



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

**DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS DE QUITINA PARA APLICAÇÃO COMO
FIOS DE SUTURA**

Aluna: RAFAELLA LIMA DE MENESES

Orientador: PROF. DR. MARCUS VINICIUS LIA FOOK
Co-Orientador: PROF. DR. HUGO MIGUEL LISBOA

CAMPINA GRANDE - PB
AGOSTO/ 2014

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

RAFAELLA LIMA DE MENESES

**DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS DE QUITINA PARA APLICAÇÃO COMO
FIOS DE SUTURA**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais
como requisito parcial à obtenção
do título de MESTRE EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS.

Orientador: PROF. DR. MARCUS VINICIUS LIA FOOK

Co-orientador: PROF. DR. HUGO MIGUEL LISBOA

Agência Financiadora: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior – CAPES

**CAMPINA GRANDE - PB
AGOSTO/ 2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

M543d Meneses, Rafaella Lima de.
Desenvolvimento de fibras de quitina para aplicação como fios de sutura / Rafaella Lima de Meneses. – Campina Grande, 2014.
122 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.

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

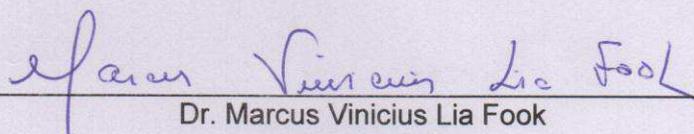
1. Quitina – Engenharia de Materiais. 2. Fibras de Quitina. 3. Fios de Sutura. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Título.

CDU 620:677.473(043)

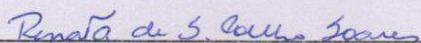
**DESENVOLVIMENTO DEFIBRAS DE QUITINA PARA APLICAÇÃO COMO
FIOS DE SUTURA**

RAFAELLA LIMA DE MENESES

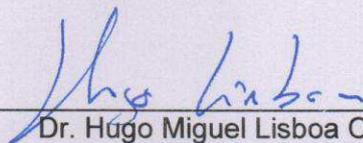
Dissertação Aprovada em 28/08/2014 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:



Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
(Orientador)
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG



Dr.ª Renata de Souza Coelho Soares
(Examinadora Externa)
CCBS/UEPB



Dr. Hugo Miguel Lisboa Oliveira
(Examinador Externo)
UAEA/UFCG

Dedico esta dissertação,

Aos meus pais José Rodualdo e Deusolene,

Aos meus irmãos Rafael e Raelly,

Ao meu futuro marido Christian,

A Hugo Lisboa,

E a todos os meus amigos que estiveram ao meu lado nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me dar força, coragem e capacidade de aprender com todos os desafios que se encontraram diante de mim e a partir disto sei que nunca estarei só.

A meus pais **José Rodualdo** e **Deusolene**, pelo amor, paciência e exemplo, vocês são meu porto seguro de amor incondicional presente em todas as etapas da minha vida.

Aos meus irmãos **Raelly e Rafael**, que estiveram ao meu lado em todos os momentos e com os quais eu aprendi os sentimentos de partilha e coletividade nas primeiras etapas da minha vida, eu amo vocês.

Ao meu AMIGO e futuro marido, **Christian Eike Precker**, muito obrigada pelo amor, dedicação e por estar presente na minha vida, incentivando os meus sonhos e realizações profissionais, fico muito feliz de dividirmos mais esta etapa juntos.

Ao Professor Dr. **Marcus Vinicius Lia Fook**, pela orientação e oportunidade, confiança a mim dirigida e por ter sempre acreditado na minha capacidade para as realizações dos desafios propostos por ele.

Ao Professor Dr. **Hugo Miguel Lisboa**, por ser um exemplo de educador com o qual tive a sorte de trabalhar durante a realização deste trabalho, por me ajudar a desenvolver meu senso crítico, pela orientação, oportunidade e acima de tudo por sua amizade.

Aos queridos, amados e grandes amigos **Hugo Lisboa, Paulinha, Dona Val, Glória Tamiris, Thiago Fideles, Isabel Rabello, Suelem, Milena, Rayane Santa Cruz, Paulo Adolfo, Italo Macedo, Hudson, Luciane, Josilene, Sr. Sergio** pelo o apoio, incentivo, companheirismo, ajuda pela contribuição, de cada um, na realização deste trabalho.

A todos os colegas do **Grupo de Biomateriais** em especial, Sr.Sergio, Josilene, Dona Val, Dailma, Tania, Paulinha, Willams, Luciane, Italo, Arthur, Silvia, Daniel, Klaidson e Rodrigo por todo o auxilio prestado durante o desenvolvimento deste trabalho e por todos esses anos de convivência.

Ao **Hospital Samaritano, PROADI SUS e Ministério da Saúde** pelo apoio financeiro destinado a esta pesquisa.

*“... Vós o sabeis, cristãos, o coração e o amor
devem caminhar unidos à ciência...”*

**(Allan Kardec, em
O Evangelho Segundo o Espiritismo)**

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
1.2	OBJETIVOS	2
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
1.4	BIBLIOGRAFIA	3
2	INTRODUÇÃO	5
2.1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1.1	Quitina: Fontes de quitina e importância econômica.....	5
2.1.2	Quitina: Um contexto histórico.....	7
2.1.3	Quitina: Um contexto técnico – Estruturas e Propriedades	8
2.1.4	Extração da Quitina.....	11
2.1.5	Pré-tratamento	12
2.1.6	Secagem	12
2.1.7	Etapa de desmineralização	13
2.1.8	Etapa de desproteínização	14
2.1.9	Despigmentação	155
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS	166
2.2.1	Materiais.....	166
2.2.2	Caracterização	166
2.2.3	Metodologia de Extração.....	199
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
2.3.1	FTIR	25
2.3.2	DRX.....	27
2.3.3	Determinação do Grau de Acetilação.....	28
2.3.4	Viscosimetria	28
2.4	CONCLUSÕES	29

2.5	BIBLIOGRAFIA	30
3.	INTRODUÇÃO	34
3.1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
3.1.1	Pele	35
3.1.1.1	Epiderme.....	36
3.1.1.2	Derme	36
3.1.1.3	Hipoderme.....	36
3.1.2	Regeneração e Cicatrização	37
3.1.3	Fios de Sutura: Um contexto histórico.....	39
3.1.4	Fios de sutura: um contexto técnico.....	42
3.2	PROPRIEDADES DE UM MATERIAL DE SUTURA.....	43
3.2.1	Força tênsil.....	43
3.2.2	Reabsorção do tecido.....	44
3.2.3	Diâmetro Transversal.	44
3.2.4	Coeficiente de Fricção.....	44
3.2.5	Segurança no nó	45
3.2.6	Elasticidade.	45
3.2.7	Plasticidade.	45
3.2.8	Memória.	46
3.2.9	Manipulação.	46
3.2.10	Reatividade tecidual.	46
3.2.11	Capilaridade.	46
3.2.12	Absorção de líquidos.....	47
3.2.13	Facilidade de remoção.	47
3.2.14	Cor.....	47
3.3	FIOS NÃO ABSORVÍVEIS E ABSORVÍVEIS.....	48
3.3.1	Fios não absorvíveis.	48

