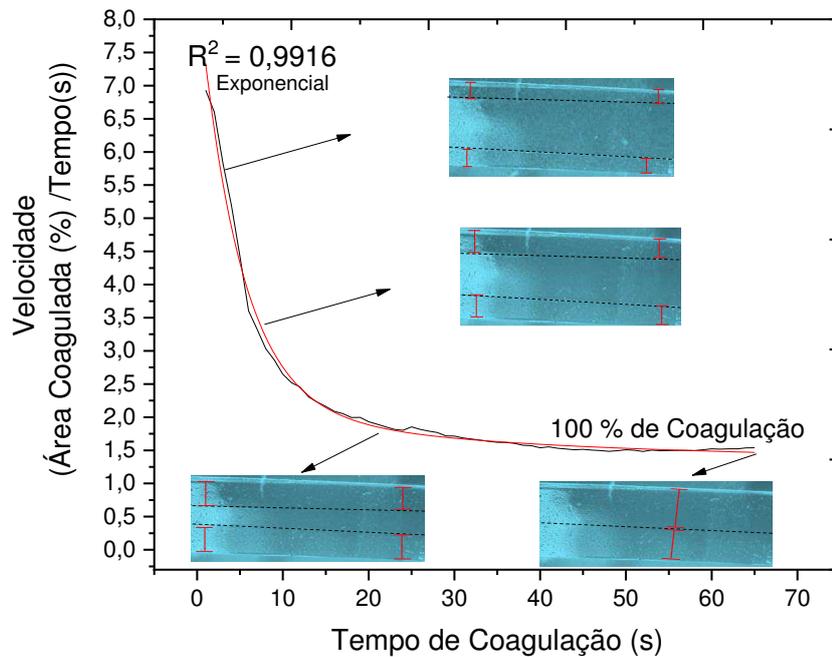


Figura 26 - Esquema representativo da seção transversal do fio de quitosana. (a) Gráfico de velocidade de coagulação (%/s) versus tempo de coagulação (s) do fio de quitosana 3% (b) e do fio de quitosana 4%.

Observa-se ainda que ambos os gráficos apresentaram uma curva de velocidade versus tempo de coagulação (s) exponencial com $r^2=0,99$.

Tem-se que a velocidade de coagulação é maior nos segundo iniciais da reação, o que permite a formação de uma camada densa nos fios, que é formada pela rápida coagulação da superfície. A reação de neutralização entre o NH_3^+ e o OH^- (NaOH) é instantânea, e o que controla a cinética de coagulação no sistema é a difusão do OH^- (NaOH) através da quitosana precipitada (Enache *et al.*, 2018; Knaul e Creber, 1997).

Contudo, tem-se uma velocidade de coagulação lenta no interior do fio formando uma estrutura conhecida como pele-núcleo (Figura 21), conforme será discutido no ensaio de MEV. De acordo com Lavin *et al.* (2013), esse tipo de estrutura é comum em fios obtidos por fiação úmida.

Isto ocorre porque a quitosana encontra-se no estado gelificado no interior da seringa e a partir da atração intermolecular do tipo dipolo-dipolo, entre íons carregados negativamente (OH^-) na solução de NaOH e as aminas protonadas da quitosana (NH_3^+), ocorre a neutralização.

Quando em contato com a solução coagulante a neutralização ocorre inicialmente com uma velocidade maior na parede do fio. A medida que o diâmetro externo da superfície precipitada aumenta essa velocidade de reação diminui devido ao processo de difusão ser dificultado pela presença da formação dessa parede densa (Figura 25).

Tendo-se assim a formação do fio de quitosana, como também do sal, o lactato de sódio, pois o íon lactato (CH_3COO^-) reage com Na^+ . Este sal é eliminado subsequentemente durante os processos de lavagem.

Após o processo de coagulação o pH da solução ($\text{NaOH} + \text{CH}_3\text{OH}$) passou para 12,47 e sua concentração hidroxiliônica para 0,029 mol/L, isso já era esperado pois o $[\text{OH}^-]$ desta solução se ligou ao cátion do NH_3^+ , que apresentava concentração de $3,00 \times 10^{-3}$ mol/L na solução de quitosana.

Logo, verificou-se que a concentração de $[\text{OH}^-]$ consumida, foi maior do que a concentração de amina protonada presente na solução de quitosana, ou seja, além do NH_3^+ , teria ainda uma provável reação onde os cátion e ânion do NaOH estivessem reagindo no sistema. Pelo conceito de força iônica, onde o $[\text{OH}^-]$ da solução coagulante pode está quebrando as ligações de pontes de hidrogênio da água e se ligando aos seus cátions, justificando assim a quantidade maior de concentração hidroxiliônica consumida durante a reação.

Tem-se ainda que essa quantidade excessiva de concentração hidroxiliônica na solução coagulante é viável pois este reagente deve estar em excesso para garantir que toda a reação de neutralização ocorra, e que o reagente limitante (H^+), seja neutralizado. Conclui-se ainda, que o estudo das reações envolvidas no processo como também a concentração hidrogeniônica e hidroxiliônica são de grande importância para racionalizar o uso dos reagentes diminuindo o custo da pesquisa.

4.3 Microscopia Ótica - (MO)

Os fios de 3 e 4% de quitosana, foram analisados por Microscopia Ótica com objetivo de avaliar o aspecto morfológico externo dos fios secos e estes estão apresentados na Figura 27.

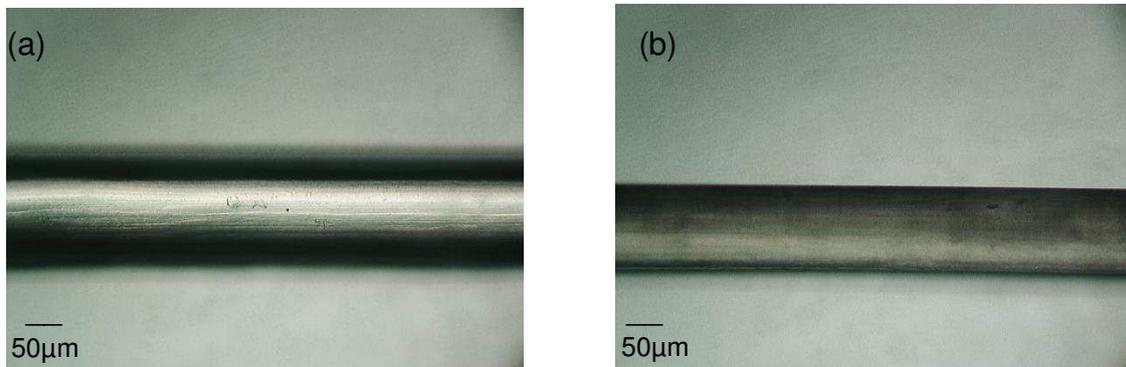


Figura 27 - Imagens obtidas por microscopia ótica do fio seco de quitosana com (a) 3% e (b) 4% de quitosana, com aumento de 350x.

É possível observar nas duas imagens que os fios apresentam uma estrutura cilíndrica, monofilamentar, relativamente lisa e compacta, com aparente ausência de rugosidade e porosidade na superfície. Verifica-se ainda, que os fios apresentam considerável orientação molecular.

Segundo Dresvyanina *et al.* (2013), a orientação dos fios de quitosana é formada durante o fluxo da solução através do orifício da fieira, durante o processo de coagulação, e o grau de orientação depende da tensão aplicada.

Por consequência a orientação das macromoléculas gera uma alteração na sua morfologia, acarretando no aumento da força de tração do fio (Yudin *et al.*, 2014).

De acordo com Barros *et al.* (2011) e Lapointe *et al.* (2016), os fios monofilamentares apresentam-se contínuos com superfícies mais lisas do que os fios multifilamentares, apresentando vantagens como: distribuição uniforme das tensões ao longo do fio e menor risco de infecção, porém possuem menor resistência e um perfil de manipulação menos favorável com tendência para desatar.

Foi possível ainda avaliar a retração do fio durante as etapas do processamento.

A Tabela 4, apresenta a média dos diâmetros dos fios de 3 e 4% de quitosana, durante as seguintes etapas: banho de coagulação, banho de secagem e do fio seco (65°C). Esses dados foram obtidos com auxílio do software ImageJ®.

Tabela 4 - Diâmetro e retração dos fios em diferentes etapas do processamento.

Amostras	Diâmetro do Fio na Solução Coagulante	Diâmetro do Fio na Solução Secagem	Diâmetro do Fio Seco	Retração do Fio (Solução Coagulante e Fio Seco)
3% Quitosana	1302,2 $\mu\text{m} \pm 2,1$	896,3 $\mu\text{m} \pm 20,5$	140,3 $\mu\text{m} \pm 1,8$	89%
4% Quitosana	1105,7 $\mu\text{m} \pm 4,9$	496,0 $\mu\text{m} \pm 16,9$	144,1 $\mu\text{m} \pm 1,1$	87%

Verifica-se que os fios apresentam maiores diâmetros durante a etapa de coagulação, tendo em vista que os fios se encontram úmidos, sendo observado um diâmetro maior para a amostra de 3%.

Este fato pode ser devido esta amostra apresentar um empacotamento estrutural menos acentuado, pela menor quantidade de emaranhamentos da cadeia polimérica, quando comparado com as amostras de 4%, o que acarretou uma maior absorção da solução coagulante, provocando conseqüentemente uma maior retração do diâmetro do fio seco. Onde o valor da retração do fio seco foi de 89% e 87% para as amostras de 3 e 4% de quitosana, respectivamente. Verifica-se ainda que durante a imersão do fio no metanol já ocorreu uma redução considerável do diâmetro do fio, devido a este apresentar uma alta volatilização.

Constatou-se ainda que o diâmetro médio dos fios secos de 3% de quitosana, não apresentou diferença estaticamente significativa com relação aos fios de 4% de quitosana, p-valor=0,064, ou seja, p-valor>0,05. Sendo este diâmetro de 140,3 $\mu\text{m} \pm 1,8$ e 144,1 $\mu\text{m} \pm 1,1$, para 3 e 4% de quitosana respectivamente. O que era esperado, uma vez que uma maior concentração de polímero na solução, eleva o número de cadeias moleculares presentes, aumentando o diâmetro do fio.

Os fios apresentaram visualmente, uma maior resistência após a secagem, podendo ser manuseados e até dobrado várias vezes sem se romper.

A partir das Figura 28, verifica-se que a seção transversal dos fios apresentam-se uniforme e com forma arredondada (Fig. 28 (a) e 28 (b)). Indicando que durante o processamento, após a saída do polímero do perfil, este foi igualmente coagulado ao longo de toda amostra.

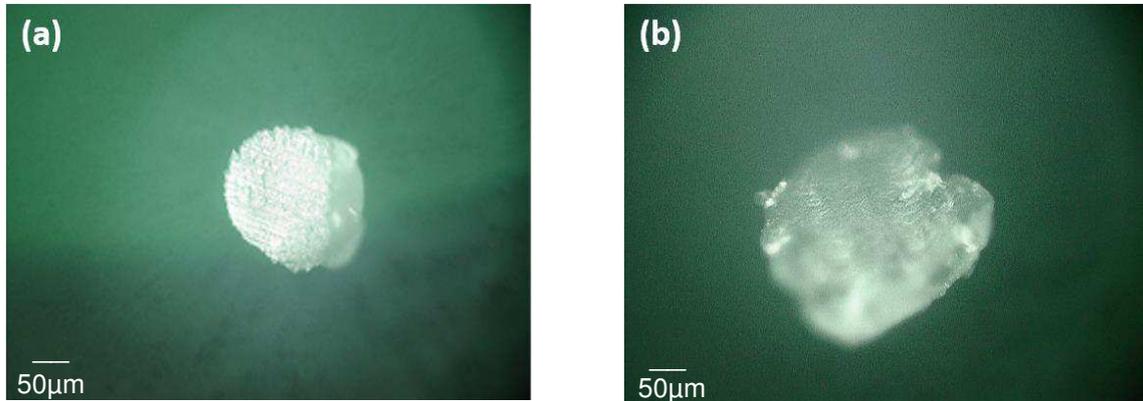


Figura 28 - Imagens obtidas por microscopia ótica da seção transversal do fio de quitosana com (a) 3% de quitosana e (b) 4% de quitosana, com aumento de 350x.

Isso provavelmente ocorreu porque na técnica de fiação úmida, a solução polimérica cai diretamente no banho coagulante, não dando tempo de modificar ou distorcer o perfil do fio (Ma *et al.*, 2013). Corroborando com o estudo preliminar de velocidade de coagulação, onde verifica-se que o fio coagula com uma rápida velocidade, sendo está completa em apenas 72 segundos.

As morfologias da superfície e da seção transversal dos fios secos foram também observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura.

4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV)

A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi utilizada para avaliar a superfície e a seção transversal dos fios. As Figuras 29 e 30 apresentam as imagens de MEV dos fios de quitosana com 3% e 4% (m/v), respectivamente.

A morfologia da superfície dos fios de 3 e 4% de quitosana (Figuras 29 (a) e 30 (a)) foram observadas e verificou-se que ambas as amostras apresentam aspecto uniforme e homogêneo sendo seu formato cilíndrico e bem definido, a formação de fibrilas foi visível. Verifica-se ainda, que aparentemente não há presença de poros na superfície dos fios.

Porém na imagem referente ao fio de 3% (Figuras 29), tem-se uma marca proveniente do perfil utilizado para obtenção dos fios. Observa-se ainda para ambas amostras, uma orientação preferencial dos fios que supostamente advém da força de estiramento conferida durante o processo de extrusão e de secagem.

Dresvyanina *et al.* (2013), sugeriu que este efeito de estiramento durante o processo de fiação ocorre porque as macromoléculas da quitosana foram orientadas na passagem da solução de polímero através do perfil devido a tensões de cisalhamento, resultando em um fio com estrutura orientada e ordenada.

A utilização do metanol no banho de secagem também interfere na superfície do fio, proporcionando a desidratação da mesma, permitindo que os fios apresentem uma superfície lisa e uniforme (Knaul *et al.*, 1998; Cruz *et al.*, 2016).

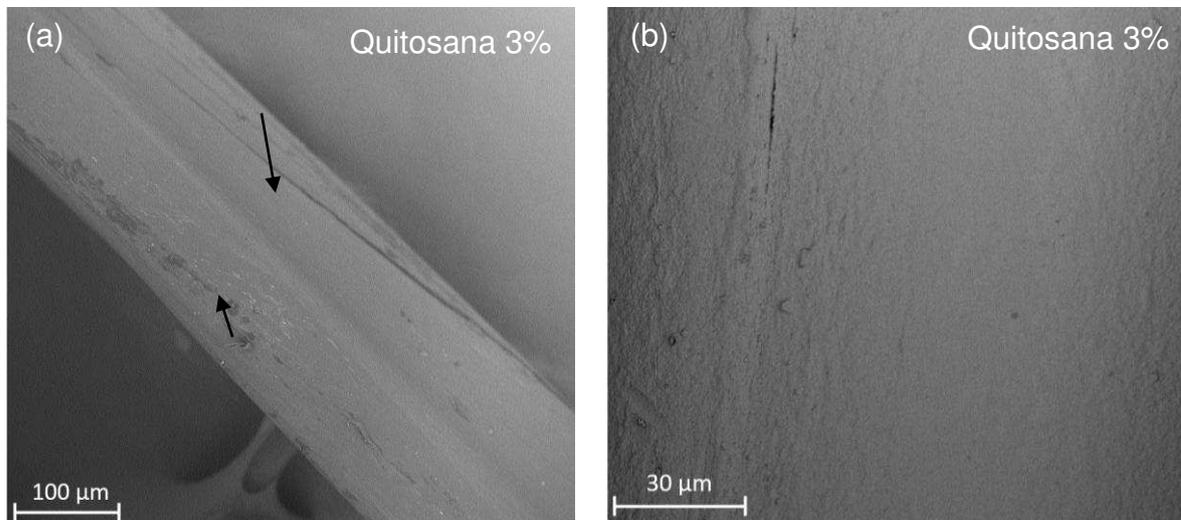


Figura 29 - Micrografias dos fios de quitosana com 3% (a) aumento de 500x e (b) amostra com recobrimento metálico (ouro) com aumento de 2000x.

As micrografias (Figura 29 e 30 (a)) mostram ainda, a presença de resíduos provavelmente de lactato de sódio, advindo da utilização do ácido láctico utilizado na dissolução da quitosana (conforme apresentado na seção 3.2.2).

Sendo este um subproduto não tóxico, que de acordo com Trabold *et al.* (2003), o acúmulo de lactato pode promover a angiogênese e a deposição de colágeno melhorando o processo de cicatrização.

Com as amostras metalizadas e com maiores aumentos (Figura 29 e 30 (b)) foi possível observar a presença de ranhuras, proveniente do processamento e uma maior irregularidade da topografia dos fios.

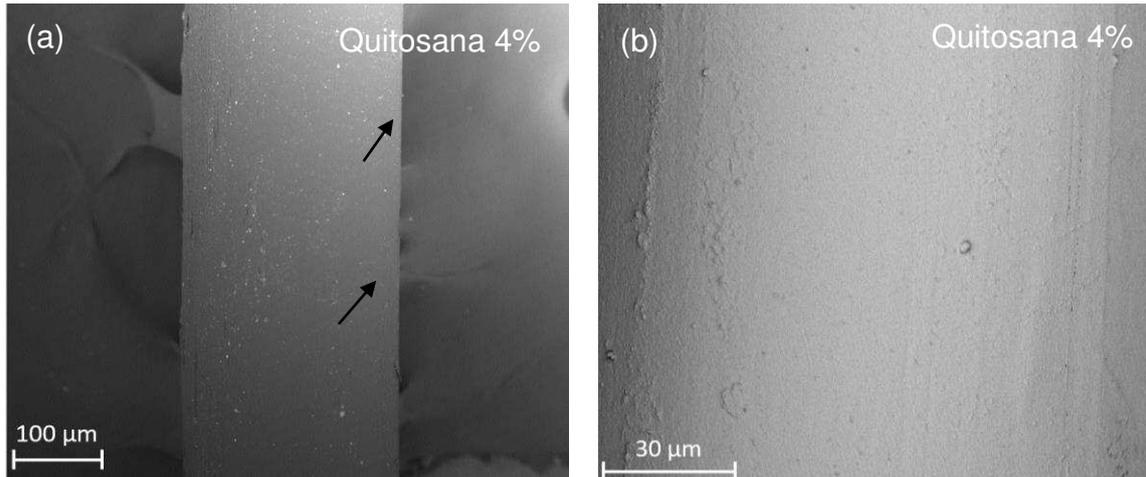


Figura 30 - Micrografias dos fios de quitosana com 4% (a) aumento de 500x e (b) amostra com recobrimento metálico (ouro) com aumento de 2000x.

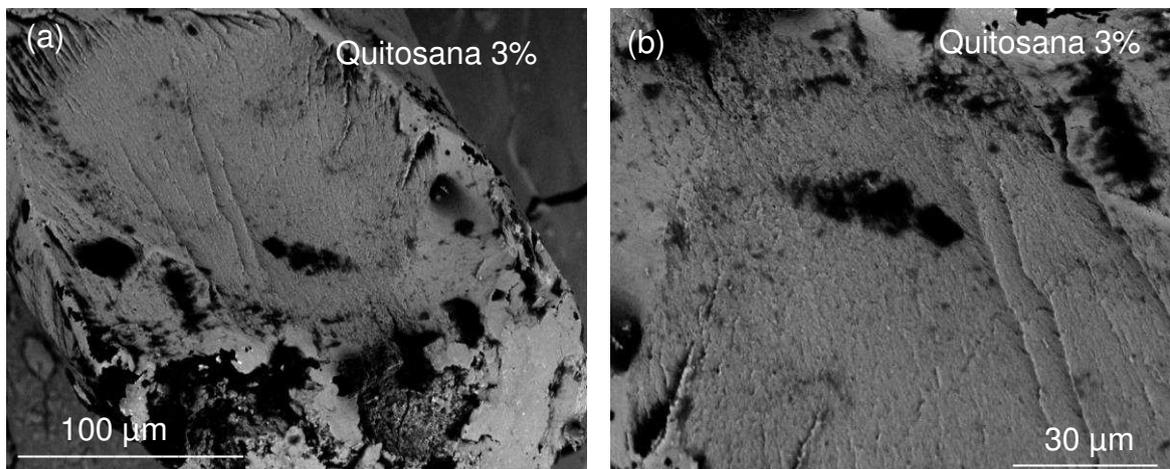


Figura 31 - Micrografias da seção transversal dos fios de quitosana com 3% (a) aumento de 500x e (b) aumento de 2000x.

Analisando as Figuras 31 e 32 tem-se as micrografias da seção transversal dos fios de 3 e 4% de quitosana. Onde é possível verificar a presença de porosidade no interior dos fios, sendo o tamanho médio dos poros do fio de quitosana 3% (Figura 31), de $5,1 \pm 0,8 \mu\text{m}$. Observa-se ainda a presença de marcas escuras que provavelmente são poros, ou espaços vazios, oriundos do processamento devido possivelmente a presença de bolhas.

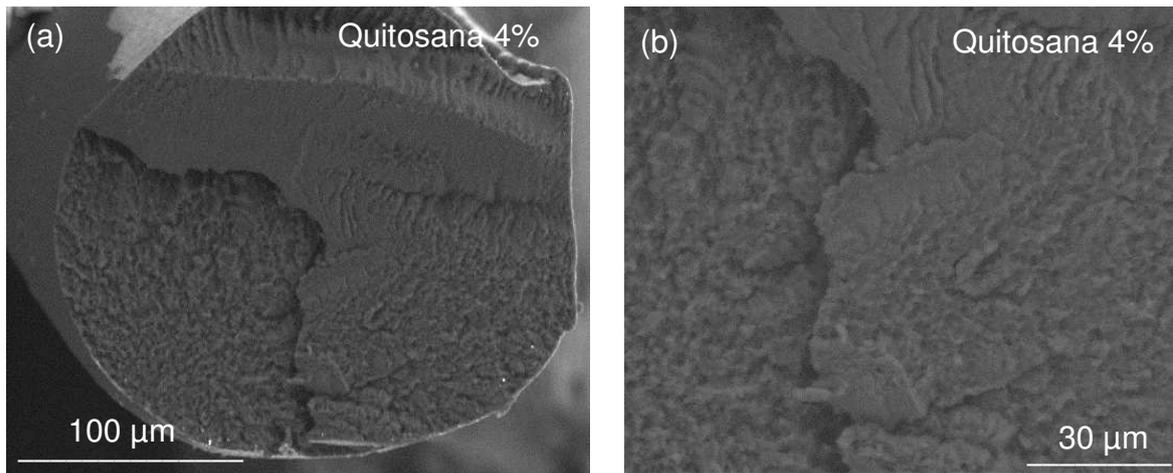


Figura 32 - Micrografias da seção transversal dos fios de quitosana com 4% (a) aumento de 500x e (b) aumento de 2000x.

A partir da Figura 32 (a) verifica-se mais detalhadamente que os fios apresentam uma camada externa densa formada pela rápida coagulação da superfície, e o núcleo uma estrutura com característica porosa, que é formada após o processo de coagulação do fio, esta estrutura é conhecida como “pele-núcleo” (Rissanen *et al.*, 2008). Ou seja, neste caso ocorreu uma velocidade de coagulação lenta no interior da fibra, quando comparada com o tempo de coagulação da camada mais externa. Conforme visto no gráfico de velocidade de coagulação versus tempo, apresentadas nas Figuras 25 e 26, onde tem-se uma rápida velocidade inicial até aproximadamente 10 segundos, onde se dá a formação da “pele” dos fios de quitosana (3 e 4%), seguida pela formação do núcleo que ocorre em uma velocidade menos acentuada, até o processo de coagulação final do fio.

Os fios de quitosana 4% apresentaram tamanho médio dos poros de $5,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$.

As densidades médias dos fios de 3 e 4% de quitosana foram $0,9962 \text{ g/cm}^3$ e $0,9986 \text{ g/cm}^3$ respectivamente, de acordo com o valor calculado por picnometria, conforme disposto no Apêndice H.

4.5 Difractometria de Raios-X - (DRX)

As Figuras 33 e 34 apresentam os difratogramas da quitosana em flocos e dos fios de quitosana 3 e 4% sem e com tensionamento, respectivamente. Estes foram estudados com o objetivo de avaliar o grau de cristalinidade dos fios nestas duas condições.

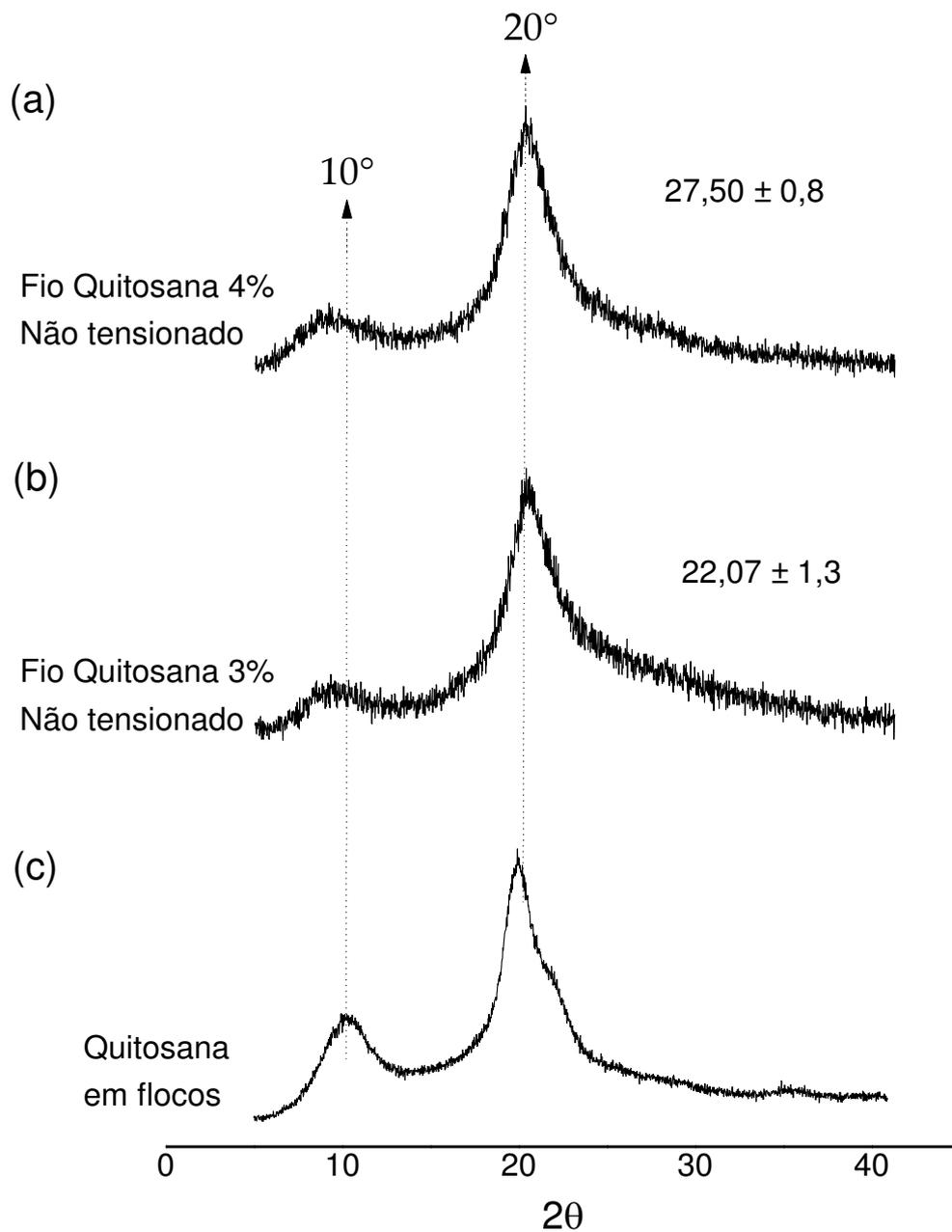


Figura 33 - Difratograma (DRX) da quitosana em flocos e dos fios de quitosana com 3 e 4 % de quitosana, não tensionados.

Verifica-se no difratograma da quitosana em flocos (Figura 33) a presença de dois picos característicos de polímeros semicristalinos, sendo um em torno de $2\theta = 10^\circ$ e outro por volta de $2\theta = 20^\circ$. Esses são picos bem definidos que evidenciam a parte menos amorfa do material.

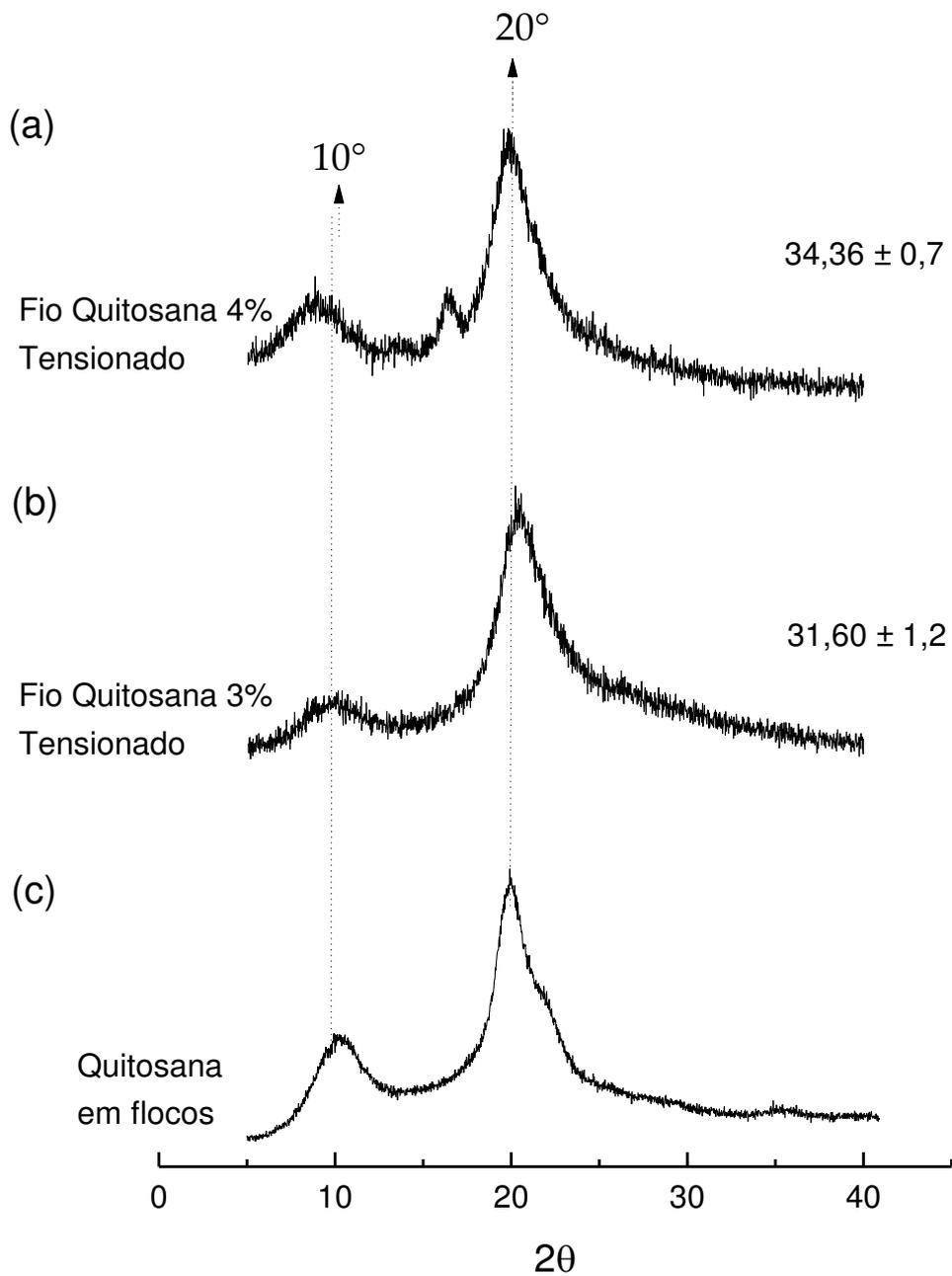


Figura 34 - Difratoogramas (DRX) da quitosana em flocos e dos fios de quitosana com 3 e 4 % de quitosana, tensionados.