3.3.2 Fios absorvíveis	48
3.4 CONFIGURAÇÃO FÍSICA	50
3.4.1 Monofilamentos.....	50
3.4.2 Multifilamentos (trançada ou retorcida).....	51
3.5 MATERIAL UTILIZADO NA PRODUÇÃO DE FIOS ABSORVÍVEIS	51
3.5.1 Sutura Catgut.....	52
3.5.2 Fio de sutura poliglactina 910 (Vicryl).....	53
3.5.4 Sutura antibacteriana (revestida com Vicryl Plus).....	55
3.5.5 Poliglicólico (Dexon II).....	56
3.5.6 Poliglecaprone (Monocryl).....	57
3.5.7 Polidioxanona (PDS).....	58
3.5.8 Carbonato de trimetileno-poliglicólico (Maxon).....	58
3.6 CRITÉRIOS DE SOLUBILIDADE DA QUITINA	59
3.7 FORMAÇÃO DA FIBRA DE QUITINA.....	62
3.8 MATERIAIS E MÉTODOS	65
3.8.1 Materiais.....	65
3.8.2 Metodologia de Solubilização	65
3.8.3 Formação da Fibra de Quitina.....	67
3.8.3.1 Preparação das Soluções de Quitina.....	67
3.8.3.2 Condições de preparação das fibras.....	68
3.8.3.3 Banho de Coagulação.....	68
3.8.3.4 Banho de Lavagem	68
3.8.3.5 Banho de desidratação	68
3.8.3.6 Secagem	69
3.8.4 Caracterização	69
3.9 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73

3.9.1	Estudos Preliminares	73
3.9.1.1	Quitina em diferentes concentrações	73
3.9.1.2	Avaliação dimensional.....	74
3.9.2	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	76
3.9.3	Microscopia Eletrônica de Varredura	78
3.9.4	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)....	92
3.9.5	Intumescimento	98
3.9.6	Ensaio Mecânico de tração.....	103
3.9.7	Avaliação da Viabilidade Celular	108
3.9.8	Biodegradação <i>In Vitro</i>	109
3.10	CONCLUSÕES	111
3.11	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
4	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	120

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura macromolecular de Celulose (1) e da quitina (2)	9
Figura 2 - Representação da estrutura da α -quitina (à esquerda) da β -quitina, à direita	10
Figura 3 - Representação esquemática das cadeias, α -quitina (à esquerda) e β -quitina (à direita).....	11
Figura 4-Ilustração do processo de desmineralização.	14
Figura 5- Ilustração do processo de desproteíntização	15
Figura 6-Cascas de camarão na estufa.	20
Figura 7- Processo de seleção granulométrica.	20
Figura 8- Processo de desmineralização.	21
Figura 9- Filtragem após o processo de desmineralização	21
Figura 10- Pó após o processo de secagem em estufa.	22
Figura 11- Processo de desproteíntização.	22
Figura 12- Filtragem após o processo de desproteíntização.....	23
Figura 13- Pó após o processo de secagem em estufa.	23
Figura 14- Pó submetido ao processo de desproteíntização à esquerda, pó submetido ao processo de desmineralização à direita.....	24
Figura 15- Diagrama do Processo de Extração da quitina.	25
Figura 16- Espectrograma de FTIR da quitina obtida pela metodologia CERTBIO.	26
Figura 17- Difractograma da quitina.	27
Figura 18- Esquema simplificado de uma seção transversal de pele demonstrando as três camadas da pele (epiderme, derme e hipoderme).	35
Figura 19- Processos de regeneração e cicatrização.	38
Figura 20- Diagrama de células lábeis que de acordo com a lesão levam ao processo de regeneração ou cicatrização.....	39
Figura 21- Diagramas de classificação dos fios de sutura quanto à absorção, origem do material, composição e capilaridade.	49
Figura 22- Imagens MEV de Fibras em Monofilamento (a e d) e Multifilamento (b e c).	51

Figura 23- Lâmina de tecido conjuntivo subcutâneo após cinco dias de implante do fio de poliglactina 910, HE, 40x	54
Figura 24- Lâmina de tecido conjuntivo subcutâneo após 10 dias de implante do fio de poliglactina 910, HE, 40x.	54
Figura 25- Lâmina de tecido conjuntivo subcutâneo após 20 dias de implante do fio de poliglactina 910, HE, 40x.....	54
Figura 26- Diagrama esquemático do processo de fiação úmida realizado no Certbio.....	62
Figura 27- (a) agitação mecânica: processo de dissolução, (b) após 24h de dissolução.	67
Figura 28- Diâmetro das Fibras obtidas.	75
Figura 29- Espectros vibracionais das fibras: 0,5% CaCl ₂ (5%), 0,5% Etanol (30%), 0,5% Acetona (70%), 0,5% água (100%).	77
Figura 30- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% acetona (70%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	79
Figura 31- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% água destilada (100%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	80
Figura 32- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% CaCl ₂ (2%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.....	81
Figura 33- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% etanol (30%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	82
Figura 34- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% acetona (70%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	84
Figura 35-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% água destilada (100%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	85
Figura 36-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% CaCl ₂ (2%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.....	86
Figura 37- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% etanol (30%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	87
Figura 38-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% acetona (70%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	89
Figura 39-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% água (100%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.	90

Figura 40-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% CaCl ₂ (2%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.....	91
Figura 41-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% Etanol (30%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.....	92
Figura 42-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de coagulação acetona (70%).....	93
Figura 43-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de água destilada (100%).	94
Figura 44-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de CaCl ₂ (2%).....	94
Figura 45-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de etanol (30%).....	94
Figura 46-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de acetona (70%).....	95
Figura 47-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de água destilada (100%).	95
Figura 48-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de CaCl ₂ (2%).....	96
Figura 49-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de etanol (30%).....	96
Figura 50-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de acetona (70%).....	97
Figura 51-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de água destilada (100%).	97
Figura 52-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de CaCl ₂ (2%).....	97
Figura 53-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de etanol (30%).....	98
Figura 54-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de CaCl ₂ (2%).....	99
Figura 55-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de etanol (30%).....	100

Figura 56-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de acetona (70%).	101
Figura 57-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de água destilada (100%).	102
Figura 58-Avaliação da taxa de intumescimento máxima nas concentrações de quitina 0,5%, submetidos aos banhos de coagulação: água destilada (100%), CaCl ₂ (2%), etanol (30%), acetona (70%).	103
Figura 59 - Avaliação da tensão máxima nas concentrações de quitina 0,5%, 0,85% e 1%, submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl ₂ (2%).	105
Figura 60-Avaliação do alongamento máximo nas concentrações de quitina 0,5%, 0,85% e 1%, submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl ₂ (2%).	105
Figura 61-Avaliação do alongamento máximo na concentração de quitina 0,5% submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl ₂ (2%).	106
Figura 62-Avaliação do alongamento máximo nas concentrações de quitina 0,5%, 0,85% e 1%, submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl ₂ (2%).	107
Figura 63-Avaliação do módulo de young na concentração de quitina 0,5% submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl ₂ (2%).	107
Figura 64-- Ensaio de citotoxicidade para a concentração de quitina de 0,5%, submetidos aos banhos de coagulação de água destilada (100%), etanol (30%), acetona (70%), CaCl ₂ (2%).	109
Figura 65-Resultados do Ensaio de Biodegradação Enzimática para as amostras de 0,5% de quitina submetidas a solução tampão de PBS e solução PBS+Lisozima.	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Coeficientes de Mark-Houwink para o sistema em estudo.....	19
Tabela 2- Resumo dos picos detectados por DRX na quitina obtida.....	27
Tabela 3- Propriedades e características da pele.....	36
Tabela 4- Descrição das amostras, tipo de solvente e coagulante utilizado.	68
Tabela 5- Resultado das soluções de quitina com diferentes concentrações...	73
Tabela 6- Diâmetro das fibras de quitosana.	74
Tabela 7- Relação entre número cirúrgico e diâmetro médio obtido.	76
Tabela 8- Parâmetros de solubilidade de acordo com o meio de coagulação..	88
Tabela 9-Categute cirúrgico estéril - Diâmetro e resistência à tração sobre nó, de acordo com a ABNT NBR 13904.....	103
Tabela 10-Valores Médios da Carga máxima suporta pelas fibras.....	103