As Figuras 33 e 34 apresentam os difratogramas dos fios de quitosana de 3 e 4% sem e com tensionamento, respectivamente, onde pode ser observado em ambas as Figuras, que o pico em aproximadamente $2\theta=20^\circ$ (nas amostras de 3 e 4%) exibiu aumento de apenas 2° no difratograma dos fios, quando comparado com o difratograma, da quitosana em flocos.

Porém, o pico localizado em $2\theta=10^\circ$ apresentou um deslocamento discreto para ângulos menores, como também perda de intensidade, provavelmente isto ocorreu devido a presença do ácido láctico nas amostras que foi utilizado na dissolução da quitosana, que interferiu nas regiões dos cristalitos, dificultando o arranjo ordenado das cadeias poliméricas, e conseqüentemente provocando alterações morfológicas, ou seja, deixando as amostras com características mais amorfas, o que tornou a quitosana mais flexível (Li *et al.*, 2012).

A partir do cálculo do grau de cristalinidade (%) realizado através da razão das áreas dos picos com a área total da amostra, observou-se que os fios de 4% (m/v) de quitosana apresentaram uma maior cristalinidade quando comparada com as amostras de 3% (m/v). Em ambas as condições, as não tensionadas (Figura 33) e tensionadas (Figura 34) isto já se era esperado, uma vez que, quanto maior a concentração do polímero (peso molecular), maior o empacotamento das cadeias, o que acarreta em uma maior orientação molecular (no estiramento), conseqüentemente um maior grau de cristalinidade nas amostras, ocasionando maior força de tração (N).

Na Figura 34, no difratograma dos fios tensionados verifica-se que as amostras de 3 e 4% (m/v) de quitosana, apresentaram valores maiores de cristalinidade de 31,60% e 34,36% respectivamente, quando comparado com os valores dos fios não tensionados (Figura 33), onde esses valores de cristalinidade foram de 22,07% para a amostra de 3% (m/v) e 27,50% para a de 4% (m/v) de quitosana. Ainda é possível observar no difratograma da amostra de 4% o aparecimento de um pico em aproximadamente $16,3^\circ$, característico do hidróxido de sódio (NaOH) utilizado como coagulante, durante o processo de obtenção dos fios, provavelmente o processo de lavagem deste fio não ocorreu de forma efetiva.

Provavelmente este aumento de cristalinidade nos fios tensionados ocorre pelo fato que durante o processamento, na etapa de secagem, os fios são imersos no metanol e depois estirados, o que permite o aumento do grau de cristalinidade pela orientação dos cristais paralelamente ao eixo dos fios (Copeland *et al.*, 2015). Acarretando assim um aumento considerável nas propriedades mecânicas dos fios (Albanna *et al.*, 2013a) conforme será apresentado nos resultados de ensaio a tração (Figura 35).

4.6 Propriedades Mecânicas sob Tração

Nos fios de sutura propriedades mecânicas como a força de tração (N), módulo de Young, tensão máxima e o alongamento, são características importantes que determinam o desempenho funcional desse tipo de material. Inicialmente foi avaliada a força de tração (N) dos fios de 3 e 4% de quitosana com e sem tensionamento durante a secagem, conforme apresentado na Figura 35.

A resistência à tração foi definida como a força de tração (N) medida na falha, ou no rompimento do fio.

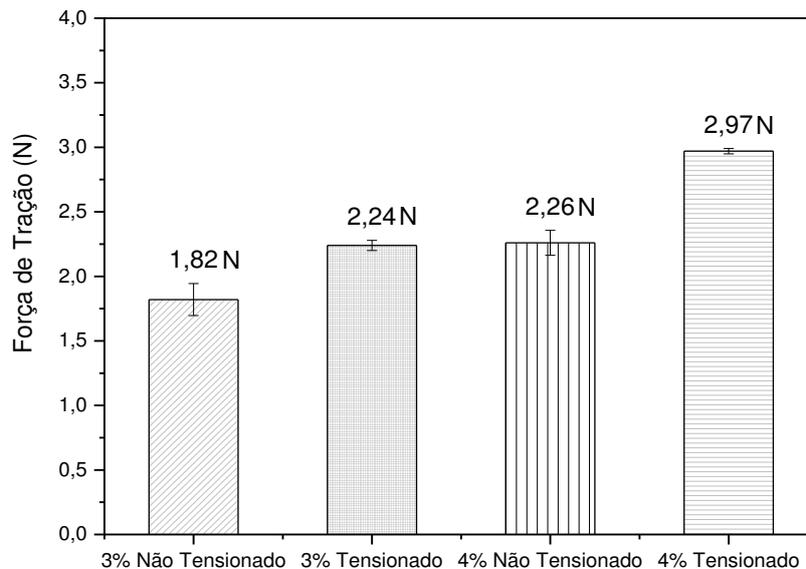


Figura 35 - Gráfico de força de tração (N) dos fios de 3 e 4% de quitosana tensionados e não tensionados.

Verifica-se que as amostras de 4% de quitosana apresentam propriedades mecânicas de força de tração (N), superiores as amostras de 3%. Isso ocorre, pois, o aumento da concentração do polímero, acarreta uma maior quantidade de regiões amorfas, o que gera maior emaranhamento. Posteriormente, com o tensionamento dos fios ocorre o alongamento das cadeias, permitindo maior cristalinidade devido a maior ordem molecular, conferindo assim uma maior resistência aos fios de 4%. Tem-se ainda que, como os fios de 3% apresentam densidade de $0,9962 \text{ g/cm}^3$ e o de 4% de $0,9986 \text{ g/cm}^3$, sendo o volume o mesmo para ambas as amostras, tem-se um maior número de cadeias (massa) para as amostras de 4%.

O aumento da carga suportada dos fios tensionado foi de 23,07% e 31,41% para 3 e 4% respectivamente, sendo esta diferença entre as médias dos fios tensionados e não tensionados para ambas as amostras (3% e 4%) estatisticamente significativa apresentando p-valor=0,003 para 3% e p-valor=0,0004 para 4%, ou seja, ambos apresentaram p-valor < 0,05.

Conclui-se, portanto, que o fator crucial que determinou um melhor desempenho mecânico foi a tensão aplicada nos fios durante o processo de secagem.

Provavelmente, este fenômeno ocorre porque após o estiramento as cadeias do polímero ficam orientadas, o que influenciam diretamente no aumento das propriedades mecânicas sob tração. Segundo Sweeney *et al.* (2014), o alinhamento dos fios causa maior força de tração ao longo da direção de carregamento.

Na literatura é possível encontrar trabalhos que relatam o aumento da força de tração ser proporcional ao estiramento dos fios. Bajaj *et al.* (2002), avaliaram a influência do grau de estiramento dos fios de três copolímeros; poli (acrilonitrila/acrilato de metila), poli (acrilonitrila/ácido metacrílico) e poli (acrilonitrila/ácido itacónico), no aumento das propriedades sobre tração dos fios. Copeland *et al.* (2015), obteve fios de seda natural, a partir da proteína do leite de cabra, pelo método de fiação úmida. Em seguida foi aplicado um estiramento após o processo de coagulação e verificou-se que houve aumento das propriedades mecânicas dos fios, pelo alinhamento das cadeias.

Com relação ao ensaio de tração analisou-se ainda a resistência dos fios tensionados com nó, conforme a Norma de Fios para Sutura Cirúrgica - NBR13904, como também no ambiente úmido com e sem nó. O ensaio mecânico também foi realizado em condições a úmido, onde os fios permaneceram 5 min em solução de PBS e obtiveram intumescimento de aproximadamente 8% e 22% para os fios de quitosana de 4 e 3% respectivamente, corroborando com os dados apresentados no resultado de Grau de Intumescimento, Figura 36.

Observou-se visualmente que os fios ficaram hidratados, macios e mais elásticos. Ressalta-se que, o comportamento mecânico dos fios no estado úmido é extremamente importante prevendo as propriedades mecânicas *in vivo*, dado que as suturas são implantadas em tecido constituído por fluido extracelular.

A Tabela 5 apresenta a força de tração dos fios de 3 e 4% de quitosana, com os fios seco e úmido e com e sem nó.

Tabela 5 - Propriedades mecânicas dos fios tensionados de 3 e 4% de quitosana, secos e úmidos com e sem a presença do nó.

Tipo de Fios	Amostras	Força a Tração (N)	Diâmetro (mm)	Alongamento (%)	Módulo de Young (GPa)	Tensão Máxima (MPa)
3%	Sem Nó	2,74 ± 0,34	0,140 ± 0,002	6,68 ± 0,63	18,79 ± 5,14	186,59 ± 19,99
	Com Nó	1,06 ± 0,66	0,142 ± 0,002	9,23 ± 2,23	7,49 ± 1,21	47,43 ± 10,01
	Úmido Sem Nó	2,29 ± 0,50	0,170 ± 0,009	17,19 ± 3,90	3,89 ± 0,16	118,90 ± 31,14
	Úmido Com Nó	1,56 ± 0,14	0,173 ± 0,006	15,00 ± 3,55	0,51 ± 0,11	85,93 ± 28,58
4%	Sem Nó	4,27 ± 0,49	0,145 ± 0,002	8,91 ± 1,07	25,18 ± 0,14	260,99 ± 25,07
	Com Nó	2,35 ± 0,46	0,144 ± 0,000	10,48 ± 4,27	17,79 ± 0,24	127,12 ± 32,87
	Úmido Sem Nó	2,98 ± 0,51	0,154 ± 0,012	15,98 ± 5,33	6,18 ± 0,27	170,93 ± 29,81
	Úmido Com Nó	2,67 ± 0,69	0,153 ± 0,004	9,40 ± 2,78	1,15 ± 0,33	104,42 ± 22,31

Os dados foram obtidos a partir de 10 fios de quitosana para cada amostra e condição reportada. Destaca-se que nenhum fio apresentou valores fora da especificação individual, conforme a norma NBR13904:2003.

Torna-se de extrema importância o teste com o nó, pois, as suturas também devem possuir segurança significativa e serem capazes de ser amarradas de tal forma que os nós não deslizem.

De acordo com a Tabela 5, observa-se que a presença do nó nos fios, em todas as amostras (3 e 4%) no estado úmido ou seco, acarretou na diminuição da força de tração (N) diferindo-os estatisticamente com p-valor < 0,05, nas duas condições avaliadas. Sendo este fenômeno mais intenso para as amostras secas. Isto ocorre, devido a região do nó ser o ponto mais fraco do fio de sutura, pois tem-se a redução do diâmetro do fio e a concentração da força de tensão nesta área (Greenberg e Goldman, 2013; Muffly *et al.*, 2010).

Segundo Lapotinte *et al.* (2016) e Kostuj *et al.* (2015), independentemente da configuração do nó e do tipo de material usado, o ponto mais fraco de um fio de sutura cirúrgica é o nó, a fratura no fio ocorre sempre no ponto perto dessa região, que é a falha mais comum de fios de sutura. Ainda é importante destacar, que a configuração do nó também é a base da cicatrização do tecido. Segundo Greenberg e Clark (2009); Dart e Dart (2011), a redução da força à tração pode ser de 35-95% dependendo do material de sutura utilizado.

Como os fios obtidos são para possível aplicação como fios de sutura, a Tabela 6, mostra os valores de força a tração que os fios de suturas devem apresentar de acordo com seu respectivo diâmetro, segundo a Norma Brasileira, para Fios de Sutura cirúrgico ABNT NBR 13904.

Tabela 6 - Valores dos Diâmetros e Força a Tração de acordo com as Normas para Fios de Sutura cirúrgico ABNT NBR 13904.

Número		Diâmetro (mm)		Força a Tração (N)
Cirúrgico	Métrico	Mínimo	Máximo	
6-0	1	0,100	0,149	1,77
5-0	1,5	0,150	0,199	3,73
4-0	2	0,200	0,249	7,55

De acordo com a Tabela 5, verifica-se que os todos os fios de quitosana na condição seca, apresentaram média de diâmetro de 0,145 – 0,148 mm, que de acordo com a Norma ABNT NBR 13904, tem número cirúrgico 6-0, e média de valor mínimo de força a tração de 1,77 N (Tabela 6). Obtiveram-se valores superiores para todas as amostras de 4% de quitosana com e sem nó, nas condições úmida e secas, sendo a no estado seco a que apresentou maior porcentagem de força de tração (N), tendo um aumento de 141,2% com relação ao valor indicado na norma.

Porém para os fios de 3% com nó (úmido e seco), não foi possível obter valores satisfatórios de força a tração, provavelmente devido os vazios nas estruturas, conforme visto no MEV (Figura 31). Conforme citado anteriormente a avaliação estatística das médias entre as amostras de 3% com e sem nó, apresentou um p-valor < 0,05 identificando que essas amostras apresentam médias estatisticamente significante. Ou seja, tem-se interferência significante entre as amostras devido a presença do nó nos fios.

A partir dos resultados do ensaio de reologia reportados anteriormente (Figura 23), verificou-se que a amostra de 4% de quitosana apresentava maior viscosidade, como também maior cristalinidade vista pelo DRX (Figuras 33 e 34) e densidade, sendo assim, já era esperado que o fio de 4% de quitosana apresentaria resultados mais satisfatórios de força de tração (N).

Até o momento analisou-se as propriedades mecânicas dos fios de quitosana apenas pela força de tração (N), com base na NBR para Fios de Sutura Cirúrgicos, uma vez que, pretende-se obter um produto para ser comercializado. Porém, considerando que as avaliações das propriedades mecânicas devem ser feitas com bases na área transversal do fio avaliou-se também a tensão máxima, seguido do módulo de elasticidade (módulo de Young), e o alongamento, pois essas características são essências, dentro da Engenharia de Materiais, para avaliar de forma mais efetiva as características finais dos fios sutura.

Observa-se na Tabela 5, que todos os fios submetidos a tração no estado úmido (tanto com nó como sem nó), apresentaram maiores alongamentos. Provavelmente a água ao penetrar entre as cadeias poliméricas facilitou a movimentação proporcionando uma maior flexibilidade aos fios, aumentando assim seus valores de alongamento (Judawisastra *et al.*, 2012).

Porém, o aumento do alongamento, provocou a diminuição do módulo de Young e da tensão máxima. Com relação aos fios em condições seca, vemos um efeito contrário com relação as essas propriedades mecânicas, o alongamento diminui e o módulo e a tensão aumentaram.

Segundo Vehoff *et al.* (2007), isso ocorre pois a água penetra facilmente no fio, sendo então incorporado na matriz amorfa e assumindo que essa hidratação interfere nas ligações de hidrogênio entre as cadeias amorfas o que, por sua vez, leva a perda da rigidez, aumentando a flexibilidade das cadeias, ou seja, a água tem um efeito de plastificante.

Resultados semelhantes foram reportados por Notin *et al.* (2006b), onde observou-se que a resistência dos fios de quitosana eram sensíveis a presença da umidade, ou seja, quando aumentava a hidratação do sistema, aumentava o alongamento, enquanto que a tensão e o módulo de Young apresentava uma redução significativa. E que sem a hidratação dos fios, o fenômeno ocorria de forma inversa, o alongamento diminui, e o módulo de Young e a tensão máxima aumentaram.

O módulo de Young, representa a deformação dos fios de quitosana apenas na zona elástica, esta zona é responsável por apresentar deformações que não são permanentes aos fios, ou seja, após a retirada do esforço aplicado, o fio volta ao seu estado inicial, sem que tenha ocorrido a quebra das ligações.

Verifica-se que os fios com 4% de quitosana (em todas as condições analisadas), foram os que apresentaram maiores valores de módulo de Young, ou seja, maiores valores de módulo de elasticidade, quando comparado com os fios de 3% (p -valor $< 0,05$).

Sendo o valor mais expressivo do módulo elástico de $25,18 \pm 0,14$ GPa, para os fios de 4% em condições não úmida. Pois, como visto anteriormente, o aumento de alongamento nos fios a úmido, ocasiona o abaixamento dos valores de tensão e do módulo de Young.

Segundo Barros *et al.* (2011), Alves *et al.* (2017) e Dart e Dart (2017), um alto valor de alongamento permite que a sutura seja capaz de esticar à medida que as feridas incham e depois recuperar a sua forma e o comprimento original à medida que o inchaço diminui, isso mantém boa posição ao tecido durante a cicatrização, como também as bordas das feridas bem próximas. Um bom fio de sutura deve ainda ser maleável e flexível para facilitar o seu manuseamento.

Com relação a tensão percebe-se que maiores valores de tensão máxima foi alcançada também para a amostra de 4% em condição seca e sem nó. Isto já era esperado, pois, conforme discutido anteriormente, uma maior concentração polimérica, promove um maior emaranhamento das cadeias e que conforme o DRX (Figura 34), apresenta uma maior cristalinidade ocasionando maior força de tração (N), e conseqüentemente uma maior tensão máxima.

Cruz *et al.* (2016), avaliaram fios de quitosana com diâmetro entre 0,100-0,149 mm, categorizados também com número cirúrgico 6-0, e observou-se que o aumento na concentração do polímero ocasionou também no aumento da carga máxima suportada (N), sendo esse valor mais expressivo para amostra de 2,5% de quitosana dissolvida em ácido lático, porém, este estudo apresentou resultados contrários ao nosso, pois tanto a tensão máxima quanto o módulo de Young diminuíram, com o aumento da força de tração (N).

4.7 Grau de Intumescimento - (GI)

O grau de intumescimento dos fios de 3 e 4% de quitosana, foi avaliado a partir da absorção da solução de PBS até 24 h, e pode ser observado na Figura 36.

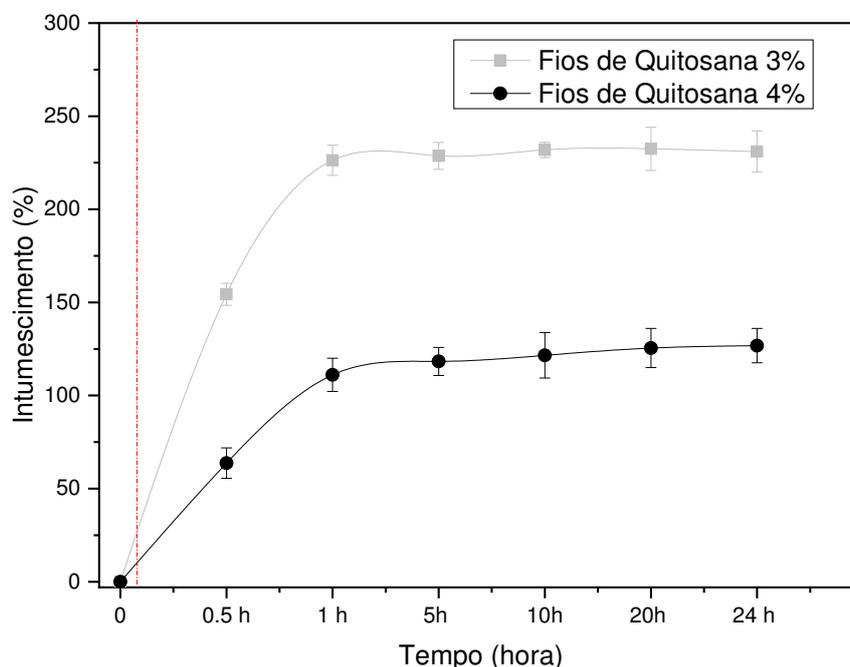


Figura 36 - Grau de Intumescimento médio para os fios com 3 e 4 % de quitosana.

Analisando a Figura 36, foi possível observar que a absorção de ambos os fios tem crescimento até 1 h de análise, em seguida tem-se um crescimento discreto até 10 h, onde os fios atingem um valor estável de absorção, sendo o valor médio de intumescimento após 24 h de $231,0\% \pm 11,1$ e $126,8\% \pm 9,2$ para os fios de 3 e 4% de quitosana, respectivamente. Nota-se que todas as composições apresentaram alta capacidade de absorção e habilidade de retenção da solução, uma vez que absorvem mais água do que seus próprios pesos, isto é, valores individuais $>100\%$.

De acordo com Yodkhum & Phaechamud (2014), a absorção de água em materiais a base de quitosana ocorre pela formação de ligações de hidrogênio entre moléculas de água e os hidrogênios presente na quitosana (sendo o grupo hidroxilo - OH e grupo amino livre - NH_2).

Além da ligação de hidrogênio, a quitosana exibe uma propriedade de inchamento sensível ao pH que é facilitada pela interação iônica nos grupos amino livres. Em um ambiente com solução tampão fosfato (pH 7,4) que é superior ao valor de pKa do grupo amino de quitosana (pKa ~ 6,5), os fios provavelmente absorvem solução em uma taxa mais lenta.

Verificou-se também que os fios de 3% apresentaram um grau de intumescimento bem maior, do que os fios de 4% de quitosana, ou seja, o valor de absorção diminuiu com o aumento da concentração de quitosana no fio.

Esse fato pode ser explicado devido a uma maior porcentagem de quitosana no fio (4%), o que o torna mais denso, com maior rigidez molecular do polímero, o que provavelmente dificulta a movimentação da molécula de água na estrutura da fibra, devido a ocorrência de menos espaços para a penetração, reduzindo a porcentagem de intumescimento.

Apesar de serem intumescidas até alta proporção, as amostras visualmente, preservaram sua morfologia após o tempo de incubação em solução aquosa.

Taghizadeh e Davari (2006), relataram em seu trabalho que a composição química do polímero, o grau de desacetilação, a massa molecular, a cristalinidade do polímero e o pH do meio, são fatores que afetam tanto o grau de intumescimento quanto a degradação do material a base de quitosana.

4.8 Biodegradação *in vitro*

A velocidade à qual os fios de quitosana degrada, desempenha um papel essencial para a regeneração tecidual, uma vez que as taxas de degradação desses fios devem ser capazes de corresponder à velocidade de cicatrização dos tecidos. O estudo de biodegradação *in vitro*, foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da biodegradação na solução de PBS e PBS/lisozima em dias pré-determinados, avaliando a perda de peso, o espectro de FTIR, a morfologia através do MEV, e a força de tração após 21 dias de degradação dos fios de quitosana com 3 e 4% de quitosana. Os fios foram imersos em solução de Tampão Fosfato Salino (PBS) com pH 7, e em soluções de PBS com a enzima lisozima na concentração de 1,5 µg/mL.

4.8.1 Análise por Perda de Massa

A Figura 37 apresenta o gráfico com os valores de perda de peso para as amostras de 3 e 4% de quitosana em solução de PBS e PBS/Lisozima.

O estudo de biodegradação realizado após 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias em PBS e sob a ação da lisozima revelaram pequenas diferenças nos fios de 3 e 4% de quitosana.

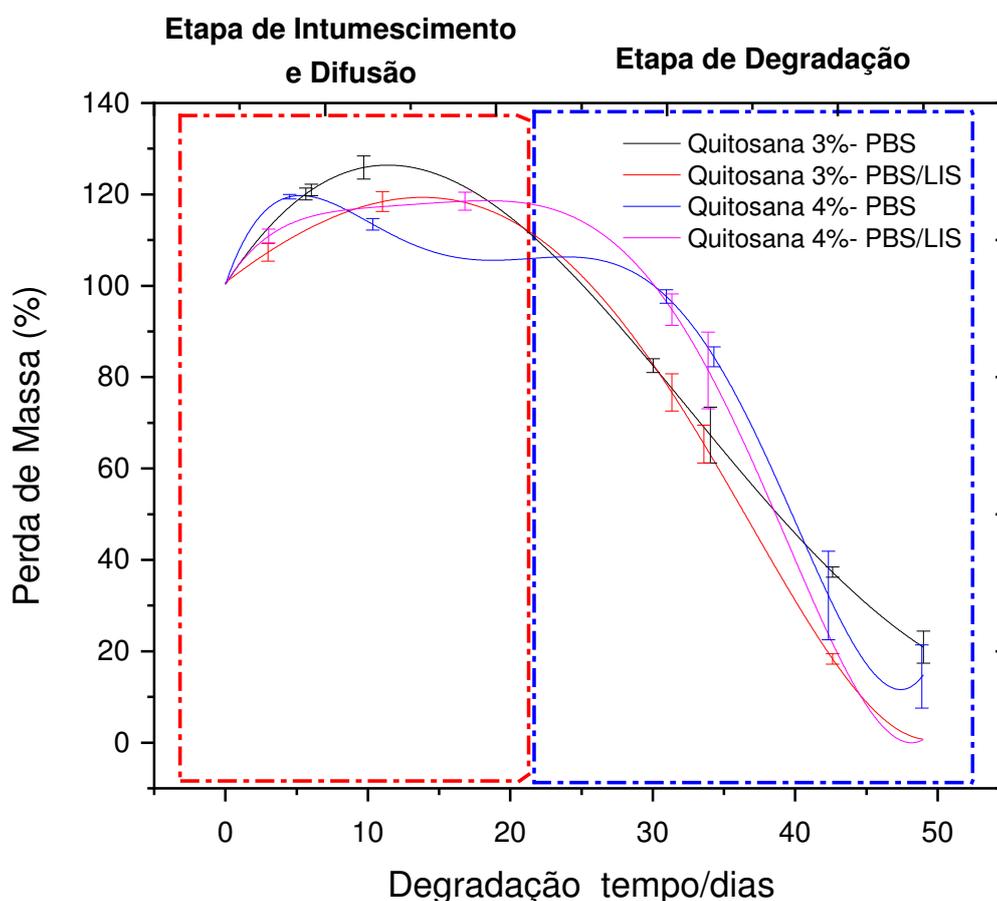


Figura 37 - Gráfico de biodegradação dos fios de 3 e 4% de quitosana em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias.

Conforme observado na Figura 37, o início da perda de peso iniciou-se no período de 28 dias para todas amostras, em até 21 dias de análise verificou-se o processo de intumescimento em todos os sistemas.

Isto pode ser explicado pelo fato da degradação hidrolítica iniciar-se nas áreas amorfas da cadeia polimérica onde as moléculas de água são mais facilmente difundidas, quando comparada com a região cristalina, que possui uma região densamente ordenada.

Assim sendo, no período de intumescimento e difusão ocorre a primeira etapa (3 semanas) do processo de degradação que se caracteriza pela perda da força à tração, seguida da segunda etapa que ocorre quando as regiões cristalinas começam a serem afetadas, ocorrendo a perda da massa polimérica pela degradação, provavelmente isto explica o fato da perda de massa só ocorrer a partir 21 dias (Sun *et al.*, 2015).

Tem-se ainda que as composições de 3 e 4% de quitosana analisadas em solução PBS, apresentaram alteração menos significativa na perda de massa no período de 35 dias, do que no meio PBS/lisozima. Isso ocorreu devido ausência da espécie aceleradora de decomposição, a lisozima.

Verificou-se diferenças estatisticamente significativas entre as médias das amostras imersas em solução de PBS e PBS/Lisozima, onde obteve-se um p-valor = 0,041 para as amostras de 3% e de 0,042 para as de 4%, ambas com p-valor < 0,05, ou seja, existe diferença significativa entre os fios avaliados na solução de PBS quando comparada com PBS/Lisozima.

Resultados semelhantes foram apresentados por Medeiros *et al.* (2016), que descreveram uma maior atividade de degradação para as amostras de quitosana em solução enzimática (lisozima), no seu estudo realizado com esferas de quitosana com a adição do extrato de mastruz. Wu *et al.* (2018), também relataram que ocorreu uma degradação mais significativa nos fios de quitina contendo a presença da lisozima.

Essa atividade de degradação da quitosana, ocorre no corpo humano principalmente pela despolimerização enzimática, que ocorre através da hidrólise da lisozima (que é uma enzima presente no corpo), sobre as ligações glicosídicas presentes na estrutura química da quitosana (Nordtveit *et al.*, 1994; Kang *et al.*, 2017; Laranjeira e Fávere, 2009). A degradação enzimática da quitosana geralmente leva à liberação de monossacarídeo biocompatíveis, não tóxicos e não causam inflamação significativa ou dano tecidual, que podem ser incorporados nas vias metabólicas ou serem posteriormente excretados (Pangburn *et al.*, 1982; Li *et al.*, 1992; Kumar, 2000; Wang *et al.*, 2003; Kean e Thanou, 2010; Lizardi-Mendoza *et al.*, 2016).

Foi possível ainda observar que a perda de peso, ou seja, a degradação da quitosana é inversamente proporcional ao grau de cristalinidade, conforme visto na análise de DRX (Figura 33 e 34) que as amostras de 4% de quitosana apresentam

uma cristalinidade discretamente maior, quando comparada com as amostras de 3%, o que ocasiona uma degradação mais lenta.

Sendo assim, tem-se que a biodegradação total ocorreu em 49 dias para as amostras em PBS/lisozima de 3 e 4%. E para os fios de 3 e 4% em solução de PBS, verificou-se que não ocorreu a degradação total neste período, sendo a perda de massa de $(85\% \pm 6,9)$ e $(79\% \pm 3,49)$, respectivamente para os fios de 3 e 4%.

4.8.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier - (FTIR) para evidenciar a biodegradação.

Para observar as mudanças estruturais que ocorreram como resultado da degradação, utilizou-se a análise FTIR nas amostras dos fios de 3 e 4% de quitosana não submetidas a biodegradação e após o ensaio em 49 dias em solução de PBS e PBS/Lisozima (Figura 38 e 39). Sendo esta análise realizada com base na identificação dos grupos funcionais presentes nas moléculas de quitosana.

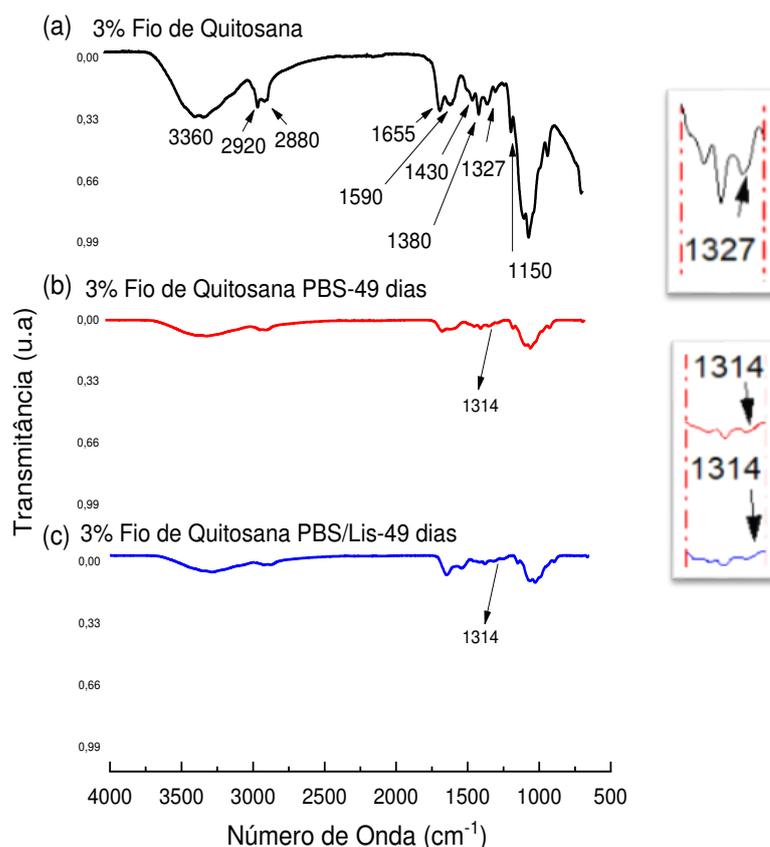


Figura 38 - Espectro de FTIR dos fios de 3% de quitosana, antes (a) e após o ensaio de biodegradação em solução de PBS (b) e PBS/lisozima (c) no período de 49 dias.