RESUMO

A quitina é o segundo polissacarídeo natural mais abundante depois da celulose. É biodegradável, não tóxico e encontrado em ambiente marinho como microfibrilas cristalinas ordenadas formando componentes no exoesqueleto de artrópodes e nas paredes celulares de alguns fungos e bactérias. Propriedades como a biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade exibida pelas fibras de quitina combinadas com propriedades mecânicas adequadas torna estas, candidatas para aplicações como material de sutura. Este trabalho tem como objetivo a obtenção e caracterização físico-química e estrutural, de fibras de quitina para aplicação como fios de sutura, extraída a partir de exoesqueletos de camarões (espécie: de *Litopenaeus vannamei*). Esta pesquisa foi dividida em duas metodologias para um melhor entendimento, sendo, portanto composto do processo de extração da quitina seguido pelo processo de obtenção das fibras. As concentrações de quitina utilizadas na formação das fibras foram de 0,5%, 0, 85%, 1%. Dissolvidas no solvente DMAc/LiCl₂ (5%) e coaguladas em etanol (30%), acetona (70%), água destilada (100%), CaCl₂ (2%). O pó de quitina obtido na primeira etapa desta pesquisa foi caracterizado através das técnicas de difração de raios-X (XRD) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Através do DRX foi possível identificar o tipo de quitina obtida como a alfa quitina, isto confirma a estrutura da quitina presente na casca de camarão, o FTIR revelou a ausência de proteína, confirmando que a quitina obtida pode ser utilizada como um biomaterial.

As fibras obtidas na segunda etapa desta pesquisa foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura SEM/EDS, o qual revelou a influência dos banhos de coagulação no diâmetro das fibras, o aumento do pH no banho de coagulação levou a uma neutralização mais rápida das fibras que quitina, ocorrendo um fenômeno conhecido como shrink nas fibras. Testes de intumescimento revelaram a influência dos banhos de coagulação utilizados, as fibras coaguladas com solventes orgânicos, possuíram um menor grau de intumescimento, quando comparadas com as fibras coaguladas em solventes aquosos. Para os ensaios mecânicos de tração têm-se que as fibras na

concentração de 0,5% de quitina devido a uma melhor homogeneidade da solução, possuíam propriedades mecânicas mais adequadas quando comparadas com as outras fibras produzidas. Os resultados de viabilidade celular das fibras apresentaram percentagem superior a 90%, evidenciado a ausência do solvente nas fibras produzidas. Através dos ensaios de biodegradação é possível observar uma perda de massa nas fibras somente a partir do quinto dia. Os resultados obtidos demonstram que o objetivo da pesquisa foi alcançado, de produzir fibras de quitina a partir da casca do camarão, além de indicarem a possível aplicação deste material como um fio de sutura.

Palavras-chave: quitina; fibras de quitina; fios de sutura.

ABSTRACT

Chitin is the second most abundant natural polysaccharide after cellulose. It is biodegradable, non-toxic and found in the marine environment as ordered crystalline microfibrils forming components in the arthropods exoskeleton and the cell walls of fungi and bacteria. Properties like biocompatibility, biodegradability, low toxicity exhibited by chitin fibers combined with adequate mechanical properties make them candidates for applications such as suture material. This work aims, obtaining and characterize through a physicochemical and structural characterization of chitin fibers for their use as sutures, extracted from the shrimp exoskeletons (species: *Litopenaeus vannamei*). This research was divided into two methodologies for a better understanding, is composed by the chitin extraction process followed by the fiber process obtention. The chitin concentration used in the fibers formation were 0.5%, 0.85%, 1%. Dissolved in DMAc / LiCl₂ (5%) solvent and coagulated in ethanol (30%), acetone (70%), distilled water (100%), CaCl₂ (2%). The chitin powder obtained in the first step of this study was characterized using the X-ray diffraction (XRD) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) techniques. By XRD it was possible to identify the chitin obtained as alpha chitin, this confirms the chitin structure present in the shrimp shell, the FTIR revealed the absence of protein, confirming that the chitin obtained can be used as a biomaterial. The fibers obtained in the second step of this study were characterized by SEM / EDS, which revealed the influence of coagulation baths in the fiber diameter, the increased pH in the coagulation bath led to a more rapid neutralization of the chitin fibers, a phenomenon known as shrink. Swelling tests revealed the influence of the coagulation baths, the fibers coagulated with organic solvent, owned a lower swelling degree compared to the fibers coagulated in aqueous solvents. For the tensile test the fibers with a chitin concentration of 0.5% due to a better solution homogeneity had more adequate mechanical properties, compared to the other fibers produced. The results for cell viability showed a percentage of 90%, evidencing the solvent absence in the fiber produced. Through biodegradation tests is possible to observe a mass loss in the fibers only from the fifth day. The results demonstrated that the objective was

achieved, to produce chitin fibers from the shell of shrimps, and indicate a possible application of this material as a suture wire.

Keywords: chitin; chitin fibers; sutures.

ACRÔNIMOS

ABNT

Associação Brasileira de Normas Técnicas 72

ASTM

American Society for Testing and Materials 74

ATR

Attenuated total reflection 71

CERTBIO

Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste 17

CH

Chloral hydrate 60

CONAMA

Conselho Nacional do Meio Ambiente 1

CS

Chitosan 62

DA

Degree of acetylation 12

DCA

Dichloroacetic acid 60

DMAC

Dimetilacetamida 19

DRX

Difração de raios X 28

EDX

Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios-X 71

FTIR

Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier 17

MC

Dichloromethane 60

MEC

Matriz Extracelular 39

MEV

Microscopia Eletrônica de Varredura 71

NBR

denominação de norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) 72

NMP	
N-metil-2-pirrolidona	61
PBS	
Phosphate Buffered Saline	74
PDS	
Polidioxanona	59
pH	
potencial Hidrogeniônico	23
TCA	
Trichloroacetic acid	60

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A quitina é um produto natural, de baixo custo, renovável, biodegradável e de grande importância econômica e ambiental. Desde que se tomou conhecimento dos seus benefícios e aplicações, o estudo de suas características e o aperfeiçoamento do processo de produção se tornou cada vez mais investigado (CRAVEIRO; CRAVEIRO A.; QUEIROZ, 1999).

Segundo Assenhaimer e Rubio (2003) este polímero presente nos exoesqueletos de crustáceos, é gerado pela Indústria Pesqueira durante o beneficiamento do pescado. Em especial, esta matéria prima utilizada no processo é proveniente das linhas de descasque e retirada do cefalotórax de camarões, justificando-se a escolha devido a sua extração e ao montante que estes resíduos representam para a Indústria Pesqueira.

O material resultante do beneficiamento do pescado, as cascas e vísceras, geralmente são destinados ao mar ou rios, sem a devida recuperação, e não atendem as exigências legais, referentes à manutenção e equilíbrio dos recursos hídricos, descritos na Resolução nº 357/05 do CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Na tentativa de redução do volume do efluente, muitas empresas enterram clandestinamente a parte sólida e apenas uma pequena minoria destina, adequadamente, para terceirizadas responsáveis pela coleta deste tipo de material.

Rathke e Hudson (1994), indicaram que a estrutura da quitina microfibrilar detém potencial como formador de película e fibra, porém a insolubilidade da quitina em solventes orgânicos comuns é uma grande desvantagem em termos de processamento. Depois de Rinaudo *et al.* (2001), descreverem a produção de fibras de quitina e quitosana pelo método wet spinning, Rajendran e Anand (2002) discutirem brevemente as propriedades das fibras de quitina e quitosana, não houve tentativas com grandes impactos científicos a respeito da produção, propriedades e aplicações das fibras de quitina e quitosana.

Tais propriedades exibidas pelas fibras de quitina e quitosana combinadas com adequadas propriedades mecânicas fazem delas candidatas para aplicações como material de sutura, sendo este um dos maiores grupos de materiais implantados utilizados no corpo humano. Estudos recentes abordam que em termos de bio-absorção a sutura de quitina foi absorvida em 4 meses,

tendo estas sido implantadas em músculos de ratos (HIRANO, 1999).

Quando implantadas no corpo humano, 132 pacientes tiveram uma boa resposta no que diz respeito à reação tecidual e boa cicatrização, ou seja, os resultados clínicos da sutura de quitina são aceitáveis, assim como não houve reações de tecido ou de possíveis infecções no local aplicado, não foram constatadas reações alérgicas ou de hipersensibilidade, assim como não houve nenhum efeito hematológico adverso. A quitina apresentou uma resistência à tração numa condição seca, no valor de $2,25 \pm 0,05$ Kg, sendo este valor semelhante ao Dexon TM ($\sigma_T = 2,35 \pm 0,06$ Kgf), e muito mais forte que o catgut ($\sigma_T = 1,39 \pm 0,33$ Kgf) (KURITA, 1995).

Diante do exposto objetivou-se desenvolver fios de sutura, a partir de fibras de quitina obtida através dos processos de desmineralização, desproteinização da casca do camarão.

1.2 OBJETIVOS

O objetivo geral desta dissertação é o desenvolvimento do processo de extração de quitina e obtenção fibras de quitina para aplicação como fios de sutura, visando o desenvolvimento deste produto com tecnologia nacional.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter quitina, extraída a partir da casca do camarão;
- Identificar o perfil morfológico da quitina;
- Desenvolver do processo de obtenção das fibras de quitina;
- Realizar estudos de biodegradação *in vitro* nos fios;
- Estudar o potencial citotóxico das fibras de quitina produzidas;
- Correlacionar as propriedades morfológicas e químicas dos fios investigando a relação destas propriedades com a biodegradabilidade e resistência mecânica, determinando quais as concentrações são ideais para se obter um fio de sutura biodegradável com as propriedades mecânicas desejadas.

1.4 BIBLIOGRAFIA

ASSENHAIMER, C. E RUBIO J. Purificação de águas contendo íons sulfato usando resíduos do processamento do camarão. In: XIX PRÊMIO JOVEM CIENTISTA – ÁGUA: FONTE DA VIDA. 2003.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente/Conama. Brasília/DF. 2005. Resolução 357/05. Disponível em <http://www.mma.gov.br/pot/conama/res357>. Acessado em 22 de novembro de 2009.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. Quitosana: a fibra do futuro.

Parque de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC, Fortaleza, 1999

HIRANO, S; NAKAHIRA, T; NAKAGAWA, M; KIM, SK; The preparation and application of functional fibers from crab shell chitin. *Journal of Biotechnology*, v.70, p. 373–377,1999.

KURITA, K. Chemistry and Application of Chitin and Chitosan. *Polymer Degradation and Stability*, v.59, p.117–120, 1995.

RATHKE, T.D; HUDSON, S.M. Review of Chitin and Chitosan as Fiber and Film Formers. *Polymer Reviews*, v.34, p. 375–437, 1994.

S.Rajendran and S.C.Anand, *Developments in Medical Textiles*, Textile Progress, P.W. Harrison (Editor), v.1, p.42, , ed. The Textile Institute, Manchester, 2002.

RINAUDO, M.; Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, v. 57, p. 397–430, 2008;

CAPÍTULO II

EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DA QUITINA

2 INTRODUÇÃO

A quitina é o segundo mais abundante polissacarídeo natural, após a celulose. É biodegradável, não tóxica e encontrada no ambiente marinho como microfibrilas cristalinas ordenadas formando componentes no exoesqueleto de artrópodes e nas paredes celulares de alguns fungos e bactérias. É usualmente obtida do descarte de processamento de alimentos provenientes do mar, principalmente das cascas de caranguejos, camarões e lagostas (HIRANO *et al*, 1999)

Propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, atividade anti-microbiana e baixa imugenicidade conferiram grandes oportunidades de aplicação deste polímero, que ganhou grande destaque não apenas como um recurso subutilizado, mas também como um novo biomaterial funcional de alto potencial em diversas áreas (JAYAKUMAR *et al*, 2007).

Muitas revisões e artigos têm sido publicados a respeito das aplicações da quitina e quitosana, as quais englobam: aplicações farmacêuticas e biomédicas, produção de papel, acabamentos têxteis, agentes quelantes de metais pesados, cosméticos, métodos de tratamento de efluentes. A quitina e quitosana têm se destacado principalmente no campo de biomateriais através dos recentes progressos na produção de fibras utilizando a quitina e a quitosana. Estas fibras podem ser úteis comercialmente para produção de membranas, gases médicas, curativos, suturas, etc. (RINALDO, 2008).

2.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1 Quitina: Fontes de quitina e importância econômica

A biomassa tem despertado interesse por parte dos cientistas em função de ser uma fonte renovável de energia e de matéria-prima industrial. A celulose, polissacarídeo produzido pela fotossíntese das plantas, compõe boa parte da biomassa. Em segundo lugar, encontra-se a quitina, um polissacarídeo encontrado em animais marinhos, insetos e fungos. Sendo esta encontrada principalmente em exoesqueletos de crustáceos e nas paredes celulares de alguns fungos. Cascas de crustáceos possuem cerca de 13 a 42% de quitina onde 30 a 40% são proteínas e 30 a 50% são sais

de cálcio (SYNOWIECKI, 2003). Segundo Assenhaimer & Rubio (2003), durante o processamento do camarão, através da etapa de descasque, são geradas grandes quantidades de resíduo sólido, tendo em vista que a cabeça e cascas do animal correspondem a aproximadamente 40% de seu peso total, sendo tal resíduo composto por cerca de 70 a 75% de água. Devido a constituição das cascas de crustáceos tem havido grande interesse no seu reaproveitamento, embora outros fatores como abundância de matéria-prima, utilização de rejeitos fartos oriundos da indústria pesqueira (as carapaças de crustáceos são indevidamente rejeitados por este tipo de indústria e em muitos casos causam poluição local) e crescimento do número de pesquisas aumentando a potencialidade de aplicação da quitosana, também expressam grande importância. A reutilização dessa substância química é muito importante do ponto de vista ambiental e econômico, porque além de eliminar os resíduos da indústria pesqueira, o custo final de produção é reduzido em cerca de 60% (MATHUR e NARANG, 1990).