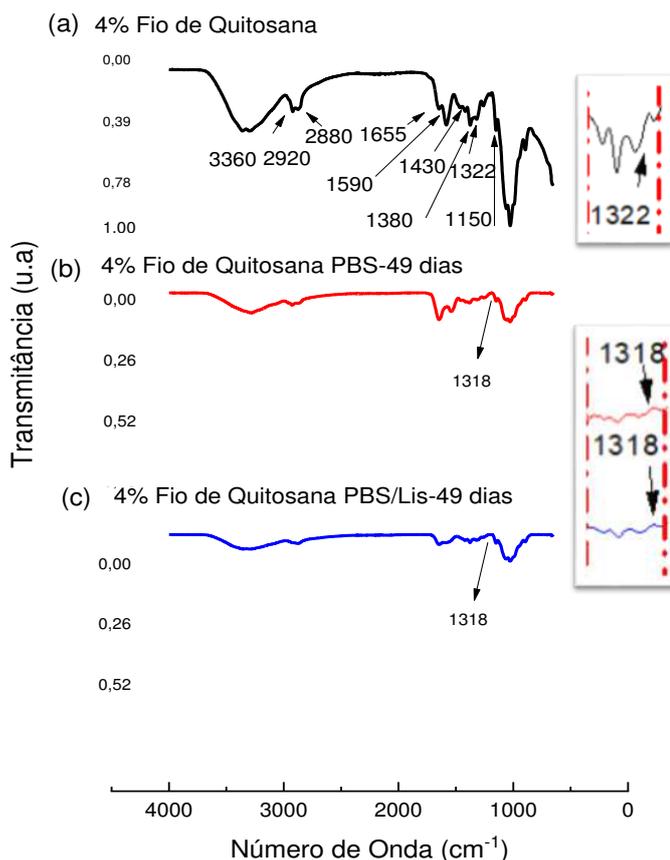


Figura 39 – Espectro de FTIR dos fios de 4% de quitosana, antes e após o ensaio de biodegradação em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 49 dias.

Nos espectros dos fios de quitosana de 3% e 4% não submetido ao ensaio de biodegradação (Figura 38 (a) e 39 (a)), verificam as bandas correspondes a quitosana sendo estas em 3360 cm^{-1} referente a alongamento do grupo NH.

Já as bandas em 2920 , 2880 , 1430 , 1327 cm^{-1} são bandas de absorção de estiramento simétricas e assimétricas do alongamento do CH_2 , em 1655 cm^{-1} tem-se o $\text{C}=\text{O}$ do grupo amida (amida I), em 1560 cm^{-1} da deformação angular do NH do grupo amida. Em 1380 cm^{-1} tem-se a banda referente ao radical alquil da amida, em 1590 cm^{-1} o NH_2 da amina, e em 1150 cm^{-1} observa-se a região indicativa à deformação axial simétrica de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ da ligação glicosídica (Mucha e Pawlak, 2002).

Foi possível observar nas Figuras 38 e 39, para as amostras de 3 e 4% de quitosana analisadas na solução de PBS e PBS/Lisozima um comportamento semelhante, onde verifica-se que as bandas referentes aos fios não submetidas ao processo de biodegradação apresentam maior intensidade, do que o espectro das amostras em PBS e PBS/Lisozima.

As Figuras 40 e 41 apresentam detalhes dos espectros das bandas de absorção nos fios de 3 e 4% de quitosana, respectivamente.

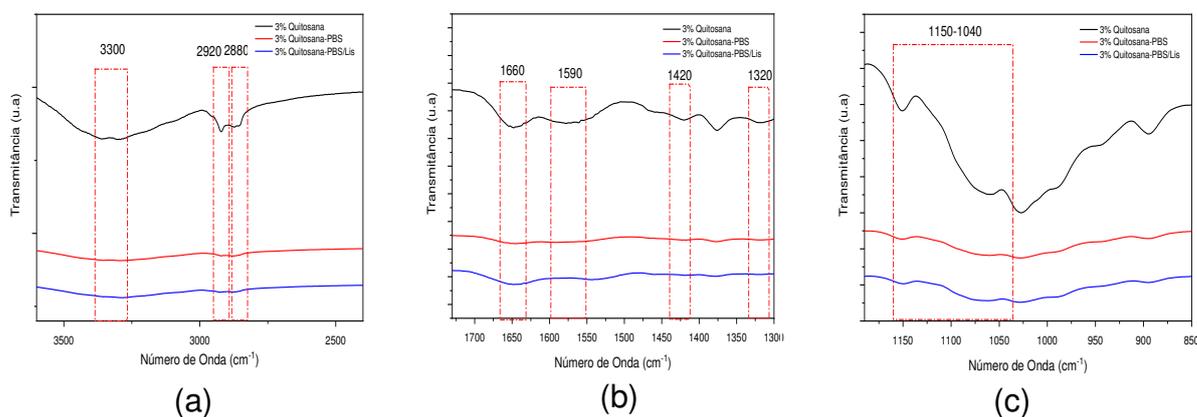


Figura 40 – Detalhe dos espectros de FTIR de várias bandas de absorção nos fios de 3% de quitosana.

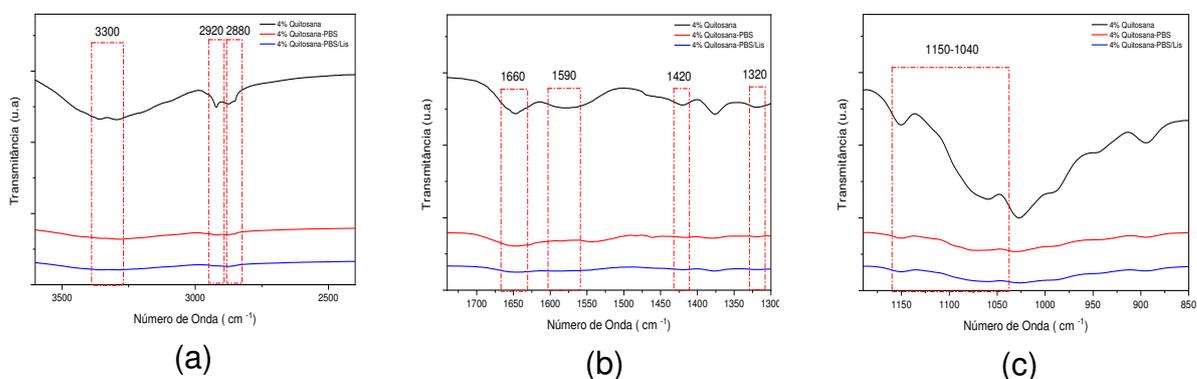


Figura 41 – Detalhe dos espectros de FTIR de várias bandas de absorção nos fios de 4% de quitosana.

A partir dos detalhes dos espectros dos fios de 3% e 4% de quitosana, Figuras 40 e 41, respectivamente, observa-se nos fios degradados (linha azul e vermelha) que as bandas em 2920 cm^{-1} e 2880 cm^{-1} (Figura 40 e 41 (a)), que são correspondentes às vibrações estiramento simétrico e assimétrico dos grupos CH_2 , apresentam uma redução significativa da sua intensidade.

Nas bandas de absorção 1320 cm^{-1} e 1420 cm^{-1} (Figura 40 e 41 (b)), a diminuição da intensidade está relacionada a mudanças que ocorrem dentro os grupos CH_2 . Tem-se ainda uma diminuição simultânea da intensidade da banda da amina em 1590 cm^{-1} .

Verifica-se ainda a diminuição da intensidade na região de 1150-1040 cm^{-1} , que corresponde as vibrações de deformação dos grupos -C-O-C- (Figura 40 e 41 (c)), indica a quebra da cadeia de quitosana. Tem-se também a redução da absorvância da banda da hidroxila OH em 3300 cm^{-1} (Figura 40 e 41 (a)), que pode ser atribuída as vibrações de estiramento dos grupos OH, ou seja, da liberação de água.

Ainda observa-se nos espectros dos fios, na presença de lisozima, algumas regiões do espectro com menor intensidade, quando comparado com fios estudados apenas em PBS. Este fenômeno pode ser observado tanto nas amostras de 3% como nas de 4% (Figura 40 e 41). Provavelmente isto ocorreu devido a ruptura da ligação polimérica, resultando na biodegradação tanto de natureza hidrolítica, como enzimática (Sun *et al.*, 2015).

Verifica-se ainda que a banda referente a vibração da amida III em aproximadamente 1327 cm^{-1} também foi deslocada para regiões menores, indicando que os grupos amina livres dos produtos degradados diminuiram, pela diminuição do peso molecular de quitosana (Jin *et al.*, 2017).

4.8.3 Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV) para Evidenciar a Biodegradação.

As Figuras 42, 43, 44 e 45 mostram as micrografias de MEV dos fios de quitosana de 3 e 4% após o período de 49 dias de análise em solução de PBS e PBS/Lisozima.

As fibras antes de submetidas as análises de biodegradação foram apresentadas no ensaio de MEV (Figuras 29 e 30) e exibiram uma superfície relativamente lisas e homogêneas.

Em contraste, todas as superfícies dos fios analisados de 3 e 4% após 49 dias de análise apresentaram alterações superficiais associadas a degradação hidrolítica, apresentando aspecto áspero e rugoso com presença de algumas fissuras (Figuras 42 e 43). Comparando as amostras de 3 e 4% em solução de PBS, tem-se que a amostra de 3% apresenta maior quantidade de ranhuras e até descamações, confirmando o maior perfil de degradação desse fio, quando comparada com o fio de 4% também em PBS, conforme visto no ensaio de perda de massa.

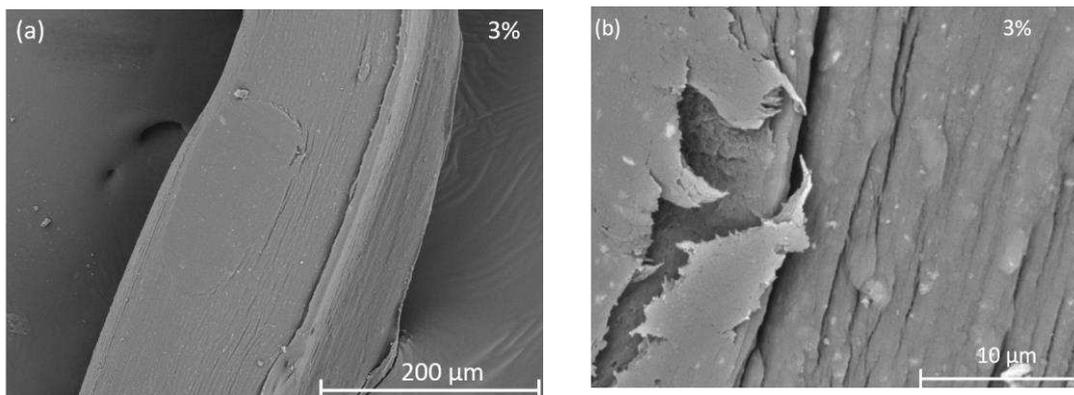


Figura 42 - Micrografias dos fios de quitosana com 3% em solução de PBS, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro).

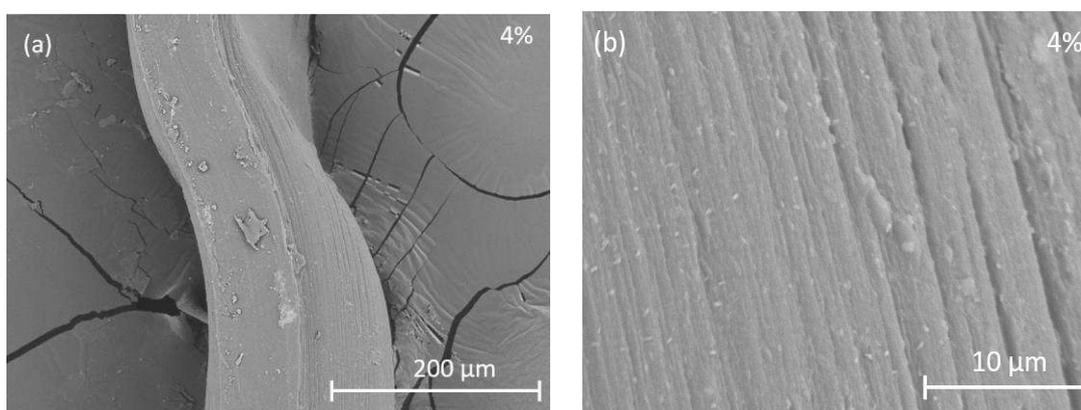


Figura 43 - Micrografias dos fios de quitosana com 4% em solução de PBS, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro).

Na amostra de 4% de quitosana em PBS (Figura 43), tem-se que embora o fio esteja um pouco mais intacto, percebe-se uma menor definição do seu formato como também presença de ranhuras em sua superfície.

Na Figura 44 percebe-se que a degradação dos fios não ocorre de forma homogênea, umas regiões apresentam uma maior degradação que outras. Este fato pode ser explicado de acordo a estrutura semicristalina da quitosana, onde nas regiões amorfas há uma maior facilidade de penetração de água, já nas regiões cristalinas, as cadeias poliméricas estão mais empacotadas, o que dificulta a penetração da água. Logo, a parte amorfa do material é degradado primeiro do que a parte cristalina. Assim, as fissuras pequenas continuam crescendo e se aprofundando.

Visualmente os fios que apresentaram maior deformação foram as que permaneceram em solução de PBS/lisozima (Figura 44 e 45).

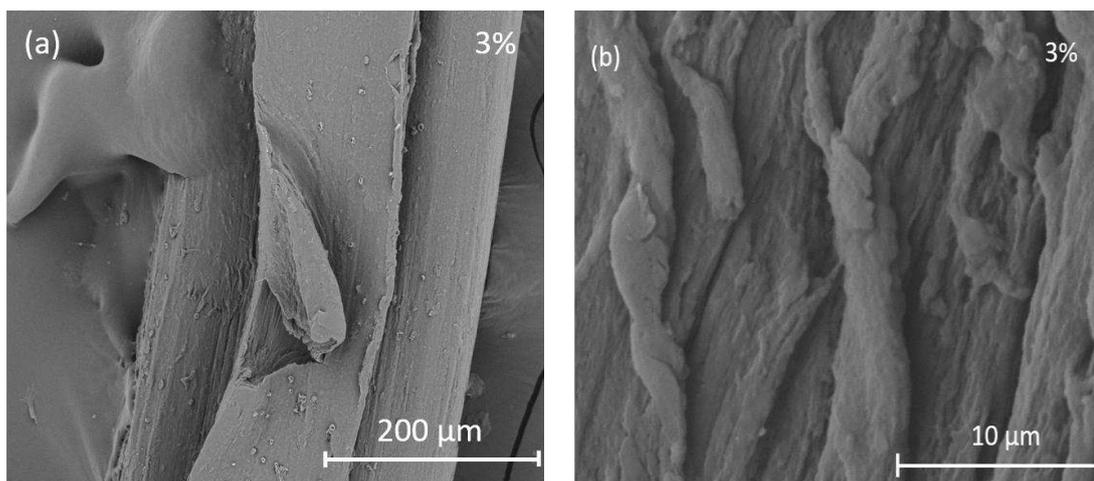


Figura 44 - Micrografias dos fios de quitosana com 3% em solução de PBS/lisozima, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro).

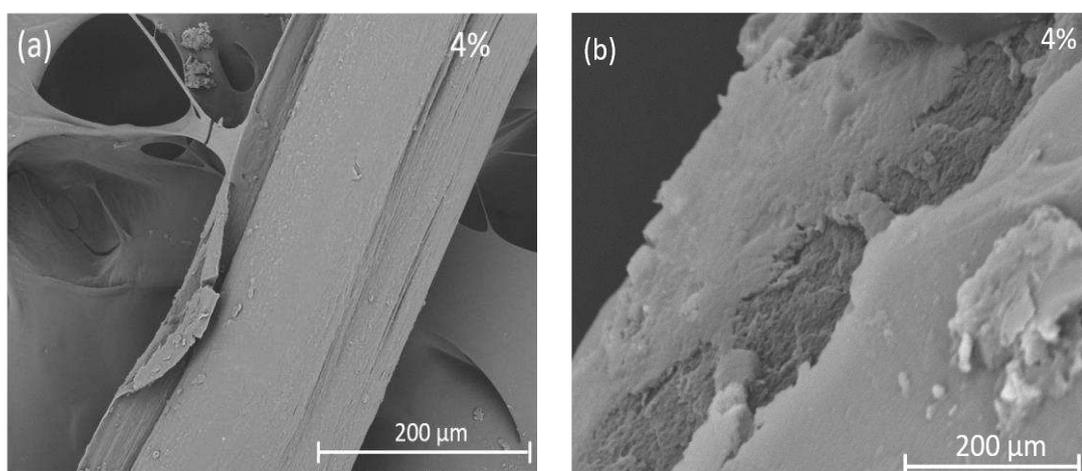


Figura 45 - Micrografias dos fios de quitosana com 4% em solução de PBS/lisozima, (a) aumento de 500x e (b) aumento de 8000x com recobrimento metálico (ouro).

Pelas micrografias, observa-se uma superfície consideravelmente hidrolisada. Em aumentos maiores, tem-se que as ranhuras presentes são mais profundas que as apresentadas nas amostras sem lisozima, conforme descrito anteriormente, isto ocorre devido a presença da enzima que acelera a degradação (Nordtveit *et al.*, 1994; Onishi e Machida, 1999; Su *et al.*, 2011). Nas imagens dos fios apenas submetidos a PBS (Figuras 42 e 43), verifica-se que essas ranhuras estão em menor profundidade, como se estivessem no estágio menos avançado de degradação.

Verifica-se em todas as amostras a presença de defeitos, o que tende a diminuir, posteriormente, a força à tração dos fios. Ainda é importante destacar que a presença de ranhuras e fissuras dos fios, influencia negativamente na sua força de tração. Pois estas fissuras sob tensão, se propagam muito rápido, gerando uma fratura frágil, levando ao rompimento imediato do fio.

4.8.4 Ensaio Mecânico sob Tração (N)

Realizou-se também o ensaio de tração dos fios em 21 dias de incubação na solução de PBS/lisozima.

Conforme descrito nos resultados anteriores (Figura 37) viu-se que antes dos 21 dias ocorreu apenas o intumescimento do material. Com o objetivo de verificar se ocorreram mudanças nas propriedades mecânicas dos fios durante este período, realizou-se o ensaio de força de tração dos fios em 21 dias de incubação na solução de PBS/lisozima. A seguir tem-se a Tabela 7, que apresenta os dados de força de tração (N), dos fios submetidos a biodegradação.

Tabela 7 - Valores da força de tração (N) dos fios de 3 e 4% de quitosana, submetidos a biodegradação após 21 dias na solução de PBS/Lisozima.

Amostras	Força de Tração (N)	Perda da Força de Tração (N) após 21 dias.
3% - 21 dias	1,84 ± 0,42	32,84%
4% - 21 dias	2,15 ± 0,47	49,64%

Na Tabela 7, tem-se que os fios de 3% obtiveram força de tração (N) de 1,84 ± 0,42 N, e os de 4% de 2,15 ± 0,47 N, comparando com os resultados dos fios de 3 e 4% não submetidos ao ensaio de biodegradação apresentado na Tabela 5, onde se obteve valores de 2,74 ± 0,34 N e 4,27 ± 0,49 N, para as amostras de 3 e 4% respectivamente, e conforme visto na Figura 37 no ensaio por perda de peso, em 21 dias ocorre apenas o processo de intumescimento das amostras, não havendo perda de massa. Porém, os fios apresentam alterações morfológicas o que acarretou perda de propriedades mecânicas.

De acordo com Sabino *et al.* (2000), a perda das propriedades mecânicas em polímeros que foram degradados hidroliticamente, geralmente precede da perda do módulo de elasticidade que está associada a perda de massa e/ou a densidade do material.

Contudo, tem-se que os fios obtidos apresentam propriedades satisfatórias, atingindo a NBR 13904 (Tabela 6), mesmo após 21 dias, tornando o material promissor para o uso como fios de sutura, podendo os benefícios da utilização de fios de suturas de quitosana serem potencializados através da liberação do N-Acetil-D-glucosamina que apresenta propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e de cicatrização, satisfatórias, conforme apresentado a seguir.

4.9 Adição do N-Acetil-D-Glucosamina nos Fios de Quitosana 4%

Nesta etapa do trabalho adicionou-se a N-Acetil-D-glucosamina (GlcNAc) a solução de 4% de quitosana (quitosana 4%/GlcNAc). Utilizou-se apenas os fios com 4% de quitosana, por este proporcionar maiores força de tração conforme apresentado no ensaio de tração (Tabela 5). Utilizou-se 0,2 g de GlcNAc (m/v), (5% de GlcNAc, com relação a massa de quitosana) para os fios de 4% de quitosana.

4.9.1 Microscopia Ótica - (MO)

Os fios de quitosana 4%/GlcNAc (Figura 46 (a)), foram analisados por Microscopia Ótica. A partir das imagens da superfície dos fios é possível observar que os fios com a presença da GlcNAc apresentam homogeneidade ao longo do seu perfil longitudinal, ou seja, a adição do mesmo não provocou heterogeneidade e nem distorções. Verifica-se ainda, com relação ao aspecto visual, uma coloração diferente quando comparada com o fio apenas de quitosana 4%.

Na Figura 46 (b), tem-se o fio apenas de quitosana 4%, e ao lado o fio de quitosana 4%/GlcNAc, para facilitar a comparação.

É possível observar que os fios apresentam coloração diferentes, o fio com GlcNAc apresenta uma cor levemente amarelada, indicando assim a presença do fármaco no fio, diferente do fio apenas com quitosana que é transparente.

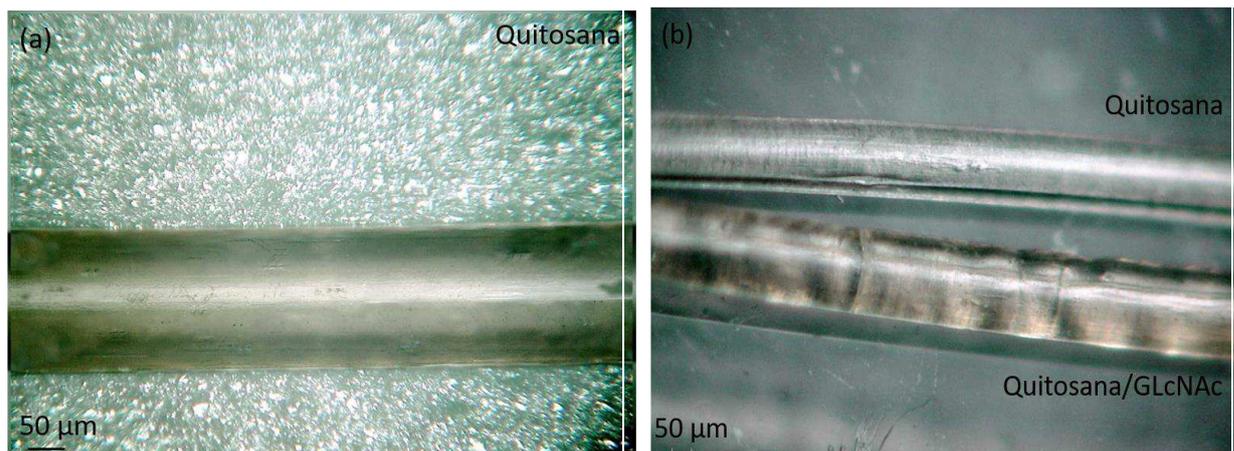


Figura 46 - Imagens obtidas por microscopia ótica do fio seco de (a) quitosana 4% com glucosamina, aumento de 350x e (b) fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc, aumento de 200x.

Ainda na Figura 46 (b) verifica-se que o diâmetro médio do fio com o GlcNAc é maior que o fio com ausência do fármaco. Sendo esses valores de $0,148 \text{ mm} \pm 0,001$ e $0,145 \text{ mm} \pm 0,002$, para os fios de quitosana 4%/GlcNAc e de 4% de quitosana respectivamente, se mantendo assim dentro das especificações para o Fio de sutura 6-0 (Tabela 6).

4.9.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV)

A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foi utilizada para avaliar a forma e a superfície do pó de GlcNAc e do fio de quitosana 4%/GlcNAc.

A morfologia do pó de GlcNAc foi observada por MEV (Figura 47) e verificou-se uma estrutura predominantemente na forma de cristais retangulares, agulhas com diferentes tamanhos e bordas irregulares, ainda é possível observar a presença de aglomerados.

Ehrlich *et al.* (2008), encontraram morfologia semelhante quando obtiveram N-acetil glucosamina em solução.

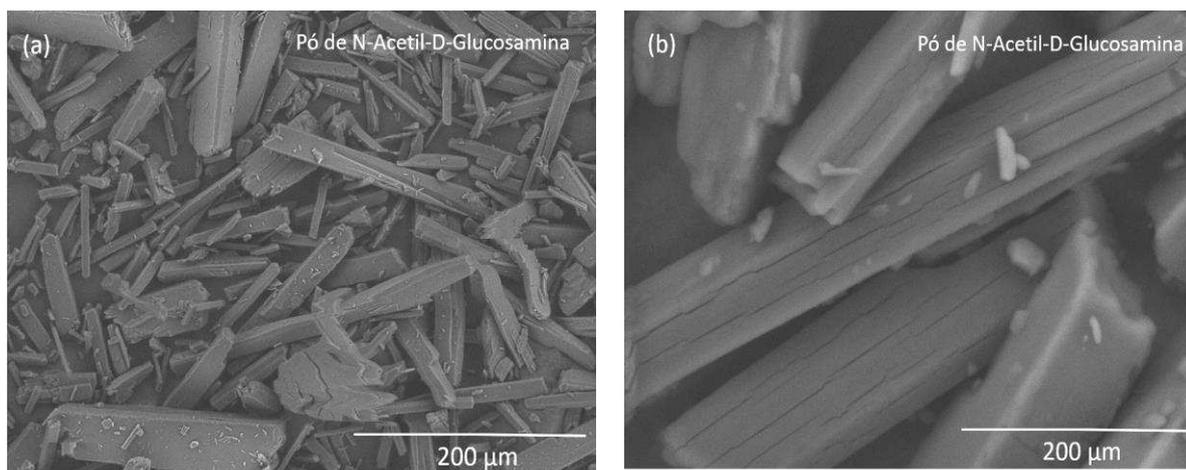


Figura 47 - Micrografia do pó de N-Acetil-D-Glucosamina (a) aumento de 500x e (b) aumento de 5000x.

Na Figura 48, tem-se a micrografia dos fios de quitosana 4%/GlcNAc obtidas pelo método de fiação por via úmida.

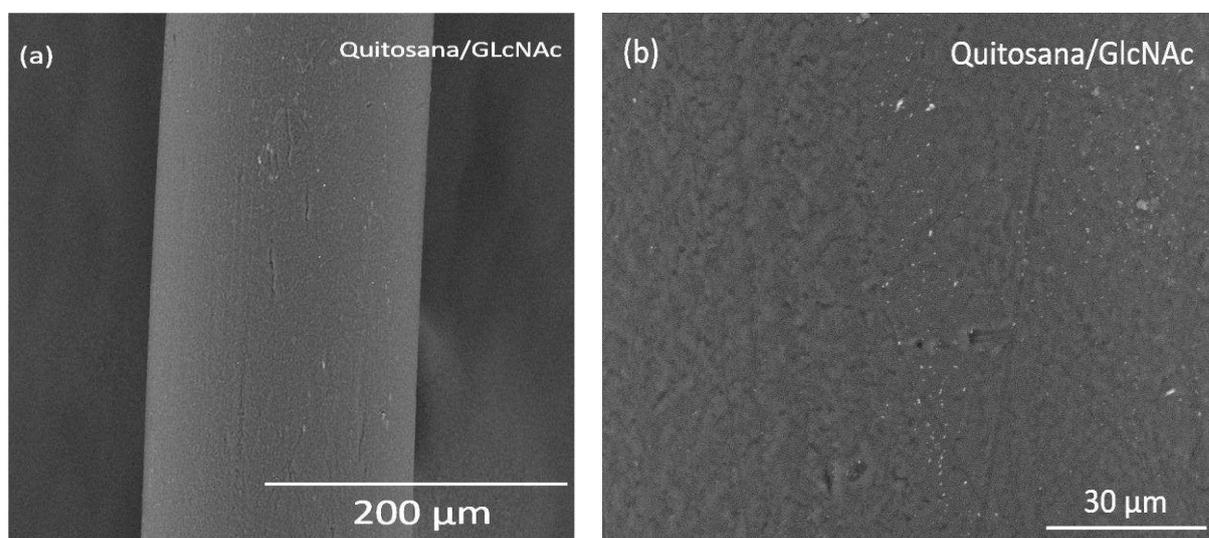


Figura 48 - Micrografias do fio de quitosana 4%/GlcNAc (a) aumento de 500x e (b) aumento de 2000x.

A partir da micrografia (Figura 48), é possível observar um perfil semelhante dos fios de quitosana sem o GlcNAc (Figuras 29 e 30), com aspecto homogêneo, formato cilíndrico e bem definido, tem-se a presença de marcas longitudinais, em sua superfície, provavelmente oriundas do processo de secagem dos fios, durante a retração.

Observa-se ainda a presença de resíduos provavelmente de lactato de sódio, conforme também observado nas Figuras (29 e 30).

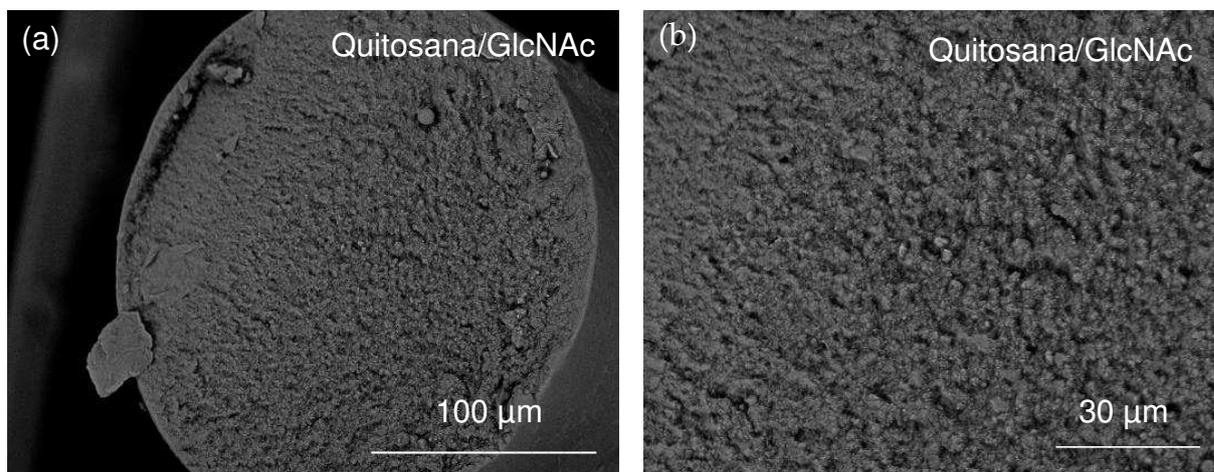


Figura 49 - Micrografias da seção transversal do fio de quitosana 4%/ GlcNAc (a) aumento de 1000x e (b) aumento de 2000x.

Verificou-se ainda que o fármaco GlcNAc foi incorporado nos fios, uma vez que não foi possível observar a presença de cristais de GlcNAc não solubilizados na seção transversal do fio quitosana 4%/GlcNAc (Figura 49). Acredita-se que isso seja porque dentro da quitosana, o GlcNAc é imobilizado por combinações de ligações covalentes, iônicas e pontes de hidrogênio (Dart e Dart, 2017; Madihally e Matthew, 1999; Madihally *et al.*, 1999). Corroborando com resultados de DRX (Figura 50).

Os diâmetros e tamanho médio dos poros tiveram pequena diminuição, não significativa, após a incorporação do fármaco, quando comparado com os fios apenas de quitosana (seção 4.4). O tamanho médio dos poros é de $4,9 \pm 0,2 \mu\text{m}$.

4.9.3 Difractometria de Raio-X - (DRX)

Estudos de Difração de Raio - X, foram realizados para o GlcNAc na forma de pó e para o fio de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc, Figura 50, com o objetivo de compreender a influência do GlcNAc no fio de quitosana.

É possível verificar pelo difratograma da GlcNAc (Figura 50(c)), a presença de picos estreitos e de maiores intensidades em $2\theta = 10^\circ$, 15° , 20° e 30° , que sugerem a característica cristalina do fármaco. Conforme observado por Herdyastuti e Cahyaningrum (2017).

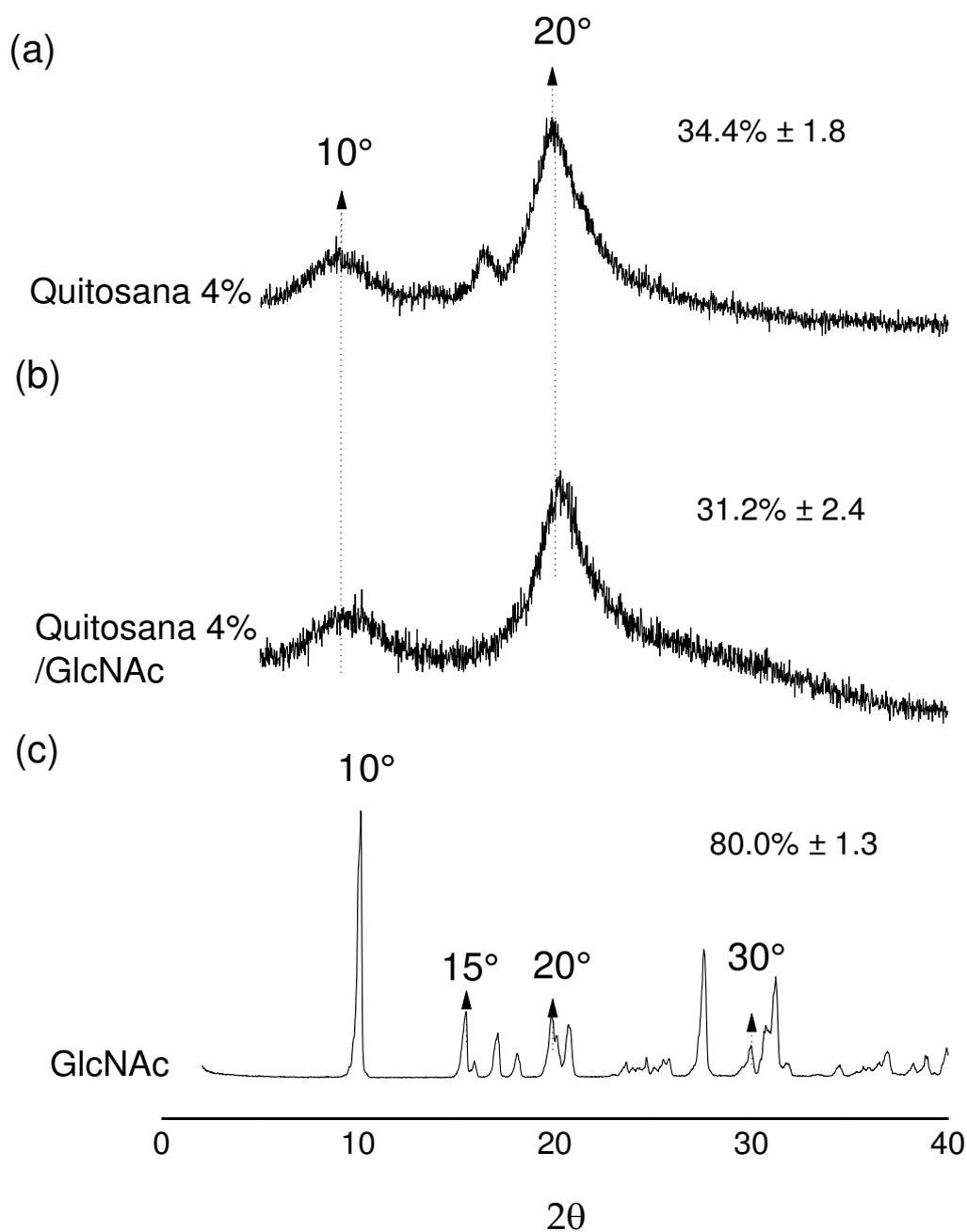


Figura 50- Difratograma do fio de (a) quitosana 4%, (b) quitosana 4%/GlcNAc e (c) do pó da GlcNAc.

A Figura 50(b), mostra o difratograma do fio de quitosana 4%/GlcNAc, onde verifica-se um perfil semelhante ao fio de quitosana Figura 50(a), como discutido anteriormente na seção 4.5. Observa-se no fio com o fármaco a permanência das bandas em $2\theta = 10^\circ$ e $2\theta = 20^\circ$, com menor intensidade, sendo estes picos característicos da quitosana hidratados e dos cristais anidros, respectivamente, conforme relatado por Baklagina *et al.*(2018).

Porém, não foi possível observar picos característicos do GlcNAc presente em intensidades consideráveis no fio de quitosana, ou seja, a presença do fármaco não ocasionou mudanças significativas (p -valor $>0,05$) na cristalinidade do material, apenas favoreceu um perfil mais amorfo sendo a cristalinidade do fio de 4% de quitosana de 34,4% (Figura 34) e do fio com a glucosamina de 31,2%.

Diante disto, sugere-se que a GlcNAc interage com quitosana através de sua fração acetilada, e de pontes de hidrogênio. Podendo ainda o GlcNAc está presente como um material amorfo ou como uma solução sólida dentro das regiões amorfas do polímero (dispersão molecular).

4.9.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier - (FTIR).

A Figura 51 apresenta o espectro de FTIR para o pó da GlcNAc, para o fio de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc.

Na Figura 51(a), tem-se o espectro de FTIR do pó de GlcNAc. É possível verificar as principais regiões do espectro referente ao estiramento do NH, que aparece como uma banda estreita e forte em 3500 cm^{-1} , como também a área em 3310 cm^{-1} , conforme descrito por Hao *et al.* (2017). As bandas localizadas nas regiões de $3500\text{-}2820\text{ cm}^{-1}$ correspondem ao estiramento do OH. E a vibração de flexão da ligação do NH domina forte na região de 1550 cm^{-1} . O N-H a região 1329 cm^{-1} e o C-H a 1378 cm^{-1} , que é um dos principais grupos funcionais encontrados na estrutura GlcNAc. A banda por volta de 1426 cm^{-1} é associada a vibração do estiramento CN. E em 1032 cm^{-1} ao estiramento C-O. E em 704 cm^{-1} tem-se uma banda referente ao modo de torção de OH (Hineno, 1977; Herdyastuti e Cahyaningrum, 2017).

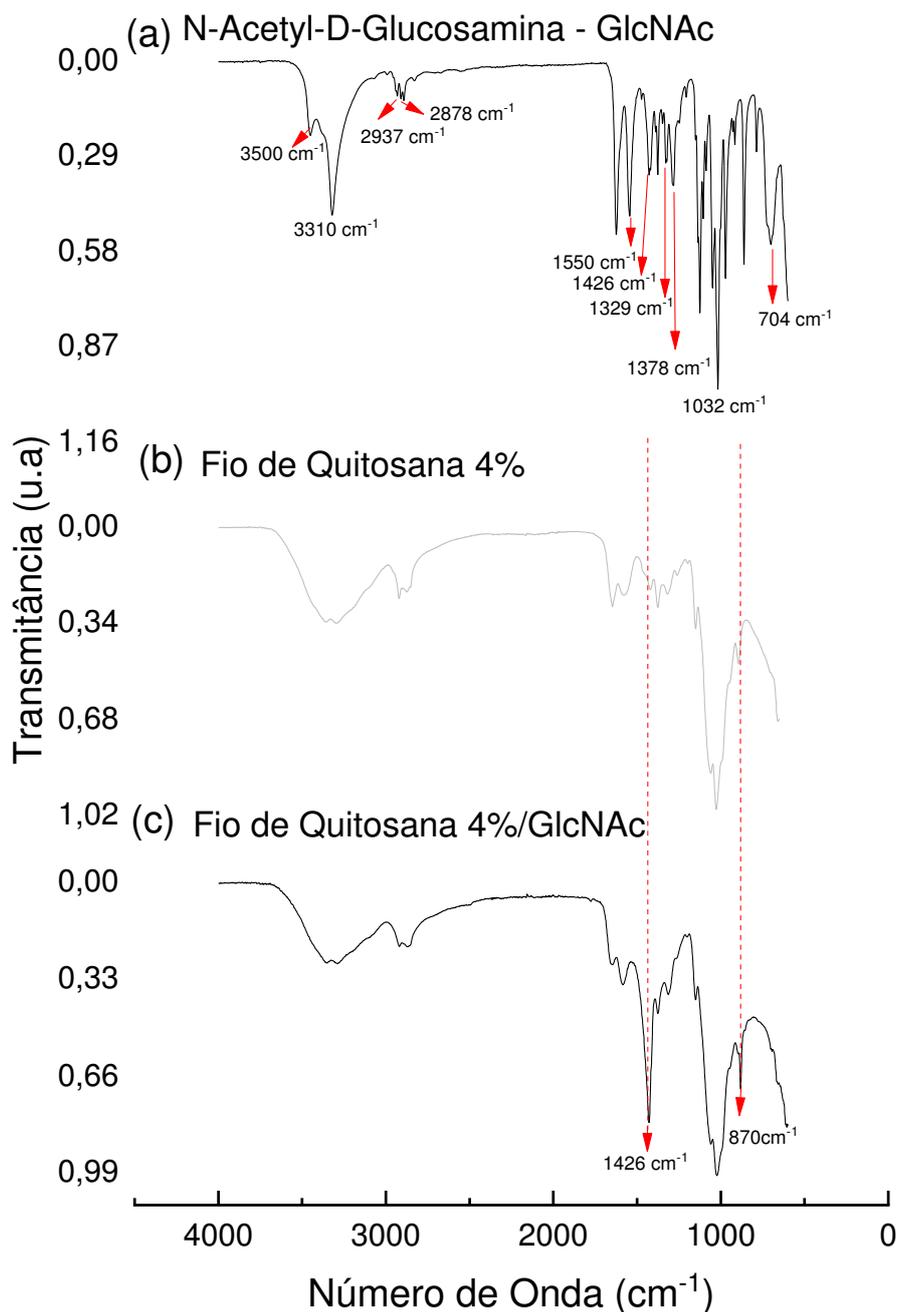


Figura 51 - Espectros de FTIR do pó de GlcNAc, do fio de quitosana e quitosana/GlcNAc.

No detalhe do FTIR obtido para os fios de quitosana e fio de quitosana/GlcNAc (Figura 52), é possível observar que com a adição da GlcNAc, tem-se no sistema a introdução de novos grupos acetilados o que justifica o aumento de intensidade do pico em 1426 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação CN e 870 cm^{-1} .

Como também as absorções nas regiões de 1655 cm^{-1} (amida I), 1550 cm^{-1} (amida II) e 1310 cm^{-1} (amida III) que são típicas de resíduos de GlcNAc e aparecem com absorbância mais forte para o espectro do fio de quitosana/GlcNAc (Takeda *et al.*, 2018).

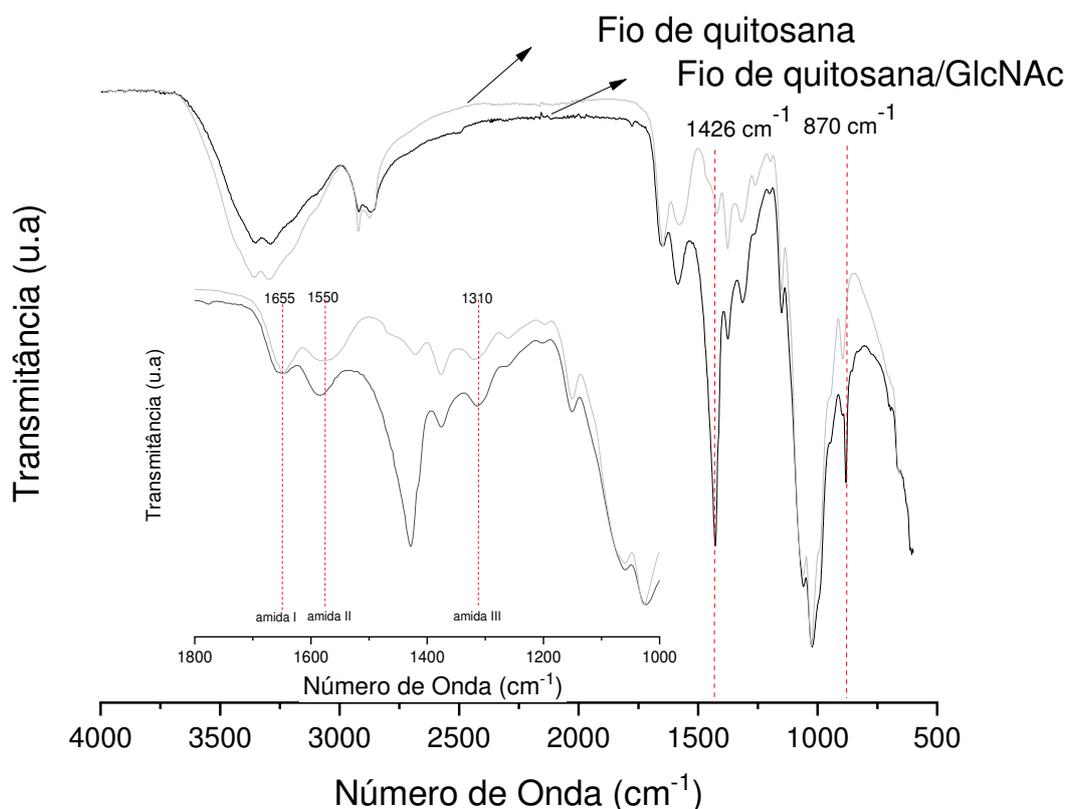


Figura 52 – Detalhe do espectro de FTIR do fio de quitosana e quitosana/GlcNAc.

Não foi possível observar o surgimento de novas bandas, bem como o deslocamento das bandas existentes. Conforme discutido no ensaio anterior de DRX, isso por ter ocorrido, devido a quantidade de GlcNAc adicionada no sistema ser pequena com relação a quantidade de quitosana. Verifica-se ainda que todas as bandas características da quitosana foram preservadas conforme já discutido na seção (4.8.2).

Diante disto, conforme descrito anteriormente sugere-se que a GlcNAc pode estar ligada com a quitosana através dos grupos C=O, como também da sua fração acetilada que é de aproximadamente 12%.

4.9.5 Ensaio Mecânico sob Tração (N)

A Tabela 8 apresenta os valores das propriedades mecânicas dos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc, com e sem nó, avaliados sob condição seca (em estufa a 65°C por 1h) e úmida (em PBS por 5 min a 37 °C).

Tabela 8 - Propriedades mecânicas dos fios de quitosana 4%/GlcNAc secos e úmidos com e sem a presença do nó.

Tipo de Fios	Amostras	Força de Tração (N)	Diâmetro (mm)	Alongamento (%)	Módulo de Young (GPa)	Tensão Máxima de Ruptura (MPa)
Sem Nó 4%	GlcNAc	3,45 ± 0,74	0,148 ± 0,001	8,61 ± 1,04	21,73 ± 2,02	181,97 ± 71,54
	GlcNAc Úmido	2,77 ± 0,89	0,157 ± 0,012	17,16 ± 3,93	7,19 ± 0,16	159,35 ± 39,01
Com Nó 4%	GlcNAc	1,94 ± 0,21	0,149 ± 0,002	9,24 ± 2,60	9,07 ± 0,21	95,39 ± 26,14
	GlcNAc Úmido	1,78 ± 0,69	0,158 ± 0,024	16,58 ± 5,35	4,79 ± 1,38	108,34 ± 51,14

A partir da Tabela 8 tem-se que a presença do nó nos fios com o fármaco resultou em menor força de tração, módulo Young e tensão máxima de ruptura nas condições seca e úmida, distinguindo-os estatisticamente com um de p valor <0,05, quando testados nas mesmas condições. Pode-se perceber também que alongamentos maiores foram obtidos para as amostras em condição úmida, conforme já descrito nos resultados de ensaios mecânicos no fio de quitosana sem o fármaco (Tabela 5).

É possível observar que a adição da GlcNAc, reduziu a força de tração (N) dos fios (principalmente na condição seca), quando comparada com a força de tração dos fios apenas de quitosana (Tabela 5).

Na qual obteve-se uma força de tração (N) do fio de quitosana 4% de 4,27 N (Tabela 5), e do fio de quitosana 4%/GlcNAc de 3,45 N (Tabela 8), sendo a perda de força de tração (N) de 19,20%. A razão para isto pode ser devido a redução da cristalinidade dos fios de quitosana 4%/GlcNAc. Conforme visto e apresentado anteriormente nos ensaios de DRX, provavelmente esta diminuição da cristalinidade (Seção 4.9.3), é causada pela eliminação de algumas ligações de hidrogênio devido as interações entre os grupos da quitosana e GlcNAc, ocasionando possivelmente esta redução nas propriedades mecânicas e o que provavelmente acarretara uma liberação controlada.

Albanna *et al.* (2013a), mostraram que a imobilização covalente de heparina em fibras de quitosana causou redução nas propriedades mecânicas da fibra, sendo este resultado consistente com nossos resultados para GlcNAc com a quitosana.

Embora a resistência mecânica dos fios de quitosana tenha diminuído com a incorporação da GlcNAc, essa propriedade foi maior do que os valores médios indicados na Norma de Suturas Cirúrgicas (Tabela 6), sendo a força de tração acima de 1,77 N, para os fios 6-0 (diâmetro de 0,100 a 0,149 mm). Assim, em relação ao desempenho mecânico, esses resultados indicam que os fios de quitosana com GlcNAc podem ser adequados como material para sutura cirúrgica e representam um avanço no sentido de combinar propriedades mecânicas e ação terapêutica.

4.9.6 Ângulo de Contato

O ensaio de ângulo de contato dos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc com água destilada, foi realizado com a finalidade de avaliar possíveis mudanças da hidrofiliabilidade deste material.

A Figura 53 apresenta o gráfico com os valores das medidas de ângulo de contato para os fios de quitosana 4% e 4%/GlcNAc, após 1 minuto de contato com a gota de água. Analisando a Figura 53, observou-se que todas as amostras apresentam um caráter hidrofílico, ou seja, o ângulo de contato é menor que 90°.

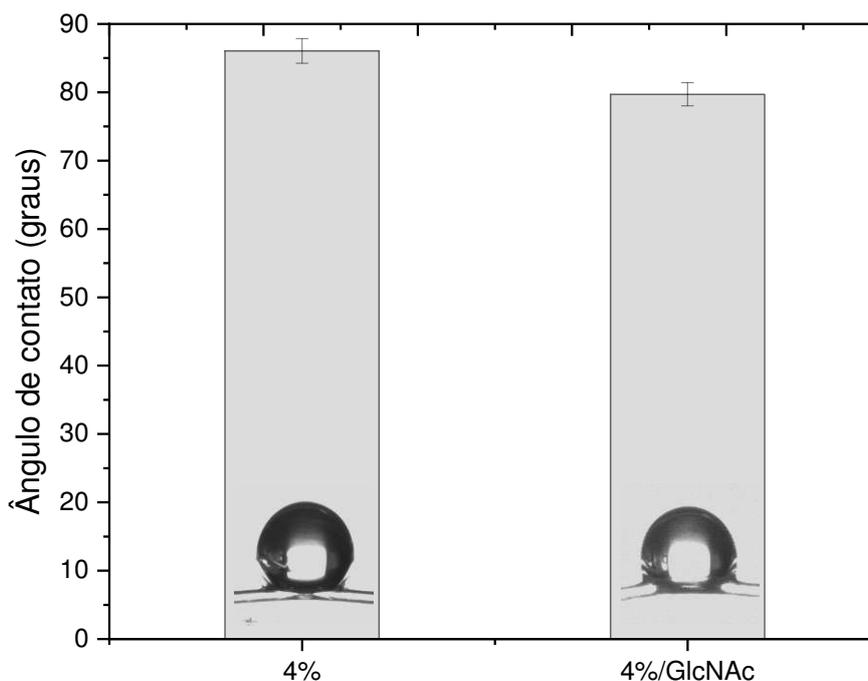


Figura 53 - Medidas de ângulo de contato para os fios de 4% de quitosana e 4%/GlcNAc, após 1 minuto de contato com a gota de água.

De acordo com Sengupta e Pittman (2009), a molhabilidade de uma gota em uma superfície sólida diminui à medida que o ângulo de contato aumenta. Um ângulo de contato menor que 90° significa que o líquido tende a molhar a amostra, sendo, portanto, hidrofílico, enquanto que um ângulo de contato maior do que 90° o líquido não terá tendência para molhar a superfície, caracterizando a superfície como hidrofóbica.

De acordo com Assis (2010), as ligações covalentes dos grupos amina presentes na quitosana, apresenta regiões de alta polaridade, devido a diferença de eletronegatividade. Tornando assim, favorável o rearranjo de moléculas de águas em redor do polímero. Este atributo associado as regiões também polares dos grupos acetamidas, caracteriza a quitosana com alto grau de hidrofiliidade.

Os valores para as amostras de quitosana 4% e para as amostras de quitosana 4%/GlcNAc após o contato de 1 minuto com água destilada foram de $86,06^\circ$ e $79,7^\circ$ respectivamente.

Estas médias diferem estatisticamente pois apresentam um p -valor=0,010. Porém, essa baixa variação entre as amostras deve-se ao fato da pequena quantidade de GlcNAc (0,2 g) utilizada nos fios de quitosana.

Com a adição da GlcNAc, houve possivelmente o desbalanceamento das cargas da cadeia da quitosana. Ocasionalmente, assim, na diminuição do ângulo de contato, o que provavelmente aumentou a disponibilidade de grupos polares no material, aumentando, portanto, a molhabilidade dos fios com GlcNAc, quando comparado com os fios apenas de quitosana.

Esses resultados corroboram com Tabriz *et al.*(2019), que mostraram em seu trabalho com membranas de quitosana que o ângulo de contato diminuiu pela adição de quitosana. E com Karbasi *et al.* (2016), que obtiveram scaffolds de PHB/quitosana e também constataram que o aumento da concentração de quitosana diminuiu o ângulo de contato.

Essa maior afinidade com a água dos fios de quitosana/GlcNAc, provocou maior grau de intumescimento, conforme será observado no ensaio de biodegradação por perda de massa, onde verifica-se que os fios com fármaco apresentaram maior intumescimento em até 21 dias (Figura 54).

Liu e Bai (2006), registraram ângulo de contato de 63° para fibras ocas com 1,5% (m/v) de quitosana, coaguladas com 3% hidróxido de sódio. Zheng *et al.* (2008), apresentaram ângulo de contato pouco menor que 70° em membranas de quitosana a 1%. Lima *et al.* (2014) obtiveram membranas de quitosana a 1% (m/v) pelo método de evaporação do solvente, sendo neutralizadas em hidróxido de sódio (1 mol/L) e exibiram ângulo de contato de aproximadamente $43,59^\circ$. Diante disto, observa-se que os dados apresentados na literatura, corroboram com resultados encontrados nesta pesquisa.

Ainda segundo Zhu e Yu (2013), a molhabilidade da superfície da amostra e o intumescimento, são características importantes para materiais usados em curativos. Uma vez que, a ferida não pode ficar seca, sendo necessário também o exsudato dessa ferida.

4.9.7 Biodegradação *in vitro*

4.9.7.1 Análise por Perda de Massa

A Figura 54 apresenta o gráfico de biodegradação *in vitro*, nos fios de quitosana 4%/GlcNAc na solução de PBS e PBS/lisozima.

Foram avaliados valores de perda de peso para os fios no período de 7, 14, 21, 28 e 35 dias, como também análises de FTIR e MEV.

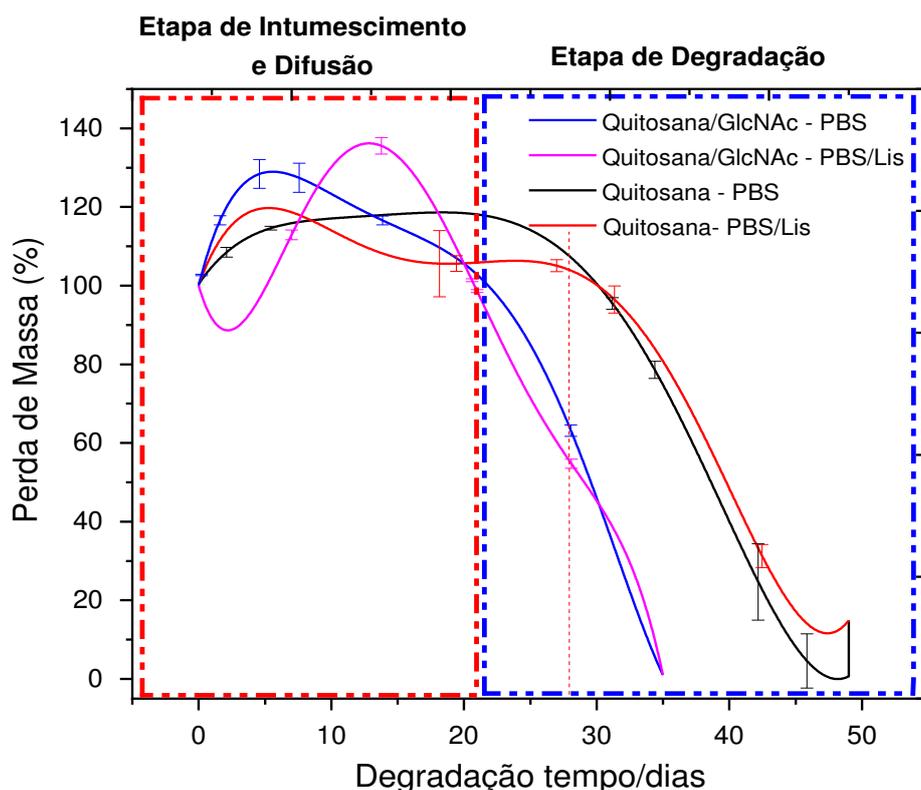


Figura 54 - Gráfico de biodegradação dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 7, 14, 21, 28 e 35 dias.

No ensaio avaliou-se a perda de peso dos fios com o GlcNAc em solução de PBS e PBS/Lisozima.

Constatou-se ainda o pH das soluções durante todo o processo de degradação, e os valores não apresentaram alterações significativas, apresentando no último dia de incubação (35 dias) $\text{pH} = 7,24 \pm 0,03$ e $7,22 \pm 0,01$, para os fios em solução de PBS e PBS/Lisozima, respectivamente.

A partir da Figura 54 é possível observar que o início da perda de massa nos fios ocorreu após 21 dias. Perfil semelhante foi avaliado no gráfico de perda de massa dos fios de 3 e 4% (Figura 37), onde antes do início da perda de massa, ocorreu apenas o processo de intumescimento, que é máximo em 7 dias para avaliação dos fios apenas em solução de PBS, e para o fio em PBS/lisozima é maior em 14 dias.

As duas etapas do processos de degradação evidenciados na Figura 54, onde a primeira etapa é a de intumescimento e difusão e a segunda etapa de degradação, também foi observado por Sabino *et al.* (2004), que apontaram que o processo de hidrólise em polímeros semicristalinos ocorre em duas etapas. Tendo inicialmente o ataque das regiões amorfas, menos densas, onde a difusão do meio por hidrólise é mais fácil e mais rápida, do que o ataque nas regiões cristalinas. Estas diferenças na cinética de degradação hidrolítica gera esses dois estágios no processo de degradação.

Percebe-se que a biodegradação em 28 dias, resultou em uma perda de massa do fio de quitosana 4%, de $2,9\% \pm 1,1$ e $5,2\% \pm 3,4$ em solução de PBS e PBS/Lisozima, respectivamente. Enquanto que os fios com GlcNAc obtiveram perda de massa na presença da enzima lisozima de $45,3\% \pm 1,1$, e o fio apenas em solução PBS apresentou valor de $36,7\% \pm 1,4$, indicando a degradação mais rápida na presença da lisozima. Sendo esse resultado estatisticamente significativo, pois de acordo com o teste T-comparativo o p-valor = 0,042 (p-valor < 0,05), ou seja, a diferença entre as médias da degradação das amostras em PBS e em PBS/Lisozima, são estatisticamente significativas. De acordo com Lončarević *et al.* (2017), isto ocorre pois a degradação na ausência lisozima, resulta apenas do processo de dissolução da quitosana, e na presença da enzima pode ocorrer interações específicas entre a quitosana e a lisozima que são responsáveis por clivar a ligação glicosídica da quitosana e acelerar a degradação.

Ainda é importante ressaltar que a biodegradação total do fio de quitosana 4%/GlcNAc, ocorreu em 35 dias, uma degradação mais rápida quando comparada com o fio de quitosana sem o GlcNAc. Podendo esse fio ser utilizado em uma região que necessite de um menor tempo para que o processo de cicatrização seja efetivo. Este fato pode ter ocorrido devido a adição da GlcNAc, que agiu como agente acelerador do processo de degradação.

Essa observação pode ser explicada em conjunto com os resultados de DRX, onde viu-se que a adição fármaco acarretou um perfil mais amorfo do sistema.

Esse fato, é semelhante aos estudos de Yang *et al.* (2007), que sugerem em seu trabalho com fios de quitosana, que a quantidade de derivados acetilados acelera o processo de degradação, ou seja, que a taxa de degradação aumenta com o aumento de derivados acetilados no sistema.

Ainda de acordo Lim *et al.* (2008), a quitosana é inicialmente degradada pela lisozima em oligômeros ou espécies de baixa massa molecular, sendo depois degradada por N-Acetil-D-Glucosaminidase para monômeros.

4.9.7.2 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier - (FTIR) para Evidenciar a Degradação

Na Figura 55 tem-se o espectro de FTIR do fio de quitosana 4%/GlcNAc após biodegradação em solução de PBS e PBS/Lisozima que foram avaliadas com o objetivo de confirmar a biodegradação após o ensaio em 35 dias.

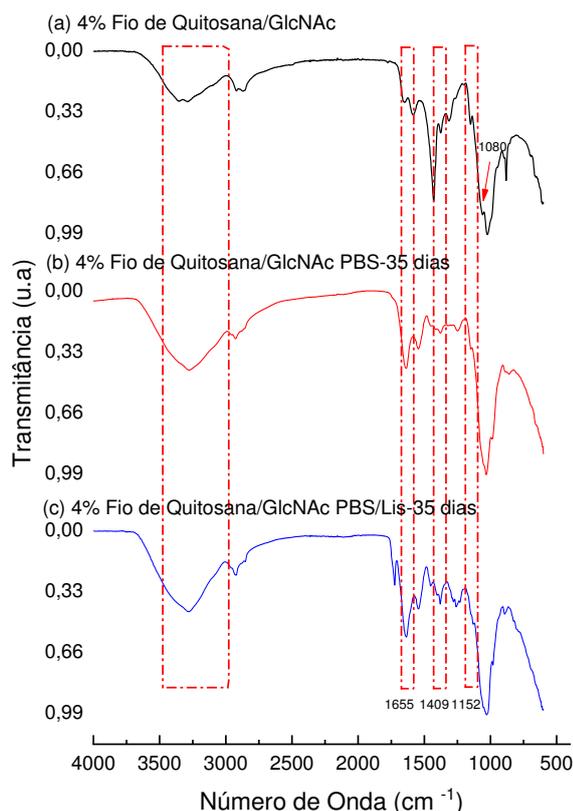
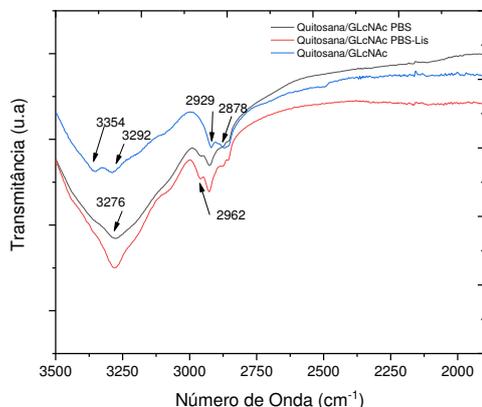


Figura 55 - Espectro de FTIR dos fios de Quitosana 4%/GlcNAc, antes e após o ensaio de biodegradação em solução de PBS e PBS/lisozima no período de 35 dias.

Nos espectros dos fios biodegradados verifica-se que os fios de quitosana 4%/GlcNAc na presença de lisozima apresentam perfis semelhantes, com os fios avaliados apenas na presença da solução de PBS.

(a)



(b)

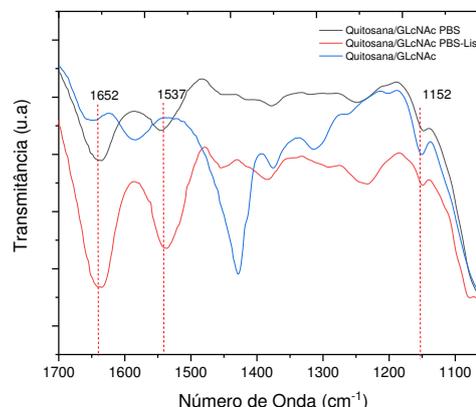


Figura 56 - Detalhe dos espectros de FTIR em várias bandas de absorção nos fios de quitosana GlcNAc - PBS e quitosana/GlcNAc - PBS/Lis. (a) de 3500-2000 cm^{-1} e (b) 1700-1100 cm^{-1} .