A quitina é um pó esbranquiçado que apresenta estrutura cristalina ou amorfa, insolúvel em água, solvente orgânico e em alguns ácidos e bases diluídas. Em ácidos minerais concentrados ocorre degradação da cadeia polimérica. Uma das poucas tentativas de solubilizar a quitina é empregar uma solução de N,N-dimetil acetamida contendo 5% de cloreto de lítio ou empregando uma solução concentrada à quente de tiocianato de lítio, precipitando a quitina, em seguida pela adição de água, álcool ou acetona (MATHUR e NARANG, 1990).

As empresas que produzem quitina e quitosana em escala comercial estão localizadas no Japão. Estima-se que aproximadamente 100 bilhões de toneladas de quitina são produzidos, obtidos a partir de exoesqueletos de caranguejos e camarões, esta quantidade pode ser comparada com a produção de celulose por plantas de grande porte. A produção aquícola atingiu recorde histórico em 2010, em 60 milhões de toneladas, com um valor estimado de US\$ 119 bilhões. Desta produção 5,7 milhões de toneladas (9,6% do total) referem-se a crustáceos distribuídos entre os de água doce (6,4%), água salobra (57,2%) e água

marinha (3,8%). A produção de espécies marinhas é dominada por camarão branco (*Litopenaeus vannamei*), incluindo a produção substancial em água doce (FAO, 2012). O fato que quitina pode ser extraída da biomassa, e mesmo a partir de matérias-primas abundantes e relativamente baratas, consideradas como refugos da atividade pesqueira voltada para exploração industrial de frutos do mar, tem sido destacado como um fator importante em favor de sua produção, visando sua utilização em larga escala.

2.1.2 Quitina: Um contexto histórico

A quitina foi isolada pela primeira vez em 1811 por Braconnot, quando trabalhava com fungos. O termo quitina deriva da palavra grega “khiton”, significando um revestimento protetor para invertebrados (FURLAN, 1993 apud PINTO, 2006). Em seu trabalho, o autor afirmou que os mesmos continham uma nova substância que, em sua opinião, o novo composto era completamente distinto da encontrada nas madeiras (KNORR, 1991). A partir de então, o interesse progressivo na química de quitina resultou no desenvolvimento de muitos estudos que visaram aumentar o conhecimento sobre as relações estrutura/propriedades deste polímero e seus derivados.

Odier (1823) isolou uma substância insolúvel contida na armadura/carapaças dos insetos, a qual passou a chamá-la de quitina. Embora tenha falhado em não detectar nitrogênio na composição, foi o primeiro a relatar as semelhanças entre as substâncias suportes presentes na armadura dos insetos e nos tecidos vegetais. Existem dúvidas se ele tinha conhecimento da substância encontrada por Henri Braconnot nos fungos, pois neste e em trabalhos posteriores, ele não fez referência sobre trabalhos anteriores. Posteriormente, Odier também observou a presença de quitina na carapaça de caranguejo e sugeriu que ela seria o material básico na formação do exoesqueleto de todos os insetos e possivelmente dos aracnídeos. Entretanto, só mais tarde, em 1843, Payen detectou a presença de nitrogênio na quitina (ROBERTS, 1992). Os pesquisadores da época Odier e Children relataram que, isolaram a quitina com múltiplos

tratamentos com soluções de hidróxido de potássio concentrado. Isto pode ter sido um problema, porque na realidade eles devem ter obtido quitosana ao invés de quitina, pois a quitina ao ser tratada em meio alcalino concentrado pode sofrer desacetilação. No entanto, a quitosana foi descrita pela primeira vez em 1859 por Rouget. Este nome foi proposto em 1894 por Hoppe-Seyler pelo fato de que esta substância possui quantidade de nitrogênio igual à quitina original. (ROBERTS, 1992, NIFANT'EV, 1998). Devido à grande similaridade entre celulose, quitina e quitosana, uma enorme confusão estabeleceu-se entre elas e manteve-se até o início do século XX, quando as pesquisas demonstraram definitivamente que se tratava de substâncias diferentes. A celulose na época, por ser já bastante explorada principalmente nas indústrias de papel e têxtil, passou a ser alvo de grande investimento tecnológico. Por outro lado, a quitina ficou restrita à pesquisa básica com pouco incentivo financeiro (NIFANT'EV, 1998).

Somente por volta de 1970 foi quando se observou o grande potencial de aplicação que apresentavam tanto a quitina como a própria quitosana. (KNORR, 1991, HONG, 1996). A quitosana foi produzida industrialmente pela primeira vez em 1971 no Japão. Em 1986, o Japão possuía quinze indústrias produzindo quitina e quitosana em escala comercial (HIRANO, 1989). Desde então, estes polissacarídeos vêm tomando destaque considerável nas pesquisas e aplicações, sendo até mesmo considerados um dos materiais de maior potencial para o futuro próximo. Esta afirmação vem sendo tomada com base na grande versatilidade de aplicações encontradas para estes biopolímeros e muitos de seus derivados (NIFANT'EV, 1998).

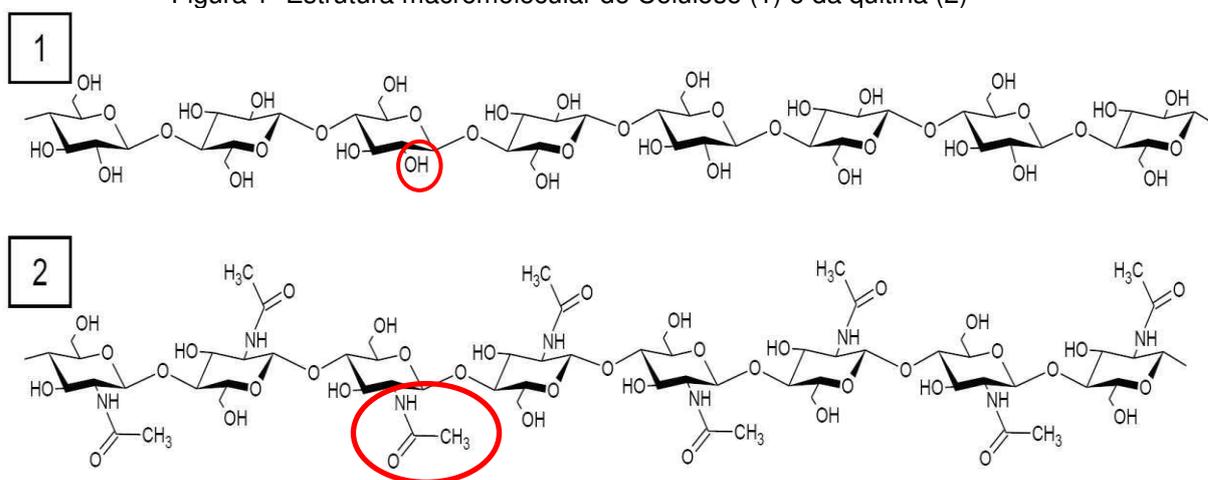
Atualmente, os usos industriais e em larga escala de quitina ainda não são muitos quando comparados com a celulose, mas alguns segmentos de mercado já são ocupados por seus derivados.

2.1.3 Quitina: Um contexto técnico – Estruturas e Propriedades

A quitina é o segundo material orgânico mais abundante na natureza depois da celulose, sendo biodegradável e não tóxico. É um polímero linear

no qual a unidade repetitiva é o dissacarídeo formado por 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose unidos por ligação glicosídica. Assim como na celulose as ligações são do tipo β (1 \rightarrow 4), definindo-se assim os terminais redutor e não redutor das cadeias poliméricas, os quais correspondem às extremidades que contêm grupo hidroxila livre ligado ao carbono 1 (terminal redutor) e carbono 4 (terminal não redutor) do anel de glicopirranose (CAMPANA-FILHO *et al*, 2007). Sua única diferença química com a celulose é a substituição de um grupo hidroxil no carbono 2 (C2) por um grupo amino acetilado. (KUMAR *et al*, 2004).

Figura 1- Estrutura macromolecular de Celulose (1) e da quitina (2)



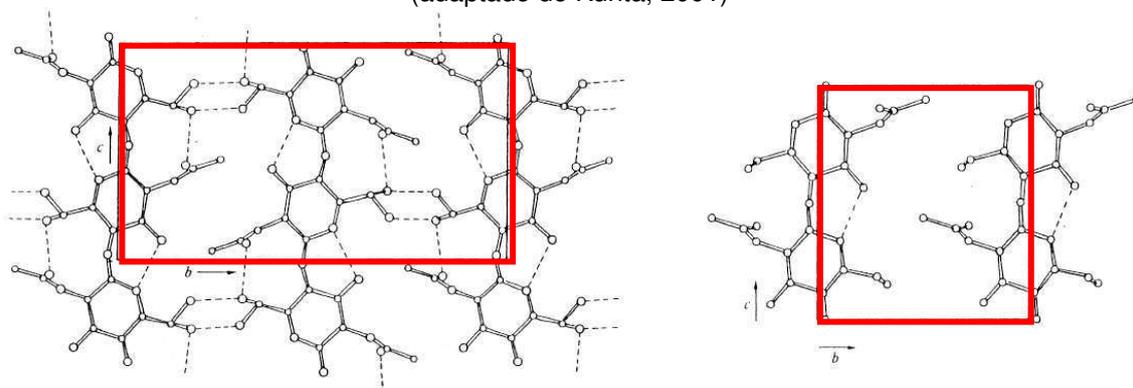
Segundo Campana-Filho (2007), na quitina predominam unidades repetitivas formadas exclusivamente por 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose, mas o processamento da biomassa para sua extração resulta em uma desacetilação parcial, mesmo quando são empregadas condições brandas nas etapas de desmineralização e desproteíntização. A quitina contém uma quantidade pequena, usualmente 5%-10%, de unidades 2-amino-2-desoxi-D glicopirranose.

Em contrapartida Richard e Hackman (1960), ressaltam que a quitina natural, ou seja, a quitina encontrada associada a outros materiais para constituir as carapaças dos caranguejos e casca de camarões, é um produto natural de composição variável quanto ao comprimento das

cadeias, conteúdo de unidades de glicosamina acetiladas e desacetiladas e sua distribuição ao longo das cadeias.

A quitina é um dos principais componentes das paredes celulares em fungos (ascomicetos, zigomicetes, basidiomicetes, deuteromicetos), artrópodes, anelídeos, moluscos e celenterados, algas diatomáceas (Popuri *et al.*, 2007). Em função do organismo no qual estará presente a quitina apresenta três formas polimórficas (α , β e γ), com características e propriedades bem definidas. A α -quitina é encontrada em estruturas rígidas e resistentes, como a cutícula de artrópodes, e neste caso ocorre fortemente associada a proteínas, materiais inorgânicos, ou ambos. As formas β e γ por sua vez ocorrem em estruturas flexíveis. Em lulas do gênero *Logilo* a α -quitina constitui uma fina capa que reveste as paredes do esôfago e estômago, a β -quitina ocorre como principal componente dos gládios ou plumas, e a γ -quitina integra uma espessa cutícula que recobre o estômago (ABRAM; HIGUERA, 2004).

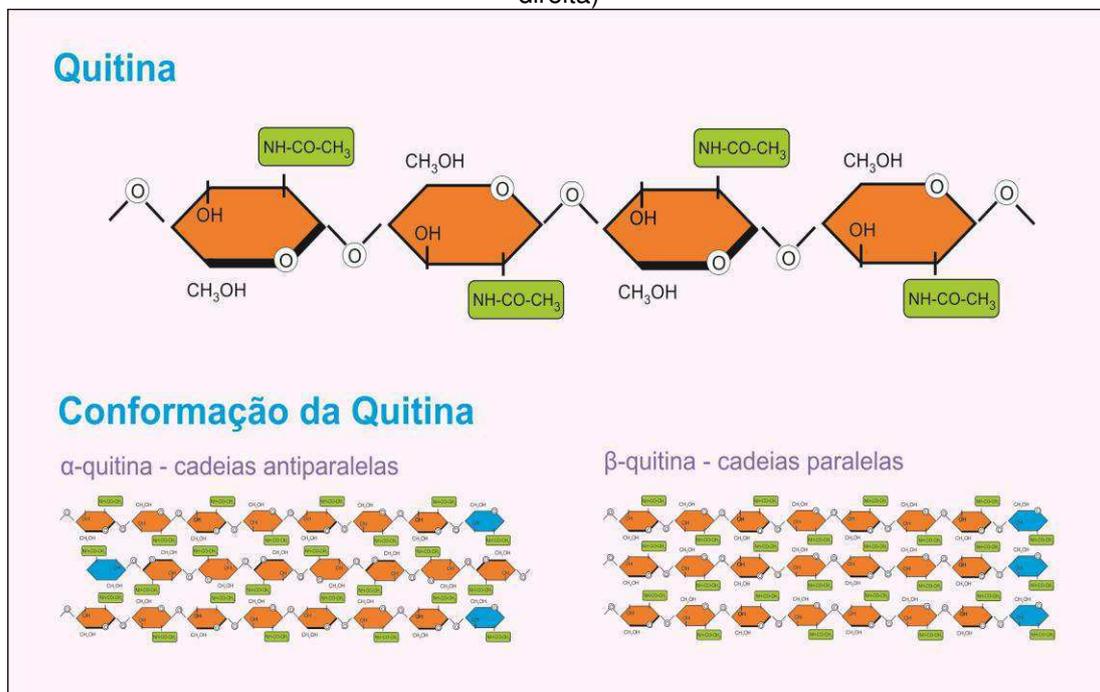
Figura 2 - Representação da estrutura da α -quitina (à esquerda) da β -quitina, à direita (adaptado de Kurita, 2001)



A α -quitina corresponde a um empacotamento denso resultante da disposição antiparalela das cadeias poliméricas em diferentes lamelas ou folhas, favorecendo assim a existência de numerosas ligações de hidrogênio inter- e intra-cadeias da mesma lamela e de lamelas vizinhas, como consequência possui uma maior resistência mecânica, porém esta configuração favorece a insolubilidade do material. No caso da β -quitina as cadeias pertencentes a diferentes lamelas dispõem-se paralelamente, o que dificulta o estabelecimento de ligações de hidrogênio intermoleculares envolvendo cadeias e lamelas adjacentes, resultando, portanto em um

material menos denso (CAMPANA-FILHO *et al*, 2007). Estudos recentes relataram que a forma polimórfica γ é possivelmente uma variante das famílias α e β .

Figura 3 - Representação esquemática das cadeias, α -quitina (à esquerda) e β -quitina (à direita)



Fonte: CAVALCANTI, (2014).

Na quitina o valor do grau de acetilação (DA, do inglês “degree of acetylation”) é em torno de 0,90, indicando assim a presença de alguns grupos amina. É possível também que durante a extração da quitina ocorra alguma desacetilação, sendo assim possível a existência de grupos amina na faixa de 5% - 15% (CAMPANA-FILHO *et al*, 2007).