No espectro do fio não submetido a degradação (linha azul), as duas bandas 3354 cm^{-1} e 3292 cm^{-1} estão enfraquecidas e uma nova área é evidente em 3276 cm^{-1} para os fios degradados (Figura 56 (a)). Segundo Pearson *et al.* (1960), isto ocorre quando a ligação forte C = O --- H-N está sendo destruída na cadeia polissacarídica. Na Figura 56 (a), tem-se os deslocamentos das bandas de 2929 cm^{-1} para 2962 cm^{-1} referente ao alongamento do CH₃. Observa-se também para os fios biodegradados regiões características da curvatura N-H da GlcNAc (Fig. 56 (b)), em 1537 cm^{-1} isto sugere que uma maior quantidade de GlcNAc está presente no sistema, provavelmente o fármaco estava preso na parte enovelada do polímero e está sendo liberado a partir da degradação do fio de quitosana (Luo *et al.*, 2016).

Tem-se também aumento da intensidade da banda de absorção a 1652 cm^{-1} referente a amina I. Verifica-se as bandas relacionadas a transmitância em 1409 cm^{-1} que é correspondente às vibrações da ligação C-H nos grupos CH₂. Em 1080 cm^{-1} onde tem-se as vibrações deformantes dos grupos -C-O-C- e em 1152 cm^{-1} onde há a banda referente a ligação glicosídica. Esse efeito pode estar relacionado à quebra de grupos C-O-C e à cisão da cadeia principal de quitosana em fragmentos menores (Alhosseini *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2016).

4.9.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV) para Evidenciar a Degradação.

As Figuras 57 e 58, apresentam respectivamente as micrografias dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS e PBS/Lisozima.

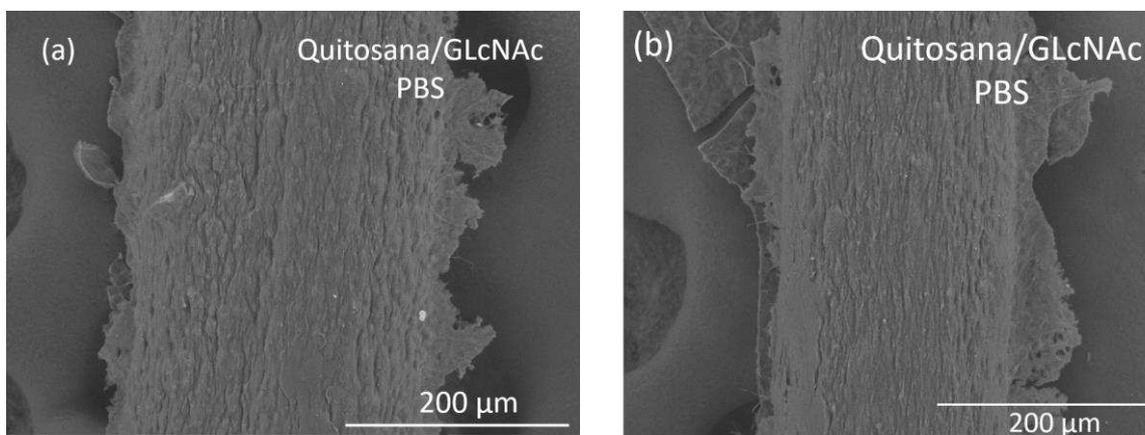


Figura 57 - Micrografias dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS, aumento de 500x .

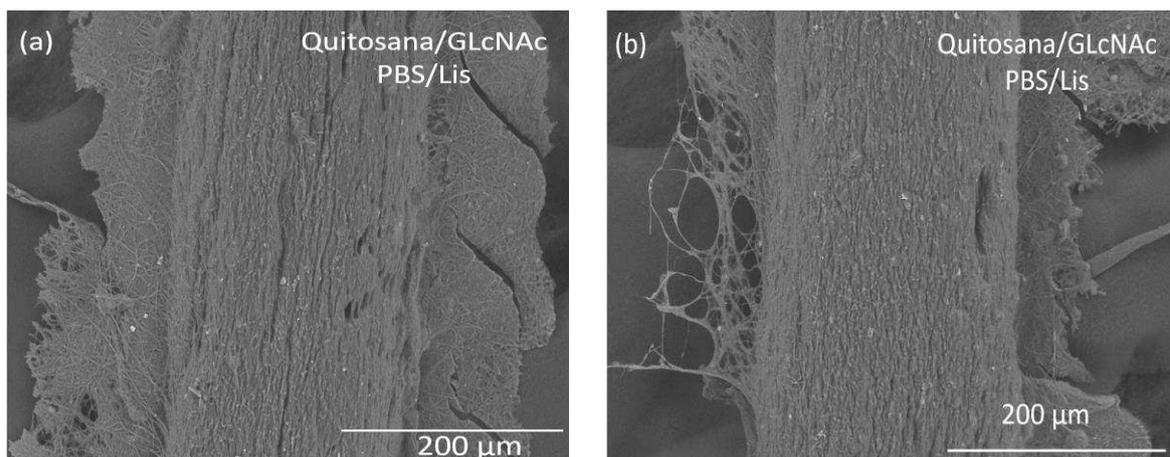


Figura 58 - Micrografias dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS/Lisozima, aumento de 500x.

As micrografias dos fios de quitosana 4%/GlcNAc em solução de PBS e PBS/Lisozima apresentam uma degradação superficial bastante significativa e maior quando comparado com os fios quitosana 4% avaliadas sem o GlcNAc, em solução de PBS e PBS/Lisozima, conforme apresentado nas Figuras 42, 43, 44, 45.

Como descrito anteriormente, a adição do GlcNAc intensificou e acelerou o processo de degradação conforme visto no ensaio de perda de massa (Figura 54).

Ao analisar o fio de quitosana 4%/GlcNAc em ambas soluções tem-se superfícies irregulares e rugosas, como também ranhuras extensas e com a presença de profundidade ao longo dos fios. Descrição essa, contrária aos fios não submetidos a biodegradação (Figura 30), onde encontrou-se fios homogêneos e com topografia regular.

Todavia, ao comparar as amostras imersas em soluções de PBS e PBS/Lisozima (Figuras 57 e 58), verifica-se que não se tem uma diferença morfológica significativa entre as duas amostras.

Pode-se perceber a perda de massa do fio através de suas bordas, como se partes externas do fio fossem sendo eliminadas por camadas, semelhante ao processo de descamação.

Verifica-se ainda, o processo de erosão do fio, a camada externa com desgaste e com ausência de massa, isto possivelmente tem relevância significativas no sistema de liberação de fármacos. Após isto provavelmente, o fármaco será liberado de forma mais rápida, pois, a solução em contato com o fio começou a ser absorvida originando o aumento das dimensões. Logo, a camada externa é erodida, posteriormente as cadeias do polímero se dissociam provocando a degradação completa dos fios permitindo uma maior dissolução do fármaco.

As visualizações das micrografias estão de acordo com o comportamento dos espectros de FTIR dessas amostras, onde foi possível observar que os fios submetidos ao ensaio de biodegradação apresentaram perda de massa.

4.9.7.4 Ensaio Mecânico sob Tração (N)

O ensaio de tração foi realizado também nos fios de quitosana 4%/GlcNAc em 21 dias de incubação na solução de PBS/lisozima. A Figura 59 apresenta os valores de força de tração (N) e diâmetro (mm) do fio.

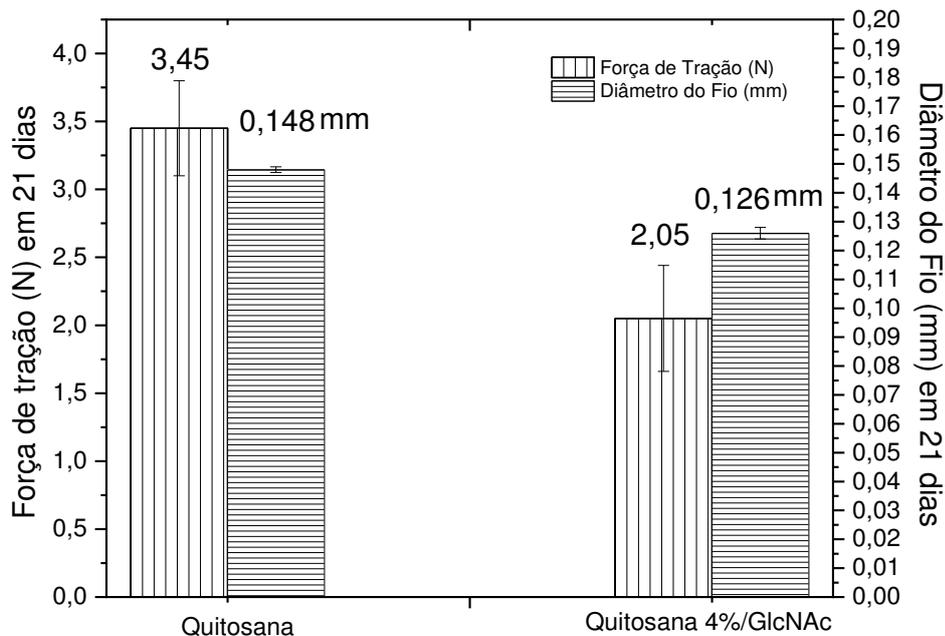


Figura 59 - Valores de força de tração (N) e da área do fio (mm^2) nos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc em 21 dias.

O ensaio foi realizado em 21 dias, onde conforme o teste de perda de massa (Figura 54) ocorreu apenas o processo de intumescimento.

De acordo com Dart e Dart (2011), as suturas absorvíveis perdem a força à tração à medida que sofrem degradação com também absorção. No entanto, a perda da força à tração é independente da absorção. Ou seja, uma sutura absorvível pode perder a força à tração rapidamente, mas, ser absorvido lentamente.

Comparando os valores dos fios de quitosana 4%/GlcNAc da Tabela 9, com os fios submetidos a degradação em 21 dias (Figura 59) verifica-se, uma diminuição estatisticamente significativa ($p\text{-valor} = 0,03$ ou seja, $p\text{-valor} < 0,05$) da força de tração (N) de $3,45 \pm 0,74$ N sem fármaco, para $2,05 \pm 0,61$ N com fármaco. Indicando assim uma perda significativa de 54,7% da força de tração em 21 dias. Observa-se também uma diminuição do diâmetro do fio em aproximadamente 15%.

Conforme visto na Figura 54 no ensaio por perda de massa, em 21 dias ainda não ocorre perda de massa considerável. Mas, os fios apresentam alterações morfológicas muito significantes o que acarreta em perda das propriedades mecânicas.

Diante do resultado exposto pode-se comparar as propriedades mecânicas do fio de quitosana 4%/GlcNAc com o fio de sutura absorvível monofilamentar comercial *catgut*.

Os fios *catgut* são obtidos a partir da submucosa de intestinos de ovinos ou da serosa intestinal de bovinos, que pode ser apresentado na forma de *catgut* simples ou *catgut* cromado. O simples mantém sua propriedade mecânica de força de tração (N), por 5 a 7 dias, e é absorvido em até 4 semanas. No *catgut* cromado a presença dos sais de cromo aumenta a propriedade mecânica, logo, sua perda de 50% de resistência ocorre em aproximadamente 20 dias e a perda total da força ocorre em 5 semanas (Dart e Dart, 2011).

Como relação a força de tração (N) tem-se que o fio de quitosana 4%/GlcNAc apresenta uma perda de força á tração comparada ao fio *catgut* cromado, pois a biodegradação desse fio comercial ocorre entre 19 e 20 dias com perda de 50% de sua força de tração, e o fio de quitosana 4%/GlcNAc tem-se perda de 54,7% em 21 dias.

4.9.8 Validação do Método Analítico para a Quantificação da N-Acetil-D-Glucosamina

Foram consideradas para validação as características de conforme a RDC nº 166/17, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ), adequados à análise.

4.9.8.1 Determinação do Comprimento de Onda do N-Acetil-D-Glucosamina

A Figura 60 apresenta o comprimento de onda do GlcNAc. Inicialmente realizou uma varredura no UV-Vis na concentração de 10 µg/mL de solução GlcNAc em PBS, entre 190 e 300 nm com o objetivo de verificar o comprimento de onda do fármaco. Obtendo o pico de absorção máxima do fármaco em 192 nm conforme a Figura 60.

Na literatura é possível encontrar valores de absorção máxima entre $\lambda = 195-210$ nm (Mekasha *et al.*, 2016).

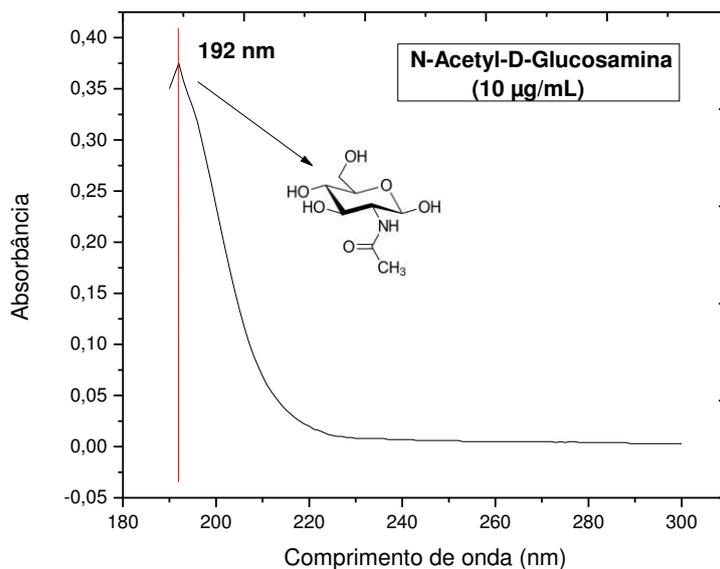


Figura 60 - Espectro da solução de N-Acetil-D-Glucosamina (10 µg/mL), com absorção máxima ($\lambda_{MÁX}$) em 192 nm.

4.9.8.2 Seletividade

Com o objetivo de comprovar a seletividade do método, verificou-se o comprimento de onda do fio de quitosana 4%/GlcNAc, comparando com o espectro da solução de GlcNAc (Figura 61).

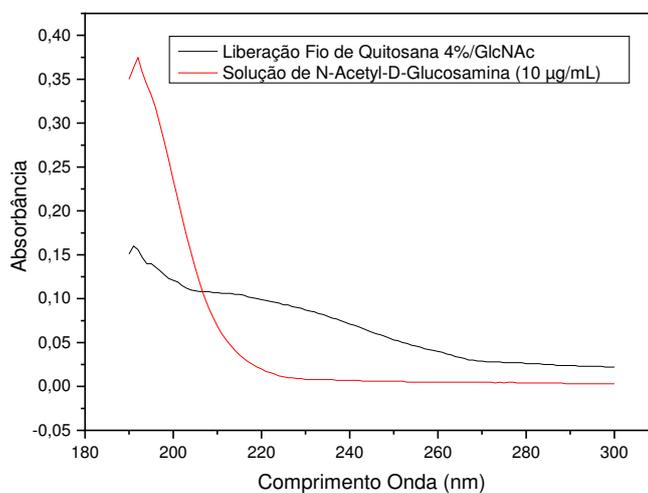


Figura 61 - Espectro das amostras de Liberação do fio de quitosana 4%/GlcNAc e da solução de N-Acetil-D-Glucosamina 10 µg/mL.

A Figura 61 demonstra, portanto, a seletividade e a especificidade do método, haja vista que não houve o surgimento de novos picos referentes os demais materiais utilizados na região em 192 nm que é referente a N-Acetil-D-Glucosamina.

4.9.8.3 Linearidade e Intervalo

O estudo da linearidade foi realizado a partir de soluções de GlcNAc, utilizando 10 pontos, com as concentrações variando de 0,1 µg/mL a 35 µg/mL.

A partir destes pontos (0,1; 0,5; 2,5; 5; 10; 15; 20; 25; 30 e 35 µg/mL) foi possível obter uma curva de origem linear (Figura 62), pelo método dos mínimos quadrados, apresentando o coeficiente de correlação de $r = 0,99398$ corroborando com a RDC 166/17 ANVISA, que determina um coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990. Portanto, a partir da curva verifica-se que as concentrações analisadas, apresentaram leituras de absorção diretamente proporcionais à concentração do analito, confirmando a linearidade do método.

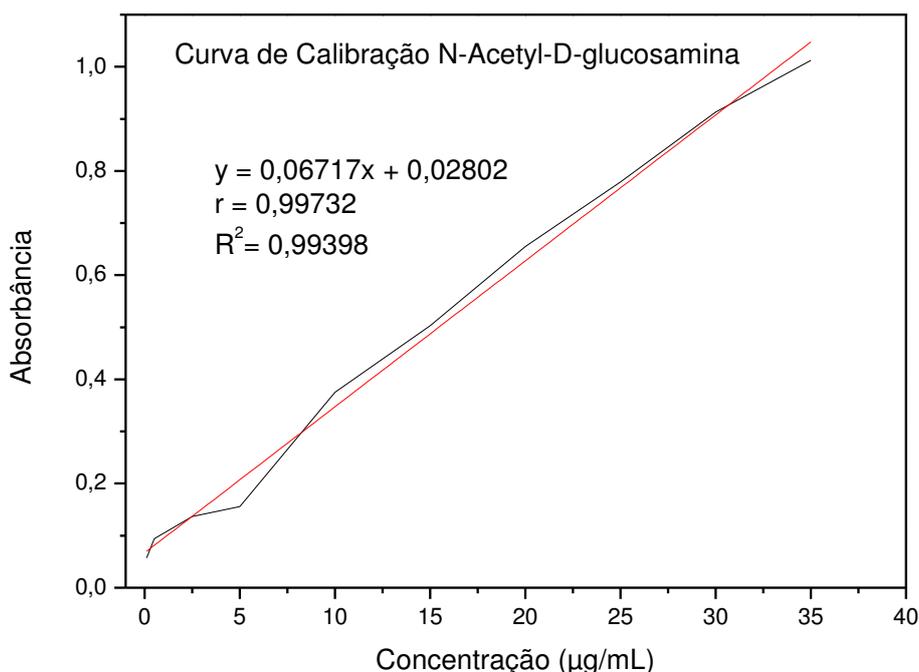


Figura 62 - Curva de calibração do N-Acetil-D-glucosamina, obtido pelo método espectrofotométrico UV/VIS.

4.9.8.4 Exatidão

A exatidão para o método em estudo foi avaliada a partir das quantificações em triplicata das três concentrações de alta, média e baixa (0,1; 10 e 35 µg/mL), os valores estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores para a verificação da exatidão do método

Concentração Teórica (µg/mL)	Média da Concentração Experimental (µg/mL)	Coefficiente de Variação (%)	Exatidão (%)
0,1	0,104	1,300	104,00
10	10,231	4,792	102,31
35	34,920	1,390	99,77

A partir da Tabela 9 verifica-se que o método é considerado exato em relação as concentrações analisadas. Uma vez que o valor obtido para exatidão do método variou de 99,77 a 104,00%, sendo o intervalo aceitável de 80% a 120% da concentração teórica da análise, conforme as especificações estabelecidas pela ANVISA RDC 166/17, e os valores de Coeficiente de Variação (%) foram menores que o máximo permitido pela ANVISA que é de 5%.

4.9.8.5 Precisão

A repetibilidade do método foi avaliada a partir da leitura (n=6) do ponto médio da curva de calibração (10 µg/mL).

A Tabela 10 apresenta os dados obtidos pelo ensaio de precisão (repetibilidade).

Tabela 10 - Valores para verificação da precisão (repetibilidade)

Concentração Teórica (µg/mL)	Média da Concentração Experimental (µg/mL).	Coefficiente de Variação (%)	Recuperação (%)
10	9,923	4,801	99,23

De acordo com os valores observados na Tabela 10 tem-se que o método é preciso uma vez que os resultados obtidos estão de acordo com o padrão da ANVISA, ou seja, Coeficiente de Variação inferior a 5%.

4.9.8.6 Limite de Detecção

O limite de detecção refere-se a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, obteve-se neste trabalho uma concentração de limite de detecção de 0,59663 µg/mL.

4.9.8.7 Limite de Quantificação

Para esta metodologia obteve-se um limite de quantificação de 1,80 µg/mL que é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003).

4.9.9 Liberação do N-Acetil-D-glucosamina *in vitro* a partir dos fios de quitosana.

Os estudos de liberação de fármaco *in vitro* do fio de quitosana 4% com a adição da GlcNAc (quitosana 4%/GlcNAc) foram realizados em solução de tampão de fosfato salino (PBS), como simulação do fluido corpóreo em pH 7,4. As amostras foram observadas no comprimento de onda de 192 nm, conforme visto na Figura 63.

A Figura 63 mostra as porcentagens de liberação do GlcNAc nos fios de quitosana nos tempos pré-determinados até 49 dias. A liberação da GlcNAc nos fios foi satisfatória.

Verifica-se uma liberação inicialmente lenta, de 7,4% da GlcNAc em 1 dia, e de 27% no prazo de 14 dias.

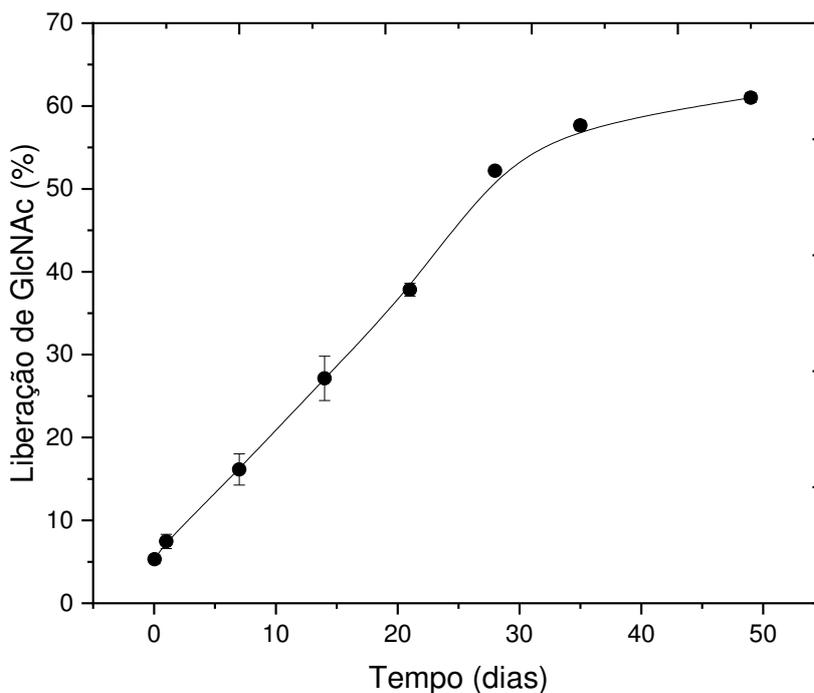


Figura 63 - Gráfico do perfil de liberação do fármaco GlcNAc, nos fios de quitosana (quitosana 4%/GlcNAc), no período até 49 dias, obtidas por espectrofotômetro UV/Vis.

Ou seja, neste sistema não se verifica a liberação do fármaco rapidamente no primeiro instante, chamado de efeito “*burst*”, indicando assim, que o fármaco não se encontra na superfície, e sim é presumível que o fármaco se encontre localizado preferencialmente nas partes mais internas das moléculas de quitosana e distribuído por toda matriz polimérica. Evitando assim, consequências negativas ao sistema de liberação, como a toxicidade local devido à alta concentração de fármaco liberado.

Como mostrado anteriormente nas imagens de MEV (Figura 50), cristais de GlcNAc não foram observados na superfície do fio e nem na sua seção transversal. Além disso, tem-se uma interação entre quitosana com GlcNAc como sugerido pelos DRX e FTIR (Figura 51), o que pode ter resultado em uma liberação lenta do fármaco no fio, e isso pode ter reduzido o efeito inicial da liberação rápida do fármaco. A vantagem deste sistema de liberação é evitar consequências negativas, como a toxicidade local de alta concentração de drogas (Huang e Brazel, 2001).

Este aspecto corrobora também com a primeira etapa do ensaio de biodegradação (Figura 46), onde neste período ocorre apenas o intumescimento da matriz polimérica.

Ou seja, em até 21 dias ocorre apenas o intumescimento dos fios (nos dias 7, 14 e 21, o ganho de massa foi de 128,4%, 116,5% e 112,8 % para os fios de quitosana (Figura 37), respectivamente em solução de PBS e de 113,0%, 135,6%, e 101,5% para os fios de quitosana/GlcNAc (Figura 54).

Uma liberação mais acentuada ocorre após 21 dias, sendo isso provavelmente atribuído ao contato prolongado da matriz polimérica com a solução, o que acarreta o aumento da taxa de degradação da quitosana (Figura 54), em 28 dias é o período que se inicia uma maior quantidade de perda de massa dos fios. Permitindo assim, que o restante do fármaco seja liberado. Cerca de 61% de GlcNAc presente no fio de quitosana foi liberado em 49 dias.

Qian *et al.* (2013), avaliaram a quantidade de glucosamina liberada em um sistema obtido de quitosana/glucosamina, e observou-se que uma maior quantidade de glucosamina era liberada com o aumento da concentração de quitosana. Logo, os autores sugerem que uma formulação de glucosamina com quitosana poderia potencialmente fornecer efeito terapêutico melhorado na dose convencional. Os autores demonstraram, em estudos *in vivo* em ratos e cães beagle, que a presença de quitosana poderia aumentar a concentração plasmática e a biodisponibilidade da glucosamina sem alterar sua eliminação. Assim, os fios de quitosana com GlcNAc podem ser propostos como material de sutura cirúrgica absorvível sendo também promissor, uma vez que poderia potencialmente proporcionar um efeito terapêutico melhorado em comparação com a dose convencional, tendo em vista obter a liberação do fármaco com controle e de forma prolongada.

Conforme visto anteriormente, a quitosana é um polissacarídeo e um dos seus produtos de degradação é a glucosamina. A fim de confirmar que a glucosamina liberada dos fios e observada em UV-Vis, é a N-Acetil-D-Glucosamina adicionada ao sistema e não à glucosamina gerada a partir da degradação de quitosana. Analisou-se as amostras apenas dos fios de quitosana 4% coletadas no período de 49 dias. Onde foi detectada apenas uma quantidade de 6,49 µg de glucosamina (dados não apresentados), liberados como subproduto da degradação do fio. Indicando que a liberação de GlcNAc no fio (Figura 62), é do fármaco adicionado no fio, e não da glucosamina produto da degradação na quitosana.

4.9.10 Cinética de Liberação

A cinética de liberação é um dos parâmetros importantes para ser estudado. Como o sistema de liberação utilizado tem como matriz um polímero de origem natural e biodegradável, deve-se levar em consideração para a modelagem alguns fatores como os mecanismos de difusão do polímero e grau de intumescimento.

A Tabela 11 apresenta os valores dos modelos cinéticos de Ordem Zero, Primeira Ordem, Higuchi, Peppas-Sahlin e Hopfenberg (Apêndice L).

Tabela 11 - Valores dos Modelos de Cinética de Liberação.

Modelos	r²	AIC	MSC
Ordem Zero	0,994	30,52	4,08
Higuchi	0,908	46,08	2,14
Peppas-Sahlin	0,987	35,72	3,43
Hopfenberg	0,981	33,85	3,66

Os mecanismos de cinética de liberação foram estudados com relação aos fios de quitosana contendo GlcNAc. Os dados de liberação dos fios quitosana 4%/GlcNAc foram tratados com os modelos cinéticos de Ordem Zero, Higuchi, Peppas-Sahlin e Hopfenberg (Dredán *et al.*, 1998; Sood e Panchagnula, 1998; Vueba *et al.*, 2004), usando o programa de suplementos o DDSolver para a modelagem e comparação dos modelos.

Segundo Zhang *et al.* (2010), os primeiros 60% de todas as curvas de liberação são usados para análise estatística e, com base na estatística dos valores mais altos de adjusted coefficient of determination R²_{adj} e model selection criterion MSC e os menores valores de Akaike Information Criterion AIC, conforme apresentada na Tabela 11.

De acordo com esses critérios, avaliados nos dados da Tabela 11, verificou-se que o modelo que apresentou melhor ajuste foi o de Ordem Zero, seguidos dos modelos de Peppas-Sahlin e Hopfenberg. Porém observou-se que os dados obtidos não se ajustaram com o modelo de Higuchi.

Verificou-se portanto a obtenção de uma relação linear, sugerindo que a liberação de GlcNAc é independente de concentração, situação esta desejável na formulação de liberação sustentada, pois minimiza as oscilações da concentração de fármacos no sangue (Najib e Suleiman, 1985).

Segundo Siepmann *et al.* (2012), o modelo de ordem zero, indica que a liberação ocorre a taxa constante, sendo isso um sistema desejável, pois minimiza as oscilações na concentração do fármaco no sangue. Portanto, tem-se que, provavelmente a liberação do GlcNAc nos fios de quitosana apresenta uma dosagem de liberação prolongada, permitindo que o fármaco se mantenha dentro da faixa terapêutica por um período de tempo prolongado.

Chattopadhyay *et al.* (2016), estudaram nanopartículas carregadas de diacereína e glucosamina e obtiveram um mecanismo de liberação de ordem zero. Concluindo assim que os resultados obtidos são bons para possíveis tratamentos de osteoartrite.

Ainda de acordo com Siepmann *et al.* (2012), frequentemente, mais de um mecanismo está envolvido em um sistema de liberação ou mecanismos diferentes podem dominar em diferentes estágios deste processo. Assim sendo, a partir dos resultados apresentados na Tabela 11, onde alguns modelos de liberação obtiveram coeficiente de correlação (r^2) próximos de 0,99 verifica-se que a liberação GlcNAc pode ter sido controlada pela combinação de alguns destes modelos. Ou seja, além do mecanismo de liberação do fármaco ocorrer por ordem zero, pode ter ocorrido também a difusão Fickiana (primeiro termo da Equação 1) e relaxamento de Caso-II (segundo termo da equação 1, regida pelo modelo de Peppas e Shalin, onde obtivemos $r^2 = 0,987$, com $n = 0,45$ (Tabela 1). A liberação pelo relaxamento Caso-II ocorre quando o mecanismo de transporte do fármaco em polímeros hidrofílicos, incham em água ou fluidos biológicos (Peppas & Sahlin, 1989).

Unagoll & Jayasuriyaab (2018), obtiveram micropartículas de quitosana-alginato, pela técnica de gelificação ionotrópica contendo vancomicina, e verificaram que o melhor modelo de liberação para o seu sistema foi o de Peppas-Sahlin, indicando que o mecanismo de transporte de drogas era controlado tanto pela difusão Fickiana quanto pelo relaxamento do caso II.

É possível que a liberação de GlcNAc dos filamentos de quitosana apresente uma dosagem de liberação sustentada, permitindo que a droga permaneça dentro da faixa terapêutica por um longo período de tempo.

Esse resultado corrobora com o ensaio de biodegradação (Figura 54), onde verificou-se que até 21 dias se tem a primeira etapa do processo de degradação, que é o intumescimento, sem a perda de massa. Nesse período provavelmente a liberação é controlada pelo processo de difusão, o que resulta em uma liberação mais lenta, pois a água que ocupa a matriz polimérica preenche os poros, e ao longo do tempo eventualmente, pode facilitar a liberação do fármaco.

Após 28 dias verifica-se uma maior porcentagem de liberação do GlcNAc, supostamente esse fenômeno ocorre devido ao processo de erosão, característica do modelo de Hopfenberg. Corroborando novamente com o ensaio de biodegradação, onde tem-se o início da perda de massa, neste período. Ou seja, quando o sistema não consegue mais manter a integridade da rede polimérica, o fármaco é liberado de forma mais efetiva (Siepmann e Siepmann, 2012).

Segundo e Siepmann *et al.* (2012), uma característica da erosão é que as dimensões do sistema diminuem com o tempo, e a liberação do fármaco se correlaciona com a erosão (conforme visto no ensaio por MEV, Figuras 57 e 58).

O modelo de Higuchi não foi considerado um modelo apropriado para o sistema em análise, devido a equação deste modelo descrever a liberação de um fármaco a partir de uma geometria planar e fina, como também o inchaço e/ou a dissolução da matriz neste modelo é insignificante.

4.9.10 Citotoxicidade Método de Difusão em Ágar

Os testes de citotoxicidade *in vitro* dos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc para células L929 foram avaliados pelo método de difusão em ágar. A citotoxicidade foi avaliada observando-se o tamanho do halo ao redor do material testado após 24 horas de incubação, utilizando os critérios de pontuação apresentados na Tabela 3.