2.1.4 Extração da Quitina

As principais fontes para a obtenção de quitina em laboratório são os exoesqueletos de vários crustáceos, como caranguejos e camarões. A quitina está fortemente associada com proteínas, material inorgânico, pigmentos e lipídios. Várias condições são usadas para remover essas impurezas dependendo dos parâmetros e as aplicações desejadas, devido a isto, ainda não existe um processo padrão. Para isolar a quitina

geralmente seguem-se etapas de pré-tratamento, desmineralização, desproteínização, despigmentação e secagem. Embora sejam conhecidos vários processos de obtenção de quitina, a maior parte deles não reproduz. O maior problema encontrado na extração da quitina é seu modo de preparação. Dificilmente se obtém uma quitina com as mesmas características da sintetizada anteriormente, como exemplo, a massa molar e o grau de acetilação. Devido a este fato, existe o interesse em otimizar a extração de forma a evitar a degradação da macromolécula de quitina e, ao mesmo tempo, levar o nível de impurezas a um mínimo satisfatório para aplicações biomédicas (PERCOT *et al.*, 2003; TOLAIMATE *et al.*, 2003).

2.1.5 Pré-tratamento

É considerado pré-tratamento qualquer etapa anterior ao início da extração de quitina podendo ser utilizado água corrente com o intuito de separar o material grosseiro, como por exemplo, material vegetal, porções de tecido e outros materiais que eventualmente possam acompanhar o resíduo (TOLAIMATE *et al.* 2003). Willem Stevens (2006), sugeriu a utilização de ácido acético (0,05M) ou ácido benzoico (0,016M) durante e etapa de lavagem, com o objetivo de se obter uma diminuição controlada da massa da casca, esta por sua vez ainda passaria por uma lavagem onde seriam eliminadas cerca de 40% de proteínas. Entretanto, a maioria dos autores apenas recorre a água destilada para proceder à lavagem da casca. (STEVENS *et al.*, 2006).

2.1.6 Secagem

Esta etapa tem como objetivo a remoção de umidade do material. Foram propostos dois tipos de secagem. O primeiro patenteado por Mukherjee (2001) consiste na tentativa de se modificar a estrutura cristalina da quitina para amorfa, secando a casca a uma temperatura de cerca de 80°C durante 48h e em seguida efetuar um rápido resfriamento da casca de forma a “congelar” o novo arranjo amorfo. Acredita-se que através deste

congelamento a casca estará mais suscetível a posteriores ataques químicos. (MUKHERJEE, 1996).

O segundo tipo de secagem foi proposto por Percot, neste processo as cascas são embebidas em HCl e logo após são colocadas ao sol no intervalo de 48h-72h, o processo pode ser inviável do ponto de vista industrial, ao passo que será necessário um espaço físico grande para uma quantidade elevada de cascas. Entretanto o armazenamento em estufa em temperaturas que variam de 60°- 80°C são uma alternativa viável, para esta etapa numa escala industrial (LISBOA, 2011).

Após a secagem o material passa então para a etapa de moagem, que tem como objetivo fazer uma seleção granulométrica. Esta etapa é vantajosa, tanto do ponto de vista de armazenamento, quanto nos aspectos difusionais nas posteriores reações de extração da quitina (LISBOA, 2011).

2.1.7 Etapa de desmineralização

Esta etapa tem como objetivo remover os minerais presentes na casca, especialmente o carbonato de cálcio. A desmineralização pode ocorrer através do tratamento com vários ácidos (HCl, HNO₃, H₂SO₃, CH₃COOH e HCOOH), sendo o HCl o ácido mais utilizado em diferentes concentrações. Neste processo, as concentrações do ácido podem variar de 0,275 a 2M, num intervalo de tempo de 15min à 48h, em temperaturas ambiente ou mais baixas; condições severas devem ser evitadas pois podem provocar despolimerização e degradação das propriedades do ponto de vista macromolecular (LISBOA, 2011). Para evitar essa degradação foi sugerido por Roberts *et al.*, (1997), a utilização de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), por tornar o processo mais brando, porém menos eficiente que o tratamento com HCl diluído. O tratamento com soluções aquosas por tempos curtos e à temperatura ambiente assegura a remoção dos minerais sem implicar em perdas macromoleculares. (ROBERTS *et al.*,1997; LISBOA, 2011).

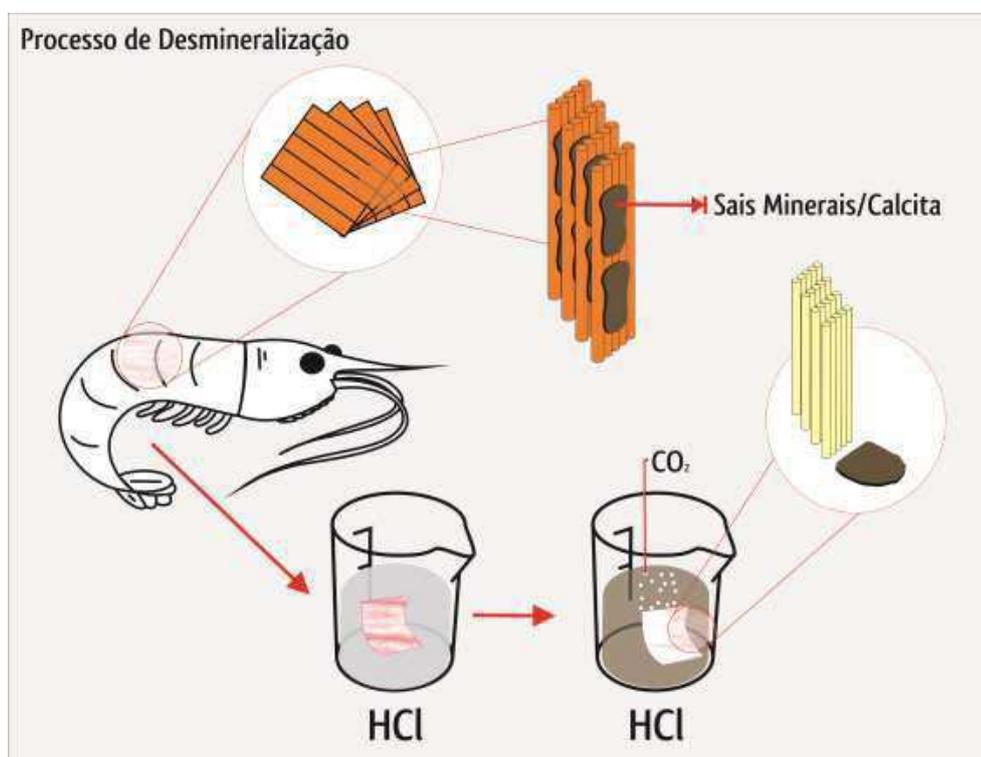
A utilização de HCl em um menor intervalo de tempo durante o processo de desmineralização é a alternativa mais rápida e eficiente na

remoção dos minerais presentes na casca do camarão e ocorre através da seguinte reação:



Os cristais de cálcio que estão presentes na superfície da casca com a adição do ácido clorídrico serão submetidos a uma decomposição do carbonato de cálcio, seguido da liberação de dióxido de carbono, tornando o processo de desmineralização mais eficiente. (LISBOA, 2011; CAVALCANTI, 2014) Na figura 4 abaixo este processo é ilustrado.

Figura 4-Ilustração do processo de desmineralização.



Fonte: CAVALCANTI, (2014).