Tabela 12 - Avaliação de citotoxicidade usando o teste de ágar

	Leitura das placas Média (cm)	Grau de Citotoxicidade
Controle Negativo	0.00	0
Controle Positivo	0.92	3

Quitosana 4%	0.00	0
Quitosana 4%/GlcNAc	0.00	0

A partir da avaliação dos halos, os resultados qualitativos do controle positivo, controle negativo e dos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc foram obtidos e os valores médios encontrados para as amostras são mostrados na Tabela 12. Como mostrado na Figura 64 (a), ocorreu a formação de um halo ao redor do controle positivo, revelando a morte celular (lise), ou seja, sua toxicidade. Conforme estabelecido pela ISO 10993-5 (Tabela 3), para tamanho do halo entre 0,45 e 1,0 cm, a citotoxicidade é moderada (grau 3). Assim, uma vez que o tamanho da zona de branqueamento do controle positivo foi de 0,92 cm (Tabela 12), a sua citotoxicidade foi moderada.

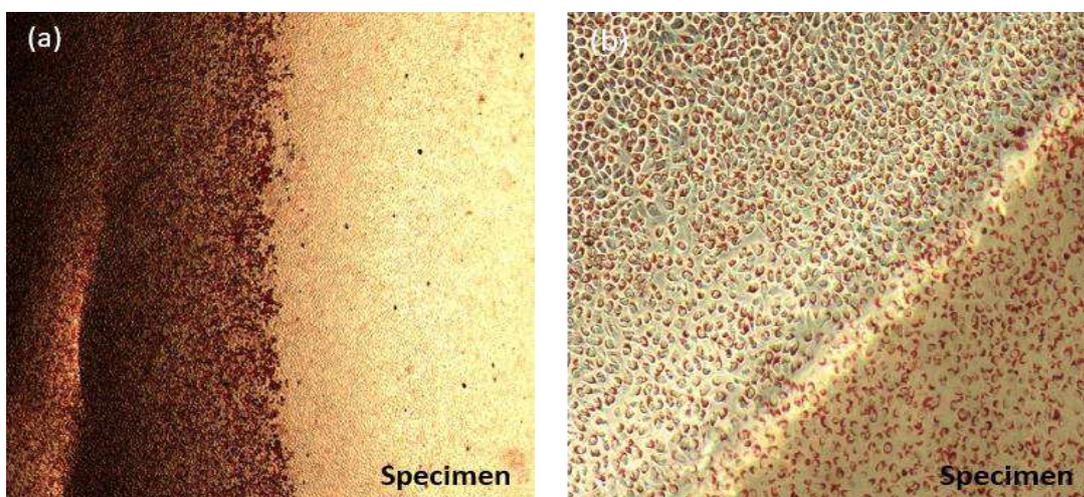


Figura 64 - Imagens de Microscopia Ótica (a) controle positivo e (b) controle negativo.

Os resultados dos testes de citotoxicidade para os fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc mostraram que a linhagem celular L929 não apresentou formação de halo ao redor dos filamentos e alterações na morfologia celular não foram observadas (Figura 65(a) e 65(b)) de forma semelhante aos controles negativos (Figura 64(b)).

Os resultados obtidos sugerem que os fios de quitosana e quitosana/GlcNAc não são tóxicos para as células L929 e permitem o seu uso potencial como material de sutura cirúrgica absorvível.

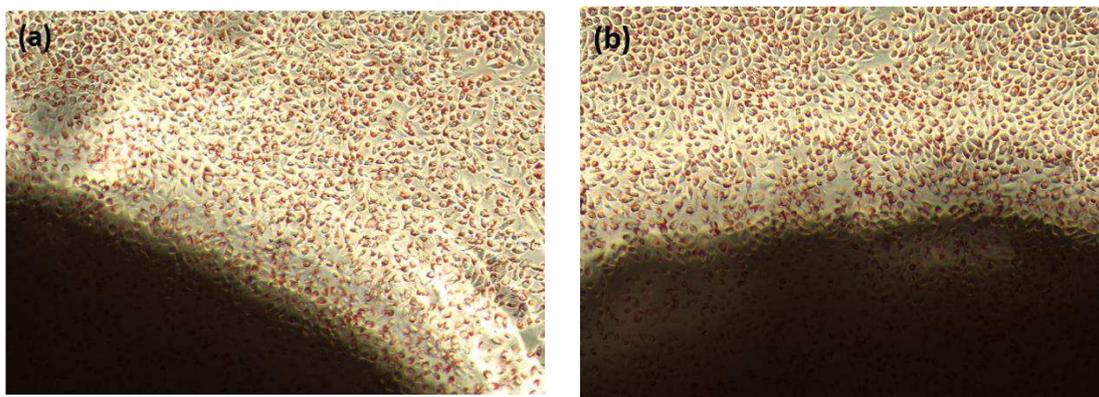


Figura 65 - Ausência de descoloramento ao redor e sob as amostras do (a) fio de quitosana 4% e (b) fio de quitosana 4%/GlcNAc.

Esses resultados estão de acordo com dados previamente relatados atestando a não citotoxicidade de materiais à base de quitosana (Rejinold *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2014).

Resultados semelhantes foram reportados por Asiah *et al.* (2006), que estudaram a citotoxicidade *in vitro*, de filmes de quitosana em culturas de fibroblastos humanos e concluíram que a amostra não apresentava citotoxicidade podendo ser utilizada como biomaterial.

Vulcani *et al.* (2012), obtiveram membranas nanoestruturadas obtidas por eletrofiliação de quitosana/PEO e realizaram a ensaio de citotoxicidade pelo método de difusão em ágar aplicado a três linhagens celulares diferentes, HEP-2 (células humanas de carcinoma da laringe), Vero (células renais de macacos verdes africanos) e McCoy (células de fibroblastos de camundongo) e comprovou a biocompatibilidade da membrana de quitosana/PEO em todos os casos estudados.

4.9.11 Avaliação clínica da ferida cirúrgica

A avaliação clínica, visual e tátil foi realizada nos animais e registros fotográficos foram feitos nos dias 0,1,2,3,4,5,6,7 e 14 após a intervenção cirúrgica, com o objetivo de acompanhar o processo de cicatrização da ferida.

Quitosana

Quitosana/GlcNac

Catgut



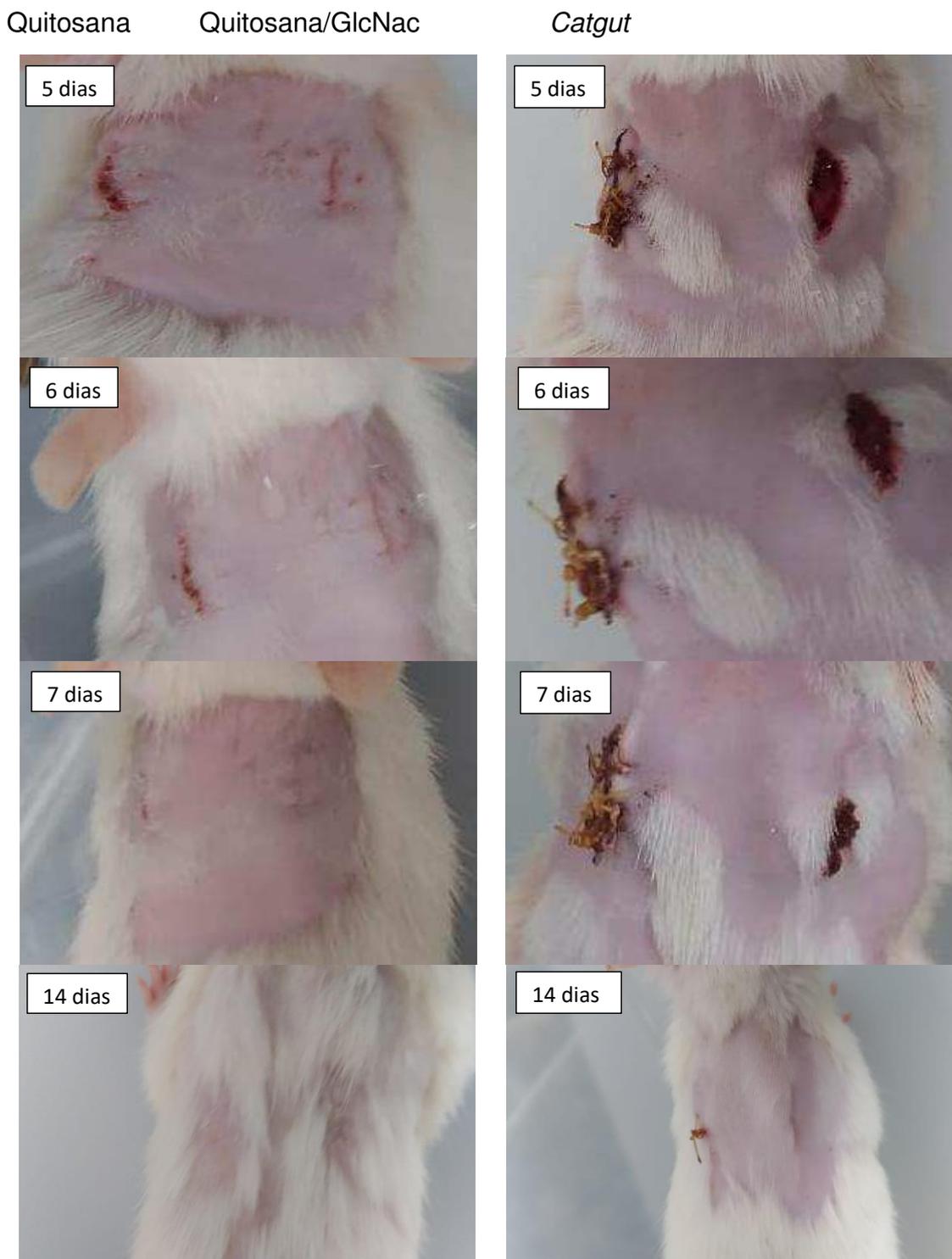


Figura 66 – Aspecto clínico pós cirúrgico do dorso de animais. Quitosana, quitosana/GlcNac e catgut, nos dias 0,1,2,3,4,5,6,7,14.

Inicialmente realizou-se a tricotomia do pelo dos animais em seguida foi realizada a antissepsia. A partir de então fez-se a incisão de aproximadamente 2,0 cm de comprimento, com lâmina de bisturi n^o 15, em aço carbono Figura 66 (0 dia).

Após isto realizou-se o processo do fechamento da ferida utilizando os fios de quitosana 4%, quitosana 4%/GlcNAc e *catgut* cromado (controle), os animais foram alojados em gaiolas. O fio comercial *catgut* cromado foi escolhido por este apresentar uma biodegradação *in vitro* e perda de 50% de sua força de tração, semelhante aos resultados obtidos pelo fio de quitosana 4%/GlcNAc, conforme apresentado na seção 4.9.7.4.

Após isto foram realizadas análise visual e tátil dos ferimentos em 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 14 dias.

A partir do primeiro dia observa-se que os animais suturados com os fios de quitosana e quitosana/GlcNAc apresentaram resposta inflamatória moderada, sendo menos acentuado que a resposta exibida pelos animais tratados com fio *catgut*, o mesmo aspecto visual é observado para os dias 2 e 3. Essa diferença provavelmente se deve ao tipo de absorção de cada fio.

Em nenhum dos animais observou-se complicações com secreção purulenta.

No quarto dia já é possível verificar a ausência dos fios de quitosana e quitosana/GlcNAc, como também visualiza-se que 100% da ferida foi fechada com o fio de quitosana/GlcNAc, mostrando a eficácia do fio com N-acetil-D-glucosamina. Isso já era esperado pois a GlcNAc juntamente com a quitosana além de apresentar propriedades hemostáticas pode aumentar a produção de ácido hialurônico na ferida, promovendo uma rápida cicatrização (Günes e Tihminlioglu, 2017; Ouyang *et al.*, 2018). Comportamento semelhante de cicatrização é observada nos dias 5,6 e 7.

Com relação ao fio apenas de quitosana, tem-se ainda uma pequena abertura no local da incisão, que permaneceu até 14 dias.

Em 14 dias já tem-se mais de 50% dos pelos crescidos tanto dos animais tratados com os fios de quitosana, quanto nos animais tratados com fios de quitosana/GlcNAc. Enquanto no animal tratado com o fio comercial *catgut*, não observa-se ainda o crescimento dos pelos.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho que tem como objetivo desenvolver fios de quitosana e potencializar seu efeito com a adição da N-Acetil-D-glucosamina tem-se que:

A partir dos ensaios reológicos verificou-se que as viscosidades mais apropriadas para o processamento por fiação úmida eram as concentrações de 3 e 4% de quitosana.

As morfologias dos fios observado pelas técnicas de Microscopia Ótica e Eletrônica de Varredura, apresentam-se de forma homogênea e com a presença de algumas ranhuras externas que podem proporcionar uma maior adesão ao tecido durante a sutura.

Destaca-se que a evolução das propriedades mecânicas (força de tração (N)) em função do processo de tensão durante a secagem, ocorreu devido à elevação da cristalinidade, destacando que os fios obtidos nestas condições obtiveram melhores força de tração (N). Enfatizando que essa melhoria nas propriedades mecânicas ocorreu sem o uso de aditivos.

A degradação dos fios foi analisada, e através da avaliação da perda de massa e das técnicas de FTIR, MEV e propriedades mecânicas, observou-se que a degradação desses fios inicia-se após o período de 21 dias, e em 49 dias tem-se a degradação.

Após a adição do GlcNAc observou-se um decaimento força de tração (N) suportada pelo fio, porém essa redução não inviabiliza a utilização dos fios, pois os mesmos apresentam-se dentro da norma de fios de sutura cirúrgicos. Provavelmente isto ocorreu devido ao aumento da característica amorfa do material. Contatou-se ainda, que a adição do mesmo não alterou a morfologia dos fios. Porém, acelerou o processo de degradação ocorrendo em 35 dias. E que em 21 dias, mesmo não ocorrendo o início de perda de massa, os fios já apresentavam redução de 54,7% de força de tração (N) e de 15% do seu diâmetro.

No ensaio de liberação do GlcNAc constatou-se que fármaco foi impregnado e liberado dos fios de quitosana de forma prolongada, sendo que a liberação máxima de 60% ocorreu em 49 dias.

Com relação a cinética de liberação observou-se que o modelo predominante foi o de ordem zero, seguido dos modelos de Peppas-Sahlin e Hopfenberg.

Os dados de citotoxicidade *in vitro* dos fios de quitosana 4% e quitosana 4%/GlcNAc para as células L929 mostraram que os fios não se apresentam tóxico para estas células.

Com relação ao ensaio clínico dos fios com os animais, constatou-se que os fios de sutura com o fármaco apresentam um bom desempenho na atividade e no tempo de cicatrização.

Deste modo, tem-se que as propriedades mecânicas dos fios com GlcNAc juntamente com outras características avaliadas como, biodegradação, biocompatibilidade e um perfil de liberação prolongada, apresenta-se com grande potencial para aplicações como fios de suturas cirúrgicas. Sendo capaz de acelerar o processo de cicatrização de feridas, aliviar a dor e minimizar as infecções no local da cirurgia, como resultado da liberação prolongada da GlcNAc, podendo ser utilizado em animais maiores e até em feridas humanas.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Obtenção de fibras de quitosana coaxiais como também triaxiais pelo método de fiação a úmido, onde o núcleo é provido de um princípio ativo;
- Obtenção scaffolds a partir dos fios;
- Desenvolvimento de fios ocós para liberação de fármaco;
- Desenvolvimento de curativos a partir do entrelaçamento desses fios;
- Obter fibras e a partir delas usar outras técnicas de fabricação como tecelagem, tricô e métodos de entrelaçamento. Sendo estas estruturas têxteis usadas como tecnologias de substituição e/ou celular e tecidual, como desenvolvimento de músculos e cartilagem fornecendo criação de vasos e/ou nervos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFZAL, S.; MASWAL, M.; DAR, A. A. Rheological behavior of pH responsive composite hydrogels of chitosan and alginate: Characterization and its use in encapsulation of citral. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 169, p. 99–106, 2018.

AGRAWAL, P.; STRIJKERS, G. J.; NICOLAY, K. Chitosan-based systems for molecular imaging. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 42–58, 2010.

AHMED, S.; IKRAM, S. Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing. **Achievements in the Life Sciences**, v. 10, n. 1, p. 27–37, 2016.

ALBANNA, M. Z.; BOU-AKL, T. H.; BLOWYTSKY, O.; WALTERS, H. L.; MATTHEW, H. W. T. Chitosan fibers with improved biological and mechanical properties for tissue engineering applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 20, p. 217–226, 2013a.

ALBANNA, M. Z.; BOU-AKL, T. H.; BLOWYTSKY, O.; WALTERS, H. L.; MATTHEW, H. W. T. Chitosan fibers with improved biological and mechanical properties for tissue engineering applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 20, p. 217–226, 2013b.

ALHOSSEINI, S. N.; MOZTARZADEH, F.; MOZAFARI, M.; ASGARI, S.; DODEL, M. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, n. 2012, p. 25–34, 2012.

ALNAQBI, M. A.; GREISH, Y. E.; MOHSIN, M. A.; ELUMALAI, E. J.; BLOOSHI, A. AL. Morphological variations of micro-nanofibrous sorbents prepared by electrospinning and their effects on the sorption of crude oil. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 2, p. 1850–1861, 2016.

ALVES, A. P.; SÁ, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; FELIPE, G. C.; HENRIQUE, F. V. Avaliação biomecânica e dimensional do fio de sutura à base de quitosana. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 4, p. 896–900, 2017.

ALVES, N. M.; MANO, J. F. Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 43, n. 5, p. 401–14, 2008.

ARAFAT, M. T.; TRONCI, G.; YIN, J.; WOOD, D. J.; RUSSELL, S. J. Biomimetic wet-stable fibres via wet spinning and diacid-based crosslinking of collagen triple helices. **Polymer (United Kingdom)**, v. 77, p. 102–112, 2015.

ARAIZA, R. N. R.; ROCHAS, C.; DAVID, L.; DOMARD, A. Interrupted wet-spinning process for chitosan hollow fiber elaboration. **Macromolecular Symposia**, v. 266, n. 1, p. 1–5, 2008.

ASIAH, M.N., HALIM, A.S., LAU, H.Y., UJANG, Z.; HAZRI, A. Biocompatibility of chitosan films in fibroblasts culture. **The Malaysian Journal of Medical Science**, v. 13, n. 1, p. 207-219, 2006.

ASSIS, O. B. G. Alteração do Caráter Hidrofílico de Filmes de Quitosana por Tratamento de Plasma de HDMS. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 603–606, 2010.

BAJAJ, P.; SREEKUMAR, T. V; SEN, K. Structure Development during Dry – Jet – Wet Spinning of Acrylonitrile / Vinyl Acids and Acrylonitrile / Methyl Acrylate Copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 86, p. 773–787, 2002.

BAKLAGINA, Y. G.; KLECHKOVSKAYA, V. V.KONONOVA, S. V.; PETROVA, V. A.; POSHINA, D. N.; OREKHOV, A. S. Polymorphic Modifications of Chitosan. **Crystallography Reports**, v. 63, n. 3, p. 303–313, 2018.

BARROS, M.; GORGAL, R.; MACHADO, A. P.; CORREIA, A.; MONTENEGRO, N. Princípios básicos em cirurgia: Fios de sutura. **Acta Medica Portuguesa**, v. 24, n. 4, p.1051–1056, 2011.

BAUTISTA-QUIJANO, J. R.; PÖTSCHKE, P.; BRÜNIG, H.; HEINRICH, G. Strain sensing, electrical and mechanical properties of polycarbonate/multiwall carbon nanotube monofilament fibers fabricated by melt spinning. **Polymer (United Kingdom)**, v. 82, p. 181–189, 2016.

BELL, R. V; PARKINS, C. C.; YOUNG, R. A.; PREUSS, C. M.; STEVENS, M. M.Assembly of emulsion droplets into fibers by microfluidic wet spinning. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 4, p. 813–818, 2016.

BISSETT, D. L. Glucosamine : an ingredient with skin and other benefits. **Journal Innoventions**, v. 5, p. 309–315, 2006.

BRAGA, T. P.; GOMES, E. C. C.; SOUSA, A. F. DE; CARREÑO, N. L. V.; LONGHINOTTI, E. Synthesis of hybrid mesoporous spheres using the chitosan as template. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 355, n. 14–15, p. 860–866, 2009.

BRASIL. **Resolução – Resolução nº 899. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos.**

BROUWER, J.; VAN LEEUWEN-HERBERTS, T.; DE RUIT, M. O. VAN. Determination of lysozyme in serum, urine, cerebrospinal fluid and feces by enzyme immunoassay. **Clinica Chimica Acta**, v. 142, n. 1, p. 21–30, 1984.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F. .; ARGÜELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, v. 42, n. 8, p. 3569–3580, 2001.

BRUSCHI, M. L. **Mathematical models of drug release.** In: Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems. Elsevier, 2015, ISBN 9780081001127.

CAI, N.; LI, C.; HAN, C.; LUO, X.; SHEN, L. Tailoring mechanical and antibacterial properties of chitosan/gelatin nanofiber membranes with Fe₃O₄ nanoparticles for potential wound dressing application. **Applied Surface Science**, v. 369, p. 492–500, 2016.

CARNEIRO, J.; TEDIM, J.; FERREIRA, M. G. S. Chitosan as a smart coating for corrosion protection of aluminum alloy 2024: A review. **Progress in Organic Coatings**, v. 89, p. 348–356, 2015.

CERCHIARA, T.; ABRUZZO, A.; PAROLIN, C.; VITALI, B.; BIGUCCI, F. Microparticles based on chitosan/carboxymethylcellulose polyelectrolyte complexes for colon delivery of vancomycin. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 124–130, 2016.

CHAMPEAU, M.; THOMASSIN, J. M.; TASSAING, T.; JÉRÔME, C. Current manufacturing processes of drug-eluting sutures. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 11, p. 1293–1303, 2017.

CHANPHAI, P.; TAJMIR-RIAAHI, H. A. Chitosan nanoparticles conjugate with trypsin and trypsin inhibitor. **Carbohydrate polymers**, v. 144, p. 346–52, 2016.

CHATTOPADHYAY, H.; AUDDY, B.; SUR, T.; SANA, S.; DATTA, S. Accentuated transdermal application of glucosamine sulphate attenuates experimental osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, p. 4470–4481, 2016.

CHEN, J.; SHEN, C.; LIU, C. N -Acetylglucosamine : Production and Applications. **Marine Drugs**, v. 8, n. 9, p. 2493–2516, 2010.

CHEN, R. H.; HSU, C. N.; CHUNG, M. Y.; TSAI, W. L.; LIU, C. H. Effect of different concentrations of collagen, ceramides, N-acetyl glucosamine, or their mixture on enhancing the proliferation of keratinocytes, fibroblasts and the secretion of collagen and/or the expression of mRNA of type I collagen. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 16, n. 1, p. 66–74, 2008.

CHILDS, D. R.; MURTHY, A. S. Overview of Wound Healing and Management. **Surgical Clinics of North America**, v. 97, p. 189–207, 2017.

CHU, C. C. Types and properties of surgical sutures. In: KING, M. W.; GUPTA, B. S.; GUIDOIN, R. (Ed.). **Biotextiles as Medical Implants**. Cambridge, UK, 2013. p.231-273.

CHUNJIE, L.; YUANYUAN, J.; QI, Z.; ZONGDAO, S.; HAIYAN, C. Glucosamine hydrochloride combined with hyaluronate for temporomandibular joint osteoarthritis: a primary report of randomized controlled trial. **West China Journal of Stomatology**, v. 29, n. 6, p. 2–6, 2011.

COPELAND, C. G.; BELL, B. E.; CHRISTENSEN, C. D.; LEWIS, R. V. Development of a Process for the Spinning of Synthetic Spider Silk. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 1, n. 7, p. 577–584, 2015.

COSTA, P. J. C. DA. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 141–153, 2002.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780–792, 2013.

CRUZ, R. DE C. A. L.; DINIZ, L. G. M.; LISBOA, H. M.; FOOK, M. V. L. Effect of different carboxylic acids as solvent on chitosan fibers production by wet spinning. **Revista Matéria**, p. 525–531, 2016.

DALIRFARDOUEI, R.; KARIMI, G.; JAMIALAHMADI, K. Molecular mechanisms and biomedical applications of glucosamine as a potential multifunctional therapeutic agent. **Life Sciences**, v. 152, p. 21–29, 2016.

DART, A. J.; DART, C. M. Suture Material : Conventional and Stimuli Responsive. **Comprehensive Biomaterials**, v. 6, p. 573–587, 2011.

DART, A. J.; DART, C. M. Suture Material: Conventional and Stimuli Responsive. **Comprehensive Biomaterials II**, v. 7, p. 746–771, 2017.

DAS, D.; PAL, A. Adsorbabilization phenomenon perceived in chitosan beads leading to a fast and enhanced malachite green removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 290, p. 371–380, 2016.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.

DASH, S.; MURTHY, P. N.; NATH, L.; PRASANTA, C. Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research**, v. 67, n. 3, p. 217–223, 2010.

DESORME, M.; MONTEBAULT, A.; LUCAS, J. M.; ROCHAS, C.; BOUET, T. Spinning of hydroalcoholic chitosan solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 50–63, 2013.

DRAGOSTIN, O. M.; SAMAL, S. K.; DASH, M.; LUPASCU, F.; PÂNZARIU, A. New antimicrobial chitosan derivatives for wound dressing applications. **Carbohydrate polymers**, v. 141, p. 28–40, 2016.

DREDÁN, J.; ZELKÓ, R.; ANTAL, I.; BIHARI, E.; RÁCZ, I. Effect of chemical properties on drug release from hydrophobic matrices. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 190, n. 2, p. 257–260, 1998.

DRESVYANINA, E. N.; DOBROVOL, I. P.; POPRYADUKHIN, P. V; YUDIN, V. E.; IVAN, E. M.; et al. Influence Of Spinning Conditions On Properties Of Chitosan Fibers. **Fibre Chemistry**, v. 44, n. 5, p. 20–23, 2013.

EHRlich, H.; JANUSSEN, D.; SIMON, P.; BAZHENOV, V. V.; SHAPKIN, N. P. Nanostructural organization of naturally occurring composites-Part II: Silica-chitin-based biocomposites. **Journal of Nanomaterials**, v. 2008, n. 1, 2008.

ELGADIR, M. A.; UDDIN, M. S.; FERDOSH, S.; ADAM, A.; CHOWDHURY, A. J. K.. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 3, p. 619–629, 2014.

ELSNER, J. J.; ZILBERMAN, M. Antibiotic-eluting bioresorbable composite fibers for wound healing applications: Microstructure, drug delivery and mechanical properties. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 8, p. 2872–2883, 2009.

ENACHE, A. A.; DAVID, L.; PUAUX, J.-P.; BANU, I.; BOZGA, G. An Experimental Study of Chitosan Wet Spinning Process. **UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science**, v. 80, n. 2, p. 242–249, 2018.

ENDRES, M. B.; WEICHOLD, O. Sorption-active transparent films based on chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, p. 108–114, 2019.

FACCHI, S. P.; SCARIOT, D. B.; BUENO, P. V. A.; SOUZA, P. R.; FIGUEIREDO, L. C. Preparation and cytotoxicity of N-modified chitosan nanoparticles applied in curcumin delivery. **International journal of biological macromolecules**, v. 87, p. 237–245, 2016.

FAN, L.; LUO, C.; LV, Z.; LU, F.; QIU, H. Removal of Ag⁺ from water environment using a novel magnetic thiourea-chitosan imprinted Ag⁺. **Journal of Hazardous Materials**, v. 194, p. 193–201, 2011.

FILHO, S. H. DE Á.; LAMARO, L.; QUEIROZ, P. J. B.; FERREIRA, K. D.; SILVA, L. A. F. DA. Aspectos Gerais Dos Fios De Sutura Utilizados ou com Potencial Aplicabilidade na Medicinal Veterinária. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, v. 11, n. 22, p. 319–350, 2015.

FOX, B. A.; STEPHENS, M. M. Glucosamine hydrochloride for the treatment of osteoarthritis symptoms. **Clinical Interventions in Aging**, v. 2, n. 4, p. 599–604, 2007.

FREIER, T.; KOH, H. S.; KAZAZIAN, K.; SHOICHET, M. S. Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation. **Biomaterials**, v. 26, n. 29, p. 5872–5878, 2005.

FREITAS, E. D.; VIDART, J. M. M.; SILVA, E. A.; DA SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Development of mucoadhesive sericin/alginate particles loaded with ibuprofen for sustained drug delivery. **Particuology**, v.41, p 65-73, 2018.

FUH, Y.-K.; WU, Y.-C.; HE, Z.-Y.; HUANG, Z.-M.; HU, W.-W. The control of cell orientation using biodegradable alginate fibers fabricated by near-field electrospinning. **Materials Science and Engineering: C**, v. 62, p. 879–887, 2016.

GALE, A. J. Continuing Education Course #2: Current Understanding of Hemostasis. **Toxicologic Pathology**, v. 39, n. 1, p. 273–280, 2011.

GINDZIENSKI, A.; ZWIERZ, K.; RÓZANSKI, A. The Activity from of N-Acetylglucosamine Human Gastric Mucosa. **Biochemical Medicine**, v. 5, p. 188–194, 1971.

GOGOI, D.; CHOUDHURY, A. J.; CHUTIA, J.; PAL, A. R.; KHAN, M. Development of advanced antimicrobial and sterilized plasma polypropylene grafted MUGA (antheraea assama) silk as suture biomaterial. **Biopolymers**, v. 101, n. 4, p. 355–365, 2014.

GOKARNESHAN, N.; DHATCHAYANI, U. Performance Evaluation of Newer Types of Silk Surgical Sutures. **Journal of Gerontology & Geriatric Medicine**, v. 4, n. 2, 2018.

GONZALEZ, A. C. O.; ANDRADE, Z. A.; COSTA, T. F.; MEDRADO, A. R. A. P. Wound healing - A literature review. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 5, p. 614–620, 2016.

GOY, R. C.; BRITTO, D. DE; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros**, v. 19, n. 3, p. 241–247, 2009.

GREENBERG, J. A.; CLARK, R. M. Advances in suture material for obstetric and gynecologic surgery. **Reviews in obstetrics and gynecology**, v. 2, n. 3, p. 146–158, 2009.

GREENBERG, J. A.; GOLDMAN, R. H. Barbed suture: a review of the technology and clinical uses in obstetrics and gynecology. **Reviews in obstetrics & gynecology**, v. 6, n. 3–4, p. 107–115, 2013.

GU, B. K.; PARK, S. J.; KIM, M. S.; LEE, Y. J.; KIM, J.-I. Gelatin blending and sonication of chitosan nanofiber mats produce synergistic effects on hemostatic functions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 89–96, 2016.

GÜNES, S.; TIHMINLIOGLUB, F. International Journal of Biological Macromolecules Hypericum perforatum incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 933–943, 2017.

HAFSA, J.; SMACH, M. ALI; BEN KHEDHER, M. R.; CHARFEDDINE, B.; LIMEM, K. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 356–364, 2016.

HAMDI, M.; NASRI, R.; HAJJI, S.; NIGEN, M.; LI, S. Acetylation degree, a key parameter modulating chitosan rheological, thermal and film-forming properties. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 48–60, 2019.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40–50, 2016.

HAO, X. P.; CHEN, S. G.; WANG, W. H.; YANG, Z. Q.; YUE, L. F. AgNP-coordinated glucosamine-grafted carbon nanotubes with enhanced antibacterial properties. **New J. Chem.**, v. 41, n. 15, p. 7045–7051, 2017.

HERDYASTUTI, N.; CAHYANINGRUM, S. E. Analysis of N-acetylglucosamine from enzymatic degradation of amorphous chitin. **Rasayan Journal of Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 226–233, 2017.

HINENO, M. Infrared Spectra and Normal Vibrations of B-D-Glucopyranose. **Carbohydrate Research**, v. 56, n. 4, p. 219–227, 1977.

HUAIXAN, L. N.; ARRUDA, S. S. B.; LEONARDO, A. S.; VIANA, J. C.; BARRETO-VIANNA, A. R. C. Macroscopic, histochemical, and immunohistochemical

comparison of hysterorrhaphy using catgut and chitosan suture wires. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 104, n. 1, p. 50–57, 2016.

HUANG, C. H.; LEE, M. Y.; KIM, S. An inverse problem in determining the acid and salt diffusivities simultaneously for polymer solution in a wet spinning process. **Applied Mathematical Modelling**, v. 37, n. 3, p. 1108–1125, 2013.

HUANG, X.; BRAZEL, C. S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, n. 2–3, p. 121–136, 2001.

HUBERT, C.; HOUARI, S.; LECOMTE, F.; HOUBART, V.; BLEYE, C. DE. Development and validation of a sensitive solid phase extraction / hydrophilic interaction liquid chromatography / mass spectrometry method for the accurate determination of glucosamine in dog plasma. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 3275–3281, 2010.

HOUCK, M.; SIEGEL, J. Textile Fibers In: (Ed.). Elsevier. **Fundamentals of Forensic Science (Third Edition)**. Amsterdam, 2015. p. 383-403.

HUMPOLÍČ, P.; SWILEM, A. E.; LEHOCK, M.; JUNKAR, I.; MOZETIČ, M. Developing a biomaterial interface based on poly (lactic acid) via plasma-assisted covalent anchorage of d -glucosamine and its potential for tissue regeneration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 148, p. 59–65, 2016.

HUNGERFORD, M. W.; VALAIK, D. Chondroprotective Agents: Glucosamine and Chondroitin. **Foot Ankle Clinics**, v. 8, p. 201–219, 2003.

IBRAHIM, A.; GILZAD-KOHAN, M. H.; AGHAZADEH-HABASHI, A.; JAMALI, F. Absorption and Bioavailability of Glucosamine in the Rat. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 7, p. 2574–2583, 2012.

IM, J. N.; KIM, J. K.; KIM, H. K.; IN, C. H.; LEE, K. Y. In vitro and in vivo degradation behaviors of synthetic absorbable bicomponent monofilament suture prepared with poly(p-dioxanone) and its copolymer. **Polymer Degradation and Stability**, v. 92, n. 4, p. 667–674, 2007.

INGLE, N. P.; CONG, H.; KING, M. W. Barbed suture technology In: KING, M. W.; GUPTA, B .S.; GUIDOIN, R. (Ed.). **Biotextiles as Medical Implants**. Cambridge, UK, 2013. p.366-407.

ISLAM, A.; EHSAN, A. Comparison of suture material and technique of closure of subcutaneous fat and skin in caesarean section. **North American Journal of Medical Sciences**, v. 3, n. 2, 2011.

ISO-10993-5. **Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**, 2009.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; SUDHEESH KUMAR, P. T.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 322–337, 2011.

JIN, Q.; YU, H.; WANG, X.; LI, K.; LI, P. Effect of the molecular weight of water-soluble chitosan on its fat- / cholesterol- binding capacities and inhibitory activities to pancreatic lipase. **PeerJ**, v. 1, p. 1–22, 2017.

JOSEPH, B.; GEORGE, A.; GOPI, S.; KALARIKKAL, N.; THOMAS, S. Polymer sutures for simultaneous wound healing and drug delivery – A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 524, n. 1–2, p. 454–466, 2017.

JU, J.; KANG, W.; LI, L.; HE, H.; QIAO, C. Preparation of poly (tetra fluoroethylene) nano fiber film by electro- blown spinning method. **Materials Letters**, v. 171, p. 236–239, 2016.

JUDAWISASTRA, H.; HADYISWANTO, I. O. C.; WINIATI, W. The Effects of Demineralization Process on Diameter, Tensile Properties and Biodegradation of Chitosan Fiber. **Procedia Chemistry**, v. 4, n. 0, p. 138–145, 2012.

JUNG, C.; JO, J.; LEE, S.; PARK, Y.; JUNG, N. Anti-cancer properties of glucosamine-hydrochloride in YD-8 human oral cancer cells: Induction of the caspase-dependent apoptosis and down-regulation of HIF-1 a. **Toxicology in Vitro**, v. 26, p. 42–50, 2012.

KAGAYA, S.; MIYAZAKI, H.; INOUE, Y.; KATO, T.; YANAI, H. Chelating fibers prepared with a wet spinning technique using a mixture of a viscose solution and a polymer ligand for the separation of metal ions in an aqueous solution. **Journal of Hazardous Materials**, v. 203–204, p. 370–373, 2012.

KANAZAWA, M.; FUKUDO, S. Effects of Fasting Therapy on Irritable Bowel Syndrome Motoyori Kanazawa and Shin Fukudo. **International Journal of Behavioral Medicine**, v. 13, n. 3, p. 214–220, 2006.

KANDIMALLA, R.; KALITA, S.; CHOUDHURY, B.; DEVI, D.; KALITA, D. Fiber from ramie plant (*Boehmeria nivea*): A novel suture biomaterial. **Materials Science and Engineering: C**, v. 62, p. 816–822, 2016.

KANG, W.; BI, B.; ZHUO, R.; JIANG, X. Photocrosslinked methacrylated carboxymethyl chitin hydrogels with tunable degradation and mechanical behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 160, p. 18–25, 2017.

KANIMOZHI, K.; KHALEEL BASHA, S.; SUGANTHA KUMARI, V. Processing and characterization of chitosan/PVA and methylcellulose porous scaffolds for tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 61, p. 484–491, 2016.

KARBASI, S.; KHORASANI, S.; EBRAHIMI, S.; KHALILI, S.; FEKRAT, F. Preparation and characterization of poly (hydroxy butyrate)/chitosan blend scaffolds for tissue engineering applications. **Advanced Biomedical Research**, v. 5, n. 1, p. 177, 2016.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 3–11, 2010.

KELECHI, T. J.; MUELLER, M.; HANKIN, C. S.; BRONSTONE, A.; SAMIES, J. A randomized, investigator-blinded, controlled pilot study to evaluate the safety and efficacy of a poly-N-acetyl glucosamine–derived membrane material in patients with venous leg ulcers. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 66, n. 6, p. 209–215, 2012.

KERCH, G. Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 159–166, 2015.

KHAN, G.; YADAV, S. K.; PATEL, R. R.; KUMAR, N.; BANSAL, M. Tinidazole functionalized homogeneous electrospun chitosan / poly (E -caprolactone) hybrid nanofiber membrane: Development , optimization and its clinical implications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 1311–1326, 2017.

KIM, H.; TATOR, C. H.; SHOICHET, M. S. Chitosan implants in the rat spinal cord: Biocompatibility and biodegradation. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 97 A, n. 4, p. 395–404, 2011.

KIM, J. C.; LEE, Y. K.; LIM, B. S.; RHEE, S. H.; YANG, H. C. Comparison of tensile and knot security properties of surgical sutures. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 18, n. 12, p. 2363–2369, 2007.

KINADJIAN, N.; DEPARDIEU, M.; HILLARD, E. A.; BACKOV, R. Extrusion-based Integrative Chemistry: generation and applications of inorganic fibers. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, p. 674–683, 2016.

KNAUL, J.; HOOPER, M.; CHANYI, C.; CREBER, K. A. M. Improvements in the Drying Process for Wet-Spun Chitosan Fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 69, p. 1435–1444, 1998.

KNAUL, J. Z.; CREBER, K. A. M. Coagulation rate studies of spinnable chitosan solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 66, n. 1, p. 117–127, 1997.

KOIDE, S. S. Chitin-Chitosan: Properties, Benefits And Risks. **Nutrition Research**, v. 18, n. 6, p. 1091–1101, 1998.

KORSMEYER, R. W.; GURNY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N. A. Mechanism of release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, p. 25–35, 1983.

KOSTUJ, T.; WIESBADEN, O.; SCHULTZ, W. DE. Mechanical testing of different knot types using high-performance suture material. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v. 23, p. 1351–1358, 2015.

KOZICKI, M.; KOŁODZIEJCZYK, M.; SZYNKOWSKA, M.; PAWLACZYK, A.; LEŚNIEWSKA, E. Hydrogels made from chitosan and silver nitrate. **Carbohydrate polymers**, v. 140, p. 74–87, 2016.

KUMAR, N.; BANSAL, A.; GUPTA, R. Shear rate and mass transfer coefficient in internal loop airlift reactors involving non-Newtonian fluids. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 136, p. 315–323, 2018.

KUMAR, M. N. . A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1–27, 2000.

KUO, C. J.; LAN, W. L. Gel spinning of synthetic polymer fibres In: ZHANG, D. (Ed.). **Advances in filament yarn spinning of textiles and polymers**. England: Massachusetts, 2014. p.100-112.

KURITA, K.; KAJI, Y.; MORI, T.; NISHIYAMA, Y. Enzymatic degradation of β -chitin: susceptibility and the influence of deacetylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 19–21, 2000.

KYZAS, G. Z.; KOSTOGLU, M.; LAZARIDIS, N. K.; LAMBROPOULOU, D. A.; BIKIARIS, D. N. Environmental friendly technology for the removal of pharmaceutical contaminants from wastewaters using modified chitosan adsorbents. **Chemical Engineering Journal**, v. 222, p. 248–258, 2013.

LAPOINTE, S.; ZHIM, F.; SIDÉRIS, L.; DROLET, P.; CÉLESTIN-NOËL, S. Effect of chemotherapy and heat on biomechanical properties of absorbable sutures. **The Journal of surgical research**, v. 200, n. 1, p. 59–65, 2016.

LAVIN, D. M.; ZHANG, L.; FURTADO, S.; HOPKINS, R. A.; MATHIOWITZ, E. Effects of protein molecular weight on the intrinsic material properties and release kinetics of wet spun polymeric microfiber delivery systems. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 1, p. 4569–4578, 2013.

LEE, J. E.; PARK, S.; PARK, M.; KIMA, M. H.; PARK, C. G. Surgical suture assembled with polymeric drug-delivery sheet for sustained, local pain relief. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 9, p. 8318–8327, 2013a.

LEE, K.; LEE, S. Y.; NA, J. G.; JEON, S. G.; PRAVEENKUMAR, R. Magnetophoretic harvesting of oleaginous *Chlorella* sp. by using biocompatible chitosan/magnetic nanoparticle composites. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 575–578, 2013b.

LEE, S.-J.; GETACHEW, B. A.; KIM, J.-H. Restoring the virus removal capability of damaged hollow fiber membranes via chitosan-based in situ healing. **Journal of Membrane Science**, v. 497, p. 387–393, 2016.

LEE, S. H.; PARK, S. M.; KIM, Y. Effect of the concentration of sodium acetate (SA) on crosslinking of chitosan fiber by epichlorohydrin (ECH) in a wet spinning system. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, n. 1, p. 53–60, 2007.

LI, G.; ZHANG, L.; YANG, Y. Tailoring of chitosan scaffolds with heparin and γ -aminopropyltriethoxysilane for promoting peripheral nerve regeneration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 134, p. 413–422, 2015.

LI, H.; CHENG, F.; CHÁVEZ-MADERO, C.; CHOI, J.; WEI, X. Manufacturing and physical characterization of absorbable oxidized regenerated cellulose braided surgical sutures. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 56–62, 2019.

LI, J.; LIU, D.; HU, C.; SUN, F.; GUSTAVE, W. Flexible fibers wet-spun from formic acid modified chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1137–1143, 2016.

LI, Q.; DUNN, E. T.; GRANDMAISON, E. W.; GOOSEN, M. F. A. Applications and Properties of Chitosan. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 7, n. 4, p. 370–397, 1992.

LI, Y.; SUN, J.; DU, Q.; ZHANG, L.; YANG, X. Mechanical and dye adsorption properties of graphene oxide/chitosan composite fibers prepared by wet spinning. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 755–761, 2014.

LI, Y.; ZHUANG, P.; ZHANG, Y.; WANG, Z.; HU, Q. A new approach for preparing chitosan fibers from a LiOH/urea solvent system. **Materials Letters**, v. 84, p. 73–76, 2012.

LIM, S. M.; SONG, D. K.; OH, S. H.; LEE-YOON, D. S.; BAE, E. H. In vitro and in vivo degradation behavior of acetylated chitosan porous beads. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 19, n. 4, p. 453–466, 2008.

LIMA, H. A.; FOOK, M. V. L.; RAMDAYAL, S. Preparation and Characterization of Membrane for Controlled Drug Release: Effect of Cross Linking Agent. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 5, p. 211–219, 2014.

LIU, C.; BAI, R. Preparing highly porous chitosan/cellulose acetate blend hollow fibers as adsorptive membranes: Effect of polymer concentrations and coagulant compositions. **Journal of Membrane Science**, v. 279, n. 1–2, p. 336–346, 2006.

LIZARDI-MENDOZA, J.; ARGÜELLES-MONAL, W. M.; GOYCOOLEA, F. M. Chemical Characteristics and Functional Properties of Chitosan In: BAUTISTA-BAÑOS, S.; ROMANAZZI, G.; JIMÉNEZ-APARICIO, A. (Ed.). **Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities**. Cambridge: MA, 2016 p.3-31.

LONČAREVIĆ, A.; IVANKOVIĆ, M.; ROGINA, A. Lysozyme-Induced Degradation of Chitosan: The Characterisation of Degraded Chitosan Scaffolds. **Journal of Tissue Repair and Regeneration**, v. 1, n. 1, p. 12–22, 2017.

LUO, H.; LI, W.; JI, D.; ZUO, G.; XIONG, G. One-step exfoliation and surface modification of lamellar hydroxyapatite by intercalation of glucosamine. **Materials Chemistry and Physics**, v. 173, p. 262–267, 2016.

LUO, Q.; WANG, Y.; HAN, Q.; JI, L.; ZHANG, H. Comparison of the physicochemical, rheological, and morphologic properties of chitosan from four insects. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 266–275, 2019.

MA, B.; HOU, X.; HE, C. Preparation of chitosan fibers using aqueous ionic liquid as the solvent. **Fibers and Polymers**, v. 16, n. 12, p. 2704–2708, 2015.

MA, B.; QIN, A.; LI, X.; HE, C. High tenacity regenerated chitosan fibers prepared by using the binary ionic liquid solvent (Gly-HCl)-[Bmim]Cl. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n. 2, p. 300–305, 2013.

MA, L.; SHEN, C.-A.; GAO, L.; LI, D.-W.; SHANG, Y.-R. Anti-inflammatory activity of chitosan nanoparticles carrying NF- κ B/p65 antisense oligonucleotide in RAW264.7 macrophage stimulated by lipopolysaccharide. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 142, p. 297–306, 2016.

MADIHALLY, S. V. AND; MATTHEW, H. W. T. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. **Biomaterials**, v. 20, n. 12, p. 1133–1142, 1999.

MADIHALLY, S. V.; FLAKE, A. W.; MATTHEW, H. W. T. Maintenance of CD34 expression during proliferation of CD34+ cord blood cells on glycosaminoglycan surfaces. **Stem Cells**, v. 17, n. 5, p. 295–305, 1999.

MAHONEY, C.; MCCULLOUGH, M. B.; SANKAR, J.; BHATTARAI, N. Nanofibrous Structure of Chitosan for Biomedical Applications. **Journal Nanomedic Biotherapeu Discover**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2012.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 4, p. 375–399, 2002.

MANTRIPRAGADA, V. P.; JAYASURIYA, A. C. Bone regeneration using injectable BMP-7 loaded chitosan microparticles in rat femoral defect. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 63, p. 596–608, 2016.

MARTO, J.; SANGALLI, C.; CAPRA, P.; PERUGINI, P.; GONÇALVES, L. Development and characterization of new and scalable topical formulations containing N-Acetyl- D-Glucosamine-loaded solid lipid nanoparticles. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n.11, p. 1792-1800, 2017.

MCCARTY, M. F. Glucosamine for Wound Healing. **Medical Hypotheses**, v. 74, p. 273–275, 1996.

MEDEIROS, E. S.; GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 2009.

MEDEIROS, L. A. D. M. DE; BARBOSA, R. C.; OLIVEIRA, D. K. M. DE; VIANA, F. A. C.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana/ D. ambrosioides (mastruz) para aplicação como biomaterial. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 73, n. 2, p. 124–129, 2016.

MEHETRE, G.; PANDE, V.; KENDRE, P. An Overview of Nanofibers as a Platform for Drug Delivery. **Inventi Rapid. NDDS**, v.15, n.3, p. 1-6, 2015.

MEHTA, K.; GALA, J.; BHASALE, S.; NAIK, S.; MODAK, M. Comparison of glucosamine sulfate and a polyherbal supplement for the relief of osteoarthritis of the knee: a randomized controlled trial. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 34, n. 7, p. 1–13, 2007.

MEININGER, C. J.; KELLY, K. A.; LI, H.; HAYNES, T. E.; WU, G. Glucosamine inhibits inducible nitric oxide synthesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 279, n. 1, p. 234–239, 2000.

MEKASHA, S.; TOUPALOV, H.; LINGGADJAJA, E.; TOLANI, H. A.; ANDERA, L. A novel analytical method for D -glucosamine quanti fi cation and its application in the analysis of chitosan degradation by a minimal enzyme cocktail Ladislav And e. **Carbohydrate Research**, v. 433, p. 18–24, 2016.

MIR, S.; YASIN, T.; HALLEY, P. J.; SIDDIQI, H. M.; NICHOLSON, T. Thermal, rheological, mechanical and morphological behavior of HDPE/chitosan blend. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 414–421, 2011.

MIWA, H. E.; SONG, Y.; ALVAREZ, R.; CUMMINGS, R. D.; STANLEY, P. The bisecting GlcNAc in cell growth control and tumor progression. **Glycoconjugate Journal**, v. 29, n. 8–9, p. 609–618, 2012.

MOHAMMADI, A.; HASHEMI, M.; MASOUD HOSSEINI, S. Effect of chitosan molecular weight as micro and nanoparticles on antibacterial activity against some soft rot pathogenic bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 347–355, 2016.

MONTENEGRO, R.; GORDEIRO, J. R. G. Chitosan Based Suture Focusing on the Real Advantages of an Outstanding. **Advances in Chitin Science**, v. 14, p. 211–216, 2012.

MORAIS, D. S.; RODRIGUES, M. A.; SILVA, T. I.; LOPES, M. A.; SANTOS, M. Development and characterization of novel alginate-based hydrogels as vehicles for bone substitutes. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 134–142, 2013.

MORAN, H. B. T.; TURLEY, J. L.; ANDERSSON, M.; LAVELLE, E. C. Biomaterials Immunomodulatory properties of chitosan polymers. **Biomaterials**, v. 184, n. May, p. 1–9, 2018.

MUCHA, M.; PAWLAK, A. Complex study on chitosan degradability. **Polimery**, v. 47, n. 7, p. 509–516, 2002.

MUFFLY, T. M.; BOYCE, J.; KIEWEG, S. L.; BONHAM, A. J. Tensile Strength of a Surgeon's or a Square Knot. **Journal of Surgical Education**, v. 67, n. 4, p. 222–226, 2010.

MUZZARELLI, R. A. A. Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 53, p. 131–140, 1997.

NAJIB, N.; SULEIMAN, M. The kinetics of drug release from ethylcellulose solid dispersions. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 11, n. 12, p. 2169–2181, 1985.

NAWROTEK, K.; TYLMAN, M.; RUDNICKA, K.; BALCERZAK, J.; KAMIŃSKI, K. Chitosan-based hydrogel implants enriched with calcium ions intended for peripheral nervous tissue regeneration. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 764–771, 2016.

NAYAK, D.; MINZ, A. P.; ASHE, S.; RAUTA, P. R.; KUMARI, M. Synergistic combination of antioxidants, silver nanoparticles and chitosan in a nanoparticle based formulation: Characterization and cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cell lines. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 470, p. 142–152, 2016.

NEEDLEMAN, I. G.; SMALES, F. C.; MARTIN, G. P. An investigation of bioadhesion for periodontal and oral mucosal drug delivery. **Clinical periodontology**, v. 24, n. 6, p. 394–401, 1997.

NI, Q. Q.; JIN, X. .; XIA, H.; LIU, F. Electrospinning, processing and characterization of polymer-based nano-composite fibers. **Advances in Filament Yarn Spinning of Textiles and Polymers**, p. 128–148, 2014.

NIE, H. L.; MA, Z. H.; FAN, Z. X.; BRANFORD-WHITE, C. J.; NING, X. Polyacrylonitrile fibers efficiently loaded with tamoxifen citrate using wet-spinning from co-dissolving solution. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 373, p. 4–9, 2009.

NORDTVEIT, R. J.; VÅRUM, K. M.; SMIDSROD, O. Degradation of fully water-soluble, partially N-acetylated chitosans with lysozyme. **Carbohydrate Polymers**, v. 23, n. 4, p. 253–260, 1994.

NOTIN, L.; VITON, C.; DAVID, L.; ALCOUFFE, P.; ROCHAS, C. Morphology and mechanical properties of chitosan fibers obtained by gel-spinning: Influence of the dry-jet-stretching step and ageing. **Acta Biomaterialia**, v. 2, n. 4, p. 387–402, 2006a.

NOTIN, L.; VITON, C.; LUCAS, J. M.; DOMARD, A. Pseudo-dry-spinning of chitosan. **Acta Biomaterialia**, v. 2, n. 3, p. 297–311, 2006b.

OKAMOTO, Y.; KAWAKAMI, K.; MIYATAKE, K.; MORIMOTO, M.; SHIGEMASA, Y. Analgesic effects of chitin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 3, p. 249–252, 2002.

ONISHI, H.; MACHIDA, Y. Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. **Biomaterials**, v. 20, n. 2, p. 175–182, 1999.

OUYANG, Q. Q.; HU, Z.; LIN, Z. P.; QUAN, W. Y.; DENG, Y. F. Chitosan hydrogel in combination with marine peptides from tilapia for burns healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 1191–1198, 2018.

OZIPEK, B.; KARAKAS, H. Wet spinning of synthetic polymer fibers. In: ZHANG, D. (Ed.). **Advances in filament yarn spinning of textiles and polymers**. England: Massachusetts, 2014. p.174-186.

PANGBURN, S. H.; TRESCONY, P. V; HELLER, J. Lysozyme degradation of partially deacetylated chitin , its films and hydrogels. **Biomaterials**, v. 3, p. 105–108, 1982.

PARMAR, A.; SHARMA, S. Engineering design and mechanistic mathematical models: Standpoint on cutting edge drug delivery. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 15–35, 2018.

PAUL, W.; SHARMA, C. Chitosan and alginate wound dressings: a short review. **Trends Biomater Artif Organs**, v. 18, n. 1, p. 18–23, 2004.

PAWAR, H. V; TETTEH, J.; BOATENG, J. S. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Preparation , optimisation and characterisation of novel wound healing film dressings loaded with streptomycin and diclofenac. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 102–110, 2013.

PEARSON, F. G.; MARCHESSAULT, R. H.; LIANG, C. Y. Infrared Spectra of Crystalline Polysaccharides . **Journal of Polymer Science**, v. XLIII, p. 101–116, 1960.

PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 57, n. 2, p. 169–172, 1989.

PERSIAN, S.; L.C, R.; PASTORINI, E.; LOCATELLI, M.; GIACOVELLI, G. Requirement for Total Articular Replacement After Diacerein Treatment in Hip After Oral Administration of Crystalline Hydrochloride Alone or in Combination with Chondroitin Sulfate. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 15, p. 223–224, 2007.

PERSIANI, S.; RODA, E.; ROVATI, L. C.; LOCATELLI, M.; GIACOVELLI, G. Glucosamine oral bioavailability and plasma pharmacokinetics after increasing doses of crystalline glucosamine sulfate in man. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 13, n. 12, p. 1041–1049, 2005.

PILLAI, C. K. S.; SHARMA, C. P. Review Paper: Absorbable Polymeric Surgical Sutures: Chemistry, Production, Properties, Biodegradability, and Performance. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 25, n. 4, p. 291–366, 2010.

PRAXEDES, A. P. P.; WEBLER, G. D.; SOUZA, S. T.; RIBEIRO, A. S.; FONSECA, E. J. S. Non-monotonic wetting behavior of chitosan films induced by silver nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 370, p. 25–31, 2016.

PRUDDEN, J. F.; BALASSA, L.; FRIEDRICH, L.; HANSON, P.; MIGEL, P. The discovery of a potent pure chemical wound-healing accelerator. **The American Journal of Surgery**, v. 119, n. 5, p. 560–564, 1970.

PUGA, C. H.; SANJOSE, C.; ORGAZ, B. Biofilm development at low temperatures enhances *Listeria monocytogenes* resistance to chitosan. **Food Control**, v. 65, p. 143–151, 2016.

QIAN, S.; ZHANG, Q.; WANG, Y.; LEE, B.; BETAGERI, G. V. Bioavailability enhancement of glucosamine hydrochloride by chitosan. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 455, p. 365–373, 2013.

RAFIQUE, A.; ZIA, K. M.; ZUBER, M.; TABASUM, S.; REHMAN, S. Chitosan functionalized poly(vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 141–154, 2016.

RASSU, G.; SODDU, E.; COSSU, M.; GAVINI, E.; GIUNCHEDI, P. Particulate formulations based on chitosan for nose-to-brain delivery of drugs. A review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 32, p. 77–87, 2015.

RAWAL, A.; MUKHOPADHYAY, S. Melt spinning of synthetic polymeric filaments In: ZHANG, D. (Ed.). **Advances in filament yarn spinning of textiles and polymers**. England: Massachusetts, 2014. p.75-99.

RAWAL, A.; SIBAL, A.; SARASWAT, H.; KUMAR, V. Geometrically controlled tensile response of braided sutures. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 453–456, 2015.

REJINOLD, N. S.; MUTHUNARAYANAN, M.; MUTHUCHELIAN, K.; CHENNAZHI, K. P.; NAIR, S. V. Saponin-loaded chitosan nanoparticles and their cytotoxicity to cancer cell lines in vitro. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 407–416, 2011.

RISSANEN, M.; PUOLAKKA, A.; NOUSIAINEN, P.; KELLOMAKI, M.; ELLA, V. Solubility and Phase Separation of Poly(L,D-Lactide) Copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 110, p. 2399–2404, 2008.

SABINO, M. A.; ALBUERNE, J.; MÜLLER, A.; BRISSON, J.; PRUD'HOMME, R. E. Influence of in vitro hydrolytic degradation on the morphology and crystallization behavior of poly(p-dioxanone). **Biomacromolecules**, v. 5, n. 2, p. 358–370, 2004.

SABINO, M. A.; GONZÁLEZ, S.; MÁRQUEZ, L.; FEIJOO, J. L. Study of the hydrolytic degradation of polydioxanone PPDx. **Polymer Degradation and Stability**, v. 69, n. 2, p. 209–216, 2000.

SAHLIN, S.; AHLBERG, J.; GRANSTROM, L.; LJUNGSTROM, K. G. Monofilament versus Multifilament Absorbable Sutures for Abdominal Closure. **British Journal of Surgery**, v. 80, p. 322–324, 1993.

SANTOS, A. M. C.; MEDEIROS, E. L. G.; BLAKER, J. J.; MEDEIROS, E. S. Aqueous solution blow spinning of poly(vinyl alcohol) micro- and nanofibers. **Materials Letters**, v. 176, p. 122–126, 2016.

SARBATLY, R.; KRISHNAIAH, D.; KAMIN, Z. A review of polymer nanofibres by electrospinning and their application in oil–water separation for cleaning up marine oil spills. **Marine Pollution Bulletin**, 2016.

SCHOUKENS, G. Bioactive dressings to promote wound healing In: RAJENDRAN, S. (Ed.). **Advanced Textiles for Wound Care**. Amsterdam: The Netherlands, 2009. p.114-152.

SENGUPTA, A.; PITTMAN, R. A. Application of Membrane Contactors as Mass Transfer Devices In: PABBY, A. K.; RIZVI, S. S. H.; REQUENA, A. M. S. (Ed.). **Handbook of Membrane Separations**. New York: London, 2008. p.7-24.

SEZER, A. D.; HATİPOĞLU, F.; CEVHER, E.; OĞURTAN, Z.; BAŞ, A. L. Chitosan Film Containing Fucoïdan as a Wound Dressing for Dermal Burn Healing: Preparation and In Vitro / In Vivo Evaluation. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, p. 1–8, 2007.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 289–296, 2015.

SHUKLA, S. K.; MISHRA, A. K.; AROTIBA, O. A.; MAMBA, B. B. Chitosan-based nanomaterials: a state-of-the-art review. **International journal of biological macromolecules**, v. 59, p. 46–58, 2013.

SIEPMANN, J.; SIEGEL, R. A.; RATHBONE, M. J. **Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery**. Springer, Boston, MA. 2012. ISBN 978-1-4614-0881-9

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 0, p. 139–157, 2001.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 418, n. 1, p. 6–12, 2011.

SILVA, M. C. DA; LEAL, R. DE C. A., H. N. D. S.; FOOK, M. V. L. Biodegradable suture threads as controlled drug delivery systems. **Materials Research Innovations**, p. 1–5, 2019a.

SILVA, M. C. DA; SILVA, H. N. DA; HOLANDA, S. A.; SILVA, A. R. O.; FOOK, M. V. L.. Biodegradable polymeric wires: monofilament and multifilament Biodegradable. **Materials Research Innovations**, p. 1–5, 2019b. '

SILVA, H. S. R. C.; KÁTIA, S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: Derivados Hidrossolúveis, Aplicações Farmacêuticas e Avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776–785, 2006.

SILVA, M. C. DA; FIDELES, T. B. .; OLIVEIRA, S. S. L. .; FOOK, M. V. L. Development and Characterization of Scaffolds Obtained by Aggregation of Balls of Chitosan and Chitosan/Curcumin. **Journal of Chitin and Chitosan Science**, v. 4, n. 1, p. 14–21, 2016.

SILVA, M. C.; FIDELES, T. B.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana e quitosana / curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da incorporação do fármaco. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 10, n. 1, p. 21–28, 2015.

SINGH, S.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C.-E. The physiology of wound healing. **Surgery (Oxford)**, v. 35, n. 9, p. 473–477, 2017.

SONG, J.; REMMERS, S. J. A.; SHAO, J.; KOLWIJCK, E.; WALBOOMERS, X. F. Antibacterial effects of electrospun chitosan/poly(ethylene oxide) nanofibrous membranes loaded with chlorhexidine and silver. **Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine**, v. 12, n. 5, p. 1357–1364, 2016.

SOOD, A.; PANCHAGNULA, R. Drug release evaluation of diltiazem CR preparations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 175, n. 1, p. 95–107, 1998.

SPOTNITZ, W. D.; FALSTROM, J. K.; RODEHEAVER, G. T. The Role Of Sutures and Fibrin Sealant in Wound Healing. **Surgical Clinics of North America**, v. 77, n. 3, p. 651–669, 1997.

SU, B.; SUN, S.; ZHAO, C. Polyethersulfone Hollow Fiber Membranes for Hemodialysis. In: CARPI, A. (Ed.). **Progress in Hemodialysis - From Emergent Biotechnology to Clinical Practice**. 2011. p. 65–92.

SUJIMA ANBU, A.; VELMURUGAN, P.; LEE, J.-H.; OH, B.-T.; VENKATACHALAM, P. Biomolecule-Loaded Chitosan Nanoparticles Induce Apoptosis and Molecular Changes in Cancer Cell Line (SiHa). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 18–26, 2016.

SUN, L.; WANASEKARA, N.; CHALIVENDRA, V.; CALVERT, P. Nano-Mechanical Studies on Polyglactin Sutures Subjected to In Vitro Hydrolytic and Enzymatic Degradation. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 1, p. 93–99, 2015.

SUSANTO, H.; SAMSUDIN, A. M.; ROKHATI, N.; WIDIASA, I. N. Immobilization of glucose oxidase on chitosan-based porous composite membranes and their potential use in biosensors. **Enzyme and microbial technology**, v. 52, n. 6–7, p. 386–92, 2013.

SWEENEY, I. R.; MIRAFTAB, M.; COLLYER, G. Absorbent alginate fibres modified with hydrolysed chitosan for wound care dressings - II. Pilot scale development. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 920–927, 2014.

TABRIZ, A.; UR REHMAN ALVI, M. A.; KHAN NIAZI, M. B.; BATOOL, M.; BHATTI, M. F. Quaternized trimethyl functionalized chitosan based antifungal membranes for drinking water treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 17–25, 2019.

TAGHIZADEH, S. M.; DAVARI, G. Preparation , characterization , and swelling behavior of N -acetylated and deacetylated chitosans. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, p. 9–15, 2006.

TAKEDA, M.; KONDO, K.; SANDA, S.; KAN, D.; BORGES, I. K. Enzymatic degradation of β -1,4-linked N-acetylglucosaminoglycan prepared from *Thiothrix nivea*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 323–328, 2018.

TAMAI, Y.; MIYATAKE, K.; OKAMOTO, Y.; TAKAMORI, Y. Enhanced healing of cartilaginous injuries by glucosamine hydrochloride. **Carbohydrate polymers**, v. 48, p. 369–378, 2002.

TEKKO, I. A.; BONNER, M. C.; WILLIAMS, A. C. An optimized reverse-phase high performance liquid chromatographic method for evaluating percutaneous absorption of glucosamine hydrochloride. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 385–392, 2006.

TEOTIA, R. S.; KALITA, D.; SINGH, A. K.; VERMA, S. K.; KADAM, S. S. Bifunctional polysulfone-chitosan composite hollow fiber membrane for bioartificial liver Bifunctional polysulfone-chitosan composite hollow fiber membrane for bioartificial liver Department of Chemical Engineering. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 1, p. 372–381, 2015.

THU, H.; ZULFAKAR, M. H.; NG, S. Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 434, p. 375–383, 2012.

TOWHEED, T.; MAXWELL, L.; ANASTASSIADES, T.P.; SHEA, B.; HOUPPT, J.; ROBINSON, V.; HOCHBERG M. C.; WELLS, G. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. **Cochrane Library**, v.18, n.2, p. 1-81, 2005.

TRABOLD, O.; WAGNER, S.; WICKE, C.; SCHEUENSTUHL, H.; HUSSAIN, M. Z. Lactate and oxygen constitute a fundamental regulatory mechanism in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 11, n. 6, p. 504–509, 2003.

TYLINGO, R.; GORCZYCA, G.; MANIA, S.; SZWEDA, P.; MILEWSKI, S. Preparation and characterization of porous scaffolds from chitosan-collagen-gelatin composite. **Reactive and Functional Polymers**, v. 102, p. 131–140, 2016.

UNAGOLL, J. M.; JAYASURIYAAB, A. C. Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 114, n. 1, p. 199–209, 2018.

USMAN, A.; ZIA, K. M.; ZUBER, M.; TABASUM, S.; REHMAN, S. Chitin and chitosan based polyurethanes: A review of recent advances and prospective biomedical applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 86, p. 630–45, 2016.

VEHOFF, T.; GLIŠOVIĆ, A.; SCHOLLMAYER, H.; ZIPPELIUS, A.; SALDITT, T. Mechanical properties of spider dragline silk: Humidity, hysteresis, and relaxation. **Biophysical Journal**, v. 93, n. 12, p. 4425–4432, 2007.

VEILLEUX, D.; NELEA, M.; BINIECKI, K.; LAVERTU, M.; BUSCHMANN, M. D. Preparation of Concentrated Chitosan/DNA Nanoparticle Formulations by Lyophilization for Gene Delivery at Clinically Relevant Dosages. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 1, p. 88–96, 2016.

VERT, M.; HELLWICH, K. H.; HESS, M. Terminology for biorelated polymers and applications. **Pure Applied Chem**, v. 84, n. 2, p. 377–410, 2012.

VIEIRA, J. M.; FLORES-LÓPEZ, M. L.; DE RODRÍGUEZ, D. J.; SOUSA, M. C.; VICENTE, A. A. Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 116, p. 88–97, 2016.

VIJU, S.; THILAGAVATHI, G. Fabrication and characterization of silk braided sutures. **Fibers and Polymers**, v. 13, n. 6, p. 782–789, 2012.

VUEBA, M. L.; BATISTA DE CARVALHO, L. A. E.; VEIGA, F.; SOUSA, J. J.; PINA, M. E. Influence of cellulose ether polymers on ketoprofen release from hydrophilic matrix tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 1, p. 51–59, 2004.

VULCANI, V. A. S.; BIZARRIA, M. T. M.; D'ÁVILA, M. A.; MEI, L. H. I.; BERNAL, C. Cytotoxicity tests for nanostructured chitosan/PEO membranes using the agar diffusion method. **Materials Research**, v. 15, n. 2, p. 213–217, 2012.

WANG, A.; AO, Q.; CAO, W.; ZHAO, C.; GONG, Y. Fiber-Based Chitosan Tubular Scaffolds for Soft Tissue Engineering: Fabrication and in Vitro Evaluation *. **Tsinghua Science and Technology**, v. 10, n. 4, p. 449–453, 2005.

WANG, C.-H.; LIU, W.-S.; SUN, J.-F.; HOU, G.-G.; CHEN, Q. Non-toxic O-quaternized chitosan materials with better water solubility and antimicrobial function. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p. 418–427, 2016.

WANG, T. Y.; CHANG, H. C.; CHIU, Y. T.; TSAI, J. L. The index of dry-jet wet spinning for polyacrylonitrile precursor fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 2, p. 1–10, 2015.

WANG, X. H.; CUI, F. Z.; FENG, Q. L.; LI, J. C.; ZHANG, Y. H. Preparation and Characterization of Collagen/Chitosan Matrices As Potential Biomaterials. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 18, n. 6, p. 453–467, 2003.

WEDMORE, I.; MCMANUS, J. G.; PUSATERI, A. E.; HOLCOMB, J. B. A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. **The Journal of trauma**, v. 60, n. 3, p. 655–658, 2006.

WU, H.; WILLIAMS, G. R.; WU, J.; WU, J.; NIU, S. Regenerated chitin fibers reinforced with bacterial cellulose nanocrystals as suture biomaterials. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, p. 304–313, 2018.

XIA, G.; LANG, X.; KONG, M.; CHENG, X.; LIU, Y. Surface fluid-swelling chitosan fiber as the wound dressing material. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 860–866, 2015.

XING, R.; LIU, S.; GUO, Z.; YU, H.; LI, C. The antioxidant activity of glucosamine hydrochloride in vitro. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 1706–1709, 2006.

YANG, R.; LI, H.; HUANG, M.; YANG, H.; LI, A. A review on chitosan-based flocculants and their applications in water treatment. **Water Research**, v. 95, p. 59–89, 2016a.

YANG, S.; DONG, Q.; YANG, H.; LIU, X.; GU, S. N-carboxyethyl chitosan fibers prepared as potential use in tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 1018–1022, 2016b.

YANG, Y. M.; HU, W.; WANG, X. D.; GU, X. S. The controlling biodegradation of chitosan fibers by N-acetylation in vitro and in vivo. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 18, n. 11, p. 2117–2121, 2007.

YANG, Z.; XU, D.; LIU, J.; LIU, J.; LI, L. Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/carbon nanotube melt-spinning composites fiber. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 25, n. 5, p. 437–444, 2015.

YODKHUM, K.; PHAECHAMUD, T. Hydrophobic chitosan sponges modified by aluminum monostearate and dehydrothermal treatment as sustained drug delivery system. **Materials Science and Engineering C**, v. 42, p. 715–725, 2014.

YUDIN, V. E.; DOBROVOLSKAYA, I. P.; NEELOV, I. M.; DRESVYANINA, E. N.; POPRYADUKHIN, P. V. Wet spinning of fibers made of chitosan and chitin nanofibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, n. 1, p. 176–182, 2014.

ZAVALETA-AVEJAR, L.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; GIMENO, M.; PÉREZ-OROZCO, J. P.; SHIRAI, K. Rheological and antioxidant power studies of enzymatically grafted chitosan with a hydrophobic alkyl side chain. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 113–119, 2014.

ZHANG, L.; ZENG, Y.; CHENG, Z. Removal of heavy metal ions using chitosan and modified chitosan: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 214, p. 175–191, 2016.

ZHANG, Q.; WANG, N.; HU, R.; PI, Y.; FENG, J. Wet spinning of *Bletilia striata* polysaccharide/silk fibroin hybrid fibers. **Materials Letters**, v. 161, p. 576–579, 2015.

ZHANG, X.; WAYMOUTH, R. M. 1,2-Dithiolane-Derived Dynamic, Covalent Materials: Cooperative Self-Assembly and Reversible Cross-Linking. **Journal of the American Chemical Society**, v. 139, n. 10, p. 3822–3833, 2017.

ZHANG, Y.; HUO, M.; ZHOU, J.; ZOU, A.; LI, W. DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. **The AAPS Journal**, v. 12, n. 3, p. 263–271, 2010.

ZHAO, R.; LI, X.; SUN, B.; ZHANG, Y.; ZHANG, D. Electrospun chitosan/sericin composite nanofibers with antibacterial property as potential wound dressings. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 68, p. 92–97, 2014.

ZHAO, Y.-X.; ZHOU, X.-H.; LI, L.; XU, W.; KANG, W.-M. Preparation of porous CeO₂/CuO/Al₂O₃ fibers via electro-blown spinning method. **Materials Letters**, v. 164, p. 460–463, 2016.

ZHENG, Z.; ZHANG, L.; KONG, L.; WANG, A.; GONG, Y. The behavior of MC3T3-E1 cells on chitosan / poly- L -lysine composite films : Effect of nanotopography , surface chemistry , and wettability. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 89, n. 2, p. 453–465, 2008.

ZHU, L. M.; YU, D. G. Drug delivery systems using biotextiles. In: In: KING, M. W.; GUPTA, B. S.; GUIDOIN, R. (Ed.). **Biotextiles as Medical Implants**. Cambridge, UK, 2013. p.231-231.

APÊNDICE A

Cálculo Estequiométrico

➤ Dados:

Massa Molecular da Quitosana = 161 g/mol

Massa Molecular da Quitina = 203 g/mol

Grau de desacetilação da quitosana = 88%

PUR (massa ponderada) = (desacetilação da quitosana X Massa Molecular da Quitosana) + (desacetilação da quitina x Massa Molecular da quitina)

$$\text{PUR} = (0,88 \times 161) + (0,12 \times 203) = 166,04 \text{ g/mol.}$$

PUE é a massa molar da quitosana, caso ao invés de copolímero fosse um polímero de 100% de monômeros de quitosana;

Desacetilação da quitosana----- PUR

1 ----- PUE

0,88 ----- 166,04 g/mol

1 ----- PUE

$$\text{PUE} = 188,68 \text{ g/mol}$$

➤ **Dados do ácido láctico**

Densidade = 1,206 g/mL

Título: 84,5% → 0,845

MM = 90,08 g/mol

$$C = \frac{d \times T}{\text{MM}} = \frac{1,206 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 0,845}{90,08 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0,01131 \text{ mol/mL}$$

Equivalente de Quitosana = Equivalente Ácido

$$C = \frac{\text{massa de quitosana}}{\text{PUE} \times V}$$

$$C = \frac{\text{massa de quitosana}}{\text{PUE} \times V} = \frac{4\text{g}}{188,68 \text{ g/mol} \times 0,01131 \text{ mol/L}} \rightarrow V = 1,87\text{mL} = 1,9 \text{ mL} = 0,2 \text{ mol/L}$$

$$C = \frac{\text{massa de quitosana}}{\text{PUE} \times V} = \frac{3\text{g}}{188,68\text{g/mol} \times 0,01131\text{mol/L}} \rightarrow V = 1,4\text{mL} = 0,16\text{mol/L}$$

APÊNDICE B

Protocolo das Soluções

- **Solução de Quitosana**

- Para 100 mL de solução.

Pipetou-se ácido láctico 0,2 mol/L para 3% de quitosana e 0,16 mol/L para 4% de quitosana, em um balão volumétrico (100 mL), em seguida adicionou-se água destilada e fez-se a aferição do menisco.

A quitosana foi pesada (3g para 3%, 4g para 4%).

Em seguida a solução de ácido láctico foi colocada em um Becker, seguida da adição desejada de quitosana. Posteriormente a solução foi homogeneizada em um agitador mecânico em 80 rpm por 4 horas.

- **Solução Coagulante**

- Para 300 mL de Solução Coagulante (70% de Hidróxido de Sódio a 1 mol/L. + 30% Metanol).

Preparou-se inicialmente 1L de solução de Hidróxido de Sódio a 1 mol/L.

Posteriormente em uma proveta mediu-se 210ml da solução de Hidróxido de Sódio a 1M (preparada anteriormente) e em seguida foi adicionado 90ml de metanol, agitando.

APÊNDICE C

Protocolo da Adição do N-Acetil-D-Glucosamina no fio de 4% de Quitosana

- **Em 100 mL de solução de quitosana 4%**

Foi adicionado 5% de N-Acetil-D-Glucosamina com relação a massa da quitosana

4g de quitosana (m/v)

+

0,2g de N-Acetil-D-Glucosamina (m/m)

Inicialmente obteve-se a solução de quitosana a 4% em seguida adicionou-se a solução 0,2g de N-Acetil-D-Glucosamina, a solução permaneceu em agitação por 30 min.

- **Quantidade de N-Acetil-D-Glucosamina no fio de quitosana 4%.**

100 mL de quitosana + N-Acetil-D-Glucosamina -----→ 0,2 g de glucosamina

1 mL de quitosana + N-Acetil-D-Glucosamina -----→ 0,002 g de glucosamina

∴

Em 1 mL de quitosana + N-Acetil-D-Glucosamina -----→ 0,002 g de glucosamina

Em 1 mL de quitosana + N-Acetil-D-Glucosamina -----→ 90 cm de fio obtido

∴

Em 90 cm de fio quitosana + N-Acetil-D-Glucosamina -→ 0,002 g de glucosamina

Em 36 cm de fio quitosana + N-Acetil-D-Glucosamina -→ 0,0008 g de glucosamina

∴

0,0008 g de glucosamina = 800 µg de glucosamina

APÊNDICE D

Protocolo da obtenção dos Fios

- **Produção dos Fios (Fiação)**

Inicialmente a solução de quitosana foi colocada em uma seringa de 20 mL.

Em seguida ao ligar a bomba infusora diversos parâmetros são adicionados como:

- ✓ Diâmetro da seringa: 9,43 mm;
- ✓ Volume: 20 mL;
- ✓ Fluxo: 45 mL/h;

Antes de iniciar a bomba, é necessário que a ponta do perfil esteja fora do banho, para que o material não coagule no perfil, antes de sua saída.

Em seguida deve-se ligar a bomba infusora, e após sair os primeiros vestígios da quitosana, aproxima-se o perfil acoplado a seringa, até que a distância deste a solução coagulante (70% de Hidróxido de Sódio a 1mol/L + 30% Metanol), seja de apenas 1 mm.

É necessário esperar estabilizar a saída do fio no perfil, pois as primeiras fibras saem deformadas, sendo necessários algumas vezes o auxílio de uma pinça para orientar a sua para obter um fio retilíneo.

O processo ocorre até o final do volume de 20 mL;

Quando a solução acabar na seringa, deve-se desligar a bomba;

Os fios devem permanecer por 30 minutos no banho coagulante (70% de Hidróxido de Sódio a 1mol/L + 30% Metanol).

Em seguida deve-se fazer três lavagens com água destilada por 30 minutos cada;

Em seguida uma lavagem de 30 minutos em metanol 100%.

APÊNDICE E

Protocolo da Secagem dos Fios

- **Secagem dos Fios**

Após os 30 minutos no metanol, os fios são retirados e presos em uma superfície plana, aplicando uma pequena tensão, para que eles permaneçam estirados durante o processo de secagem.

Os fios são então colocados na estufa a 65 °C por 30 minutos.

Em seguida os fios são acondicionados em embalagens fechadas para posteriores caracterizações.

APÊNDICE F

Cálculo da Taxa de Cisalhamento na Quitosana durante o processo de Fiação.

Dados:

Q= Fluxo 45 mL/h

R= Raio 0,5mm

γ = Taxa de Cisalhamento

$$y = \frac{4Q}{\pi R^3}$$

$$y = \frac{45 \text{ mL}}{\text{h}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}} \times \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} = 1,25 \times 10^{-8} \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$$

$$y = \frac{2(1,25 \times 10^{-8} \frac{\text{m}^3}{\text{s}})}{\pi(0,005 \text{ m})^3} = 63,69 \frac{1}{\text{s}}$$

APÊNDICE G

Protocolo do Cálculo da Retração dos Fios após saída da solução coagulante

- **Cálculo da retração do fio de 3% de quitosana.**

$$\text{Retração} = \frac{\text{Diâmetro inicial} - \text{Diâmetro final}}{\text{Diâmetro inicial}} \times 100$$

$$\text{Retração} = \frac{1302 \mu\text{m} - 140 \mu\text{m}}{1302 \mu\text{m}} \times 100$$

$$\text{Retração} = 89\%$$

- **Cálculo da retração do fio de 4% de quitosana.**

$$\text{Retração} = \frac{\text{Diâmetro inicial} - \text{Diâmetro final}}{\text{Diâmetro inicial}} \times 100$$

$$\text{Retração} = \frac{1105 \mu\text{m} - 144 \mu\text{m}}{1105 \mu\text{m}} \times 100$$

$$\text{Retração} = 86\%$$

APÊNDICE H

Protocolo do Cálculo da Densidade

- Cálculo da densidade do fio de 3% de quitosana

Cálculo da Densidade da Fibra - Amostra quitosana 3%	Representação	Resultado
Calibração Picnômetro		
massa do picnômetro vazio	m(pv)	30,34603333
massa do picnômetro com água	m(pa)	84,26633333
massa da água	$m(\text{água}) = m(\text{pa}) - m(\text{pv})$	53,9203
Temperatura da água	T	26
Densidade da água	d (agua)	0,9962
Determinação da densidade		
massa do picnômetro vazio	mpv	30,34603333
massa (picnômetro + fio de 3%)	mpa	30,34683333
massa do fio de 3%	$m(\text{fio}) = (m\text{pa} - m\text{pv})$	0,0008
massa (picnômetro + fio de 3% + água)	mtotal	84,26633333
massa da água	$m(\text{água})_{ad} = m_{total} - m\text{pa}$	53,9195
volume da água	$v(\text{água}) = m(\text{água})_{ad} / d(\text{água})$	54,12517567
volume do picnômetro	$v\text{p} = m(\text{água}) / d(\text{água})$	54,12597872
Volume do fio de 3%	$v\text{fio} = v\text{p} - v(\text{água})$	0,000803052
densidade do fio de 3%	$d(\text{fio}) = m(\text{fio}) / V(\text{fio})$	0,9962

Protocolo do Cálculo da Densidade

- Cálculo da densidade do fio de 4% de quitosana

Cálculo da Densidade da Fibra - Amostra quitosana 4%	Representação	Resultado
Calibração Picnômetro		
massa do picnômetro vazio	m(pv)	30,33856667
massa do picnômetro com água	m(pa)	84,2724
massa da água	$m(\text{água}) = m(\text{pa}) - m(\text{pv})$	53,93383333
Temperatura da água	T	26
Densidade da água	d (agua)	0,99861
Determinação da densidade		
massa do picnômetro vazio	mpv	30,33856667
massa (picnômetro + fio de 4%)	mpa	30,33913333
massa do fio de 4%	$m(\text{fio}) = (m\text{pa} - m\text{pv})$	0,00056667
massa (picnômetro + fio de 4% + água)	mtotal	84,2724
massa da água	$m(\text{água})_{ad} = m\text{total} - m\text{pa}$	53,93326667
volume da água	$v(\text{água}) = m(\text{água})_{ad} / d(\text{água})$	54,00833826
volume do picnômetro	$v\text{p} = m(\text{água}) / d(\text{água})$	54,00890571
Volume do fio de 4%	$v\text{fio} = v\text{p} - v(\text{água})$	0,000567455
densidade do fio de 4%	$d(\text{fio}) = m(\text{fio}) / V(\text{fio})$	0,99861

Protocolo do Cálculo da Densidade

- Cálculo da densidade do fio de 4% de quitosana/GlcNAc

Cálculo da Densidade da Fibra - quitosana/ GlcNAc	Representação	Resultado
Calibração Picnômetro		
massa do picnômetro vazio	m(pv)	30,3384
massa do picnômetro com água	m(pa)	84,2724
massa da água	$m(\text{água}) = m(\text{pa}) - m(\text{pv})$	53,934
Temperatura da água	T	26
Densidade da água	d (agua)	0,99861
Determinação da densidade		
massa do picnômetro vazio	mpv	30,3384
massa (picnômetro + fio quitosana/ GlcNAc)	mpa	30,33936667
massa do fio quitosana/ GlcNAc	$m(\text{fio}) = (m(\text{pa}) - m(\text{pv}))$	0,000966667
massa (picnômetro + fio quitosana/ GlcNAc + água)	mtotal	84,2724
massa da água	$m(\text{água})_{ad} = m(\text{total}) - m(\text{pa})$	53,93303333
volume da água	$v(\text{água}) = m(\text{água})_{ad} / d(\text{água})$	54,10563029
volume do picnômetro	$v(\text{picn}) = m(\text{água})_{ad} / d(\text{água})$	54,10660005
Volume do fio quitosana/ GlcNAc	$v(\text{fio}) = v(\text{picn}) - v(\text{água})$	0,00096976
densidade do fio quitosana/ GlcNAc	$d(\text{fio}) = m(\text{fio}) / V(\text{fio})$	0,99681

APÊNDICE I

Cálculo da Cristalinidade (IC%)

Os cálculos da cristalinidade foram realizados com auxílio do software Origin, onde foram calculadas as áreas cristalinas (área dos picos) das amostras e a sua área total.

Onde o Índice de Cristalinidade (%) é igual a(s) área(s) cristalina(s) dividida pela área total.

APÊNDICE J

CÁLCULO DO LIMITE DE DETECÇÃO

Curva de Calibração

<i>Preditor</i>	<i>Coefficientes</i>			
	<i>Estimativa</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Estat.t</i>	<i>P-valor</i>
Intercepto	0,013383915	0,051258394	0,261106804	0,795921108
concentracao	1,001585098	0,002737332	365,8983054	4,56432E-53

<i>Medida Descritiva da Qualidade do Ajuste</i>			
<i>Desvio Padrão dos Resíduos</i>	<i>Graus de Liberdade</i>	<i>R²</i>	<i>R² Ajustado</i>
0,181083287	28	0,999790904	0,999783436

<i>Resultados do Limite de Detecção (LD)</i>	
<i>Valores</i>	
Desvio Padrão dos Resíduos	0,181083287
Coefficiente Angular	1,001585098
Limite de Detecção	0,596629131

CÁLCULO DO LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

Curva de Calibração

<i>Preditor</i>	<i>Coefficientes</i>			
	<i>Estimativa</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Estat.t</i>	<i>P-valor</i>
Intercepto	0,013383915	0,051258394	0,261106804	0,795921108
concentracao	1,001585098	0,002737332	365,8983054	4,56432E-53

<i>Medida Descritiva da Qualidade do Ajuste</i>			
<i>Desvio Padrão dos Resíduos</i>	<i>Graus de Liberdade</i>	<i>R²</i>	<i>R² Ajustado</i>
0,181083287	28	0,999790904	0,999783436

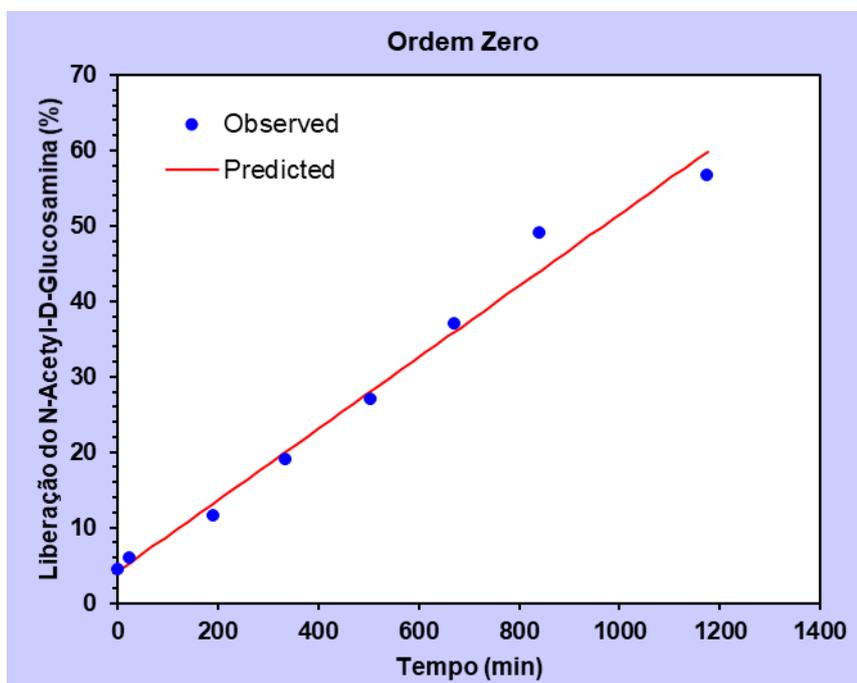
<i>Resultados do Limite de Quantificação (LQ)</i>	
<i>Valores</i>	
Desvio Padrão dos Resíduos	0,181083287
Coefficiente Angular	1,001585098
Limite de Quantificação	1,807967065

APÊNDICE L

Cinética de Liberação

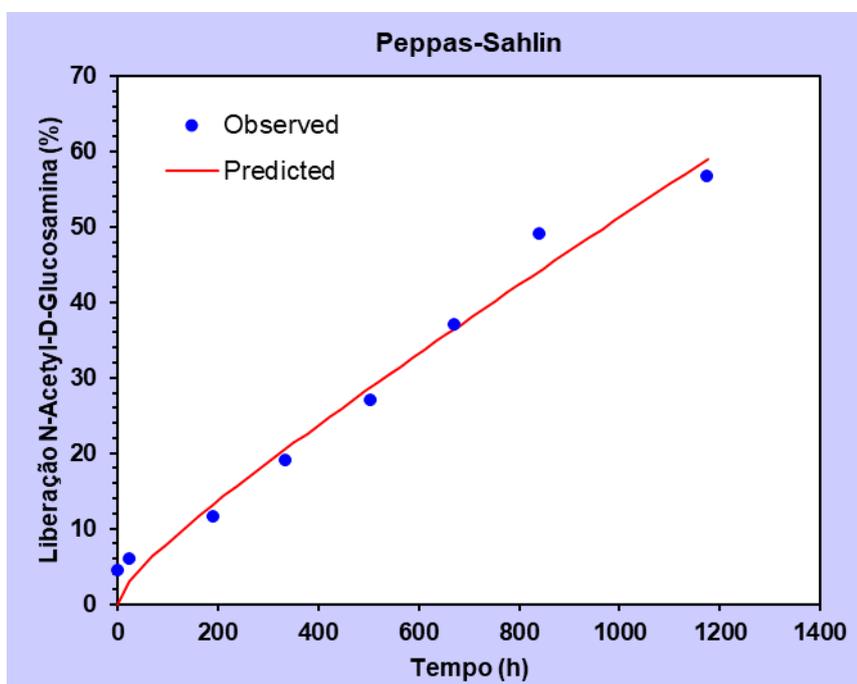
- Modelo de Ordem Zero

$$R^2 = 0,994$$



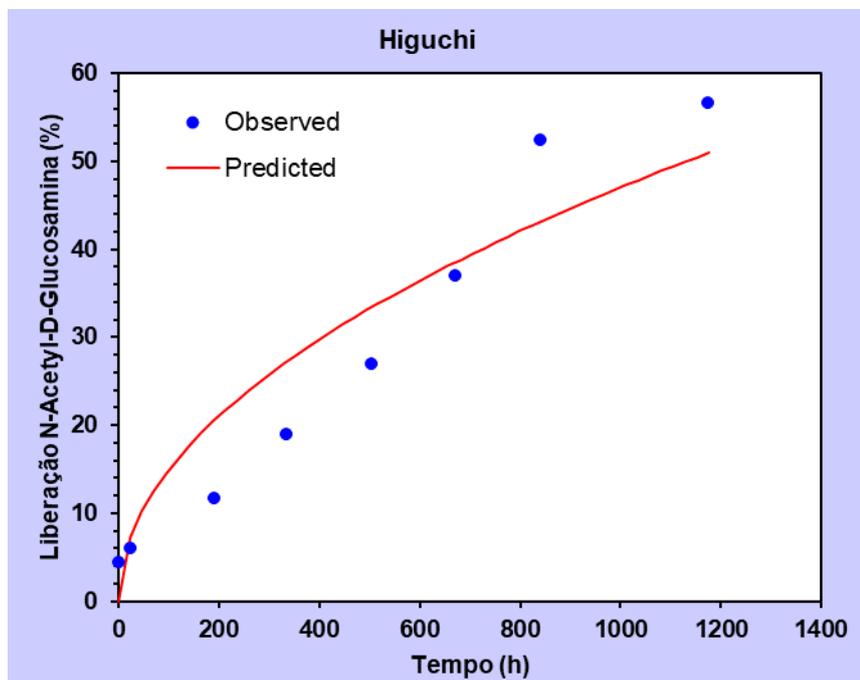
- Modelo de Peppas e Sahlin

$$N = 0,45 \text{ e } R^2 = 0,987$$



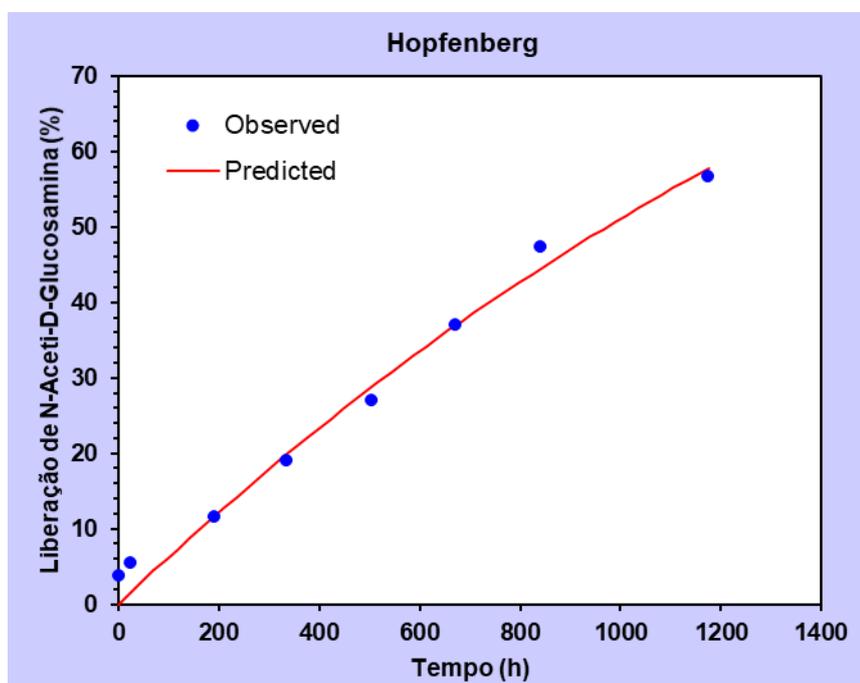
- Modelo de Higuchi

$$R^2 = 0,908$$



- Modelo de Hopfenberg

$$R^2 = 0,981$$



APÊNDICE K

Resultado Citotoxicidade Método Ágar

LEITURA DAS PLACAS - AMOSTRAS								
	Orifício/Q*	1°Q(mm)	2Q (mm)	3Q (mm)	4Q (mm)	M**(cm)	MG*** (cm):	Resultado
Specimen 1	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<input checked="" type="checkbox"/> Satisfatório
	4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		<input type="checkbox"/> Insatisfatório <input type="checkbox"/> Repetir
Specimen 2	2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<input checked="" type="checkbox"/> Satisfatório
	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		<input type="checkbox"/> Insatisfatório <input type="checkbox"/> Repetir
Specimen 3	3							<input type="checkbox"/> Satisfatório
	6							<input type="checkbox"/> Insatisfatório <input type="checkbox"/> Repetir
LEITURA DAS PLACAS - CONTROLES								
	Orifício/Q*	1Q (mm)	2Q (mm)	3Q (mm)	4Q (mm)	M**(cm)	MG*** (cm):	Resultado
Controle Positivo	1	9,4	9,2	8,3	8,83	0,89666667	0,9187083	<input type="checkbox"/> Satisfatório
	4	10,2	9,13	10,1	8,2	0,94075		<input checked="" type="checkbox"/> Insatisfatório <input type="checkbox"/> Repetir
Controle Negativo	2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<input checked="" type="checkbox"/> Satisfatório
	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		<input type="checkbox"/> Insatisfatório <input type="checkbox"/> Repetir
Branco	3							<input type="checkbox"/> Satisfatório
	6							<input type="checkbox"/> Insatisfatório <input type="checkbox"/> Repetir

*Quadrante **Média ***Média Geral