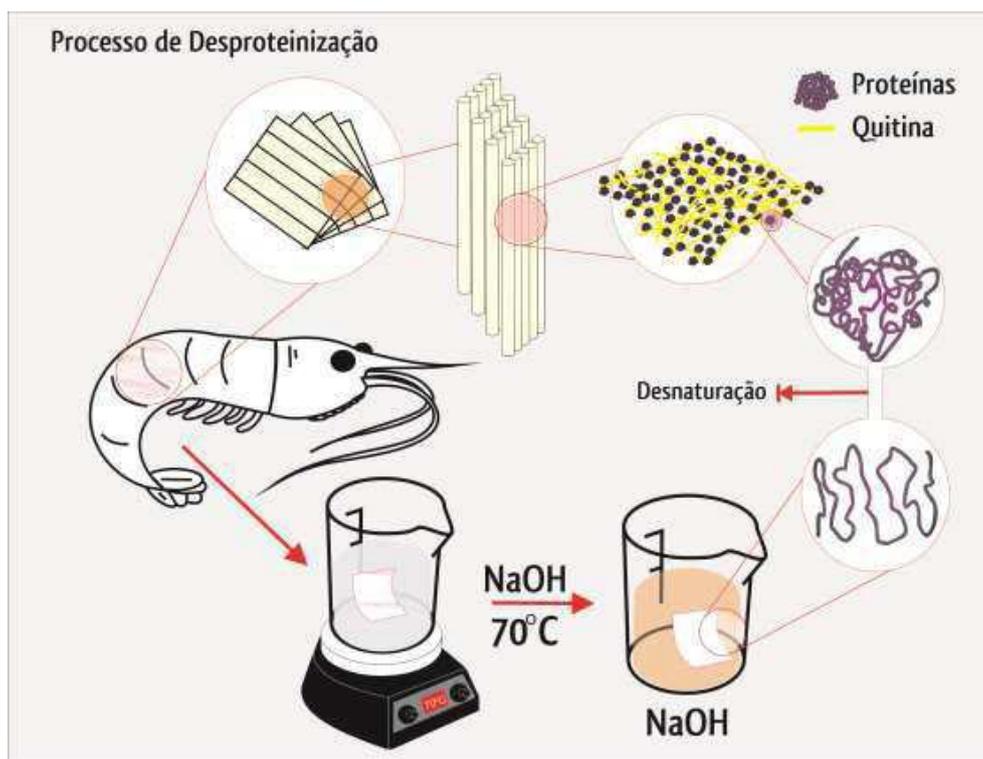
2.1.8 Etapa de desproteínização

Este processo tem como objetivo a eliminação da parte proteica da casca. Para aplicação biomédica, a remoção completa das proteínas é essencial, pois certos componentes destas são os principais responsáveis

pela existência de tantos casos de alergias respeitantes a marisco na população humana (KHOR, 2002).

Um grande número de solventes, podem ser usados como soluções aquosas de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, NaHSO₄, CaHSO₃, Na₃PO₄ e Na₂S, sendo o NaOH, o mais utilizado. As proteínas estão ligadas através de fortes ligações covalentes, sendo necessário o emprego da temperatura neste processo, geralmente utilizam-se temperaturas que variam de 65° - 100°C, no intervalo de tempo de 1h - 72h. Assim, como a desmineralização, é indicada a utilização de condições reacionais brandas, evitando assim a ocorrência de hidrólise dos grupos acetamida presentes na quitina, bem como sua despolimerização (CAMPANHA FILHO,2007).

Figura 5- Ilustração do processo de desproteínização



Fonte: CAVALCANTI, (2014).

2.1.9 Despigmentação

Os exoesqueletos de crustáceos contêm pigmentos que não parecem estar complexados com materiais inorgânicos ou proteínas,

quando estes não são eliminados durante as etapas de desmineralização ou desproteinização. Eles podem ser eliminados pela extração com etanol, acetona ou por branqueamento com uso de KMnO_4 , NaClO , SO_2 , NaHSO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ou H_2O_2 . A remoção dos pigmentos ocorre através da oxidação das ligações duplas carbono-carbono presentes na molécula (HENRY et al., 2000).

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Materiais

- **Matéria-prima:** Para esta etapa foram utilizados amostras de exoesqueletos de camarão *Litopenaeus vannamei* moídos (com granulometrias variadas).
- **Reagentes:** Os reagentes utilizados para a extração da quitina foram:
 - Ácido Clorídrico (HCl) 36-38%(v/v) Vetec;
 - Hidróxido de Sódio (NaOH) Synth;

2.2.2 Caracterização

Os ensaios de caracterização foram realizados no laboratório CERTBIO, localizado da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

- **Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier- FTIR**

A espectroscopia no infravermelho fornece informações sobre vibrações moleculares presentes no material. A transformada de Fourier da espectroscopia no infravermelho oferece uma alta razão entre sinal e ruído e alta acurácia espectral (RATNER et al., 2004). Logo as ligações químicas das substâncias e as massas dos átomos envolvidos nessas ligações possuem frequência de vibração específica. (ALBUQUERQUE ,

2008). É um método analítico padrão, frequentemente usado para caracterizar a estrutura de polímeros.

A quitina é caracterizada pela elaboração de uma pastilha de Brometo de Potássio (KBr), com uma razão de 1:100 (1 mg de quitina para 100mg de KBr) .

A caracterização por espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier foi realizada em um espectrômetro modelo Spectrum 400 FT Mid-IR PerkinElmer com varredura de 4000 a 400 cm^{-1} para a quitina e 4000-650 cm^{-1} para as fibras.

O grau de acetilação foi determinado usando a equação desenvolvida por Shigemasa, com linha de base entre 1500 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} (Shigemasa *et al.*, 1996):

$$\% \text{Grau de Acetilação} = 100 \frac{A_{1560}}{A_{1070}} 100 \quad (\text{Equação 1})$$

- **Difração de Raios X (DRX)**

A finalidade do uso de difração de raios X é apropriada para determinação dos índices de cristalinidade da quitina. A característica da quitina é possuir um elevado grau de cristalinidade. Para a realização deste ensaio foi utilizado o equipamento XRD SHIMADZU 7000, no intervalo de ângulos 2θ de 5° a 45°, com uma velocidade de varredura de 1°/minuto.

- **Viscosimetria**

O estudo viscosimétrico determina a massa molar viscosimétrica. Além de permitir avaliar informações sobre a massa molar média do polímero, dimensões da cadeia polimérica em solução e, como consequência, da qualidade deste solvente para este polímero (medida pela intensidade de solvatação do polímero).

A metodologia executada foi a seguinte:

- (i) Preparar uma solução de Dimetil Acetamida/LiCl 5% (p/V);
- (ii) Dissolver a quitina obtida na solução preparada em (i) de maneira a obter soluções com concentrações de 0,01; 0,03; 0,07 e 0,1 g/L.

- (iii) Com o banho termostático regulado para 25 °C, determinar o tempo de passagem no capilar (utilizando o viscosímetro automático Schött Gërate, e um capilar to tipo 0 ou I) das várias soluções, começando por determinar o tempo de passagem no capilar do solvente puro (neste caso DMAC/LiCl), t_0 , e em seguida ir determinando os tempos de passagem no capilar das diferentes soluções, t , começando pela de menor concentração e terminando com a solução mãe (ordem crescente de concentrações).

Fazer o traçado da curva $\frac{\eta_{sp}}{c}$ vs c
e a partir destas determinar o número limite de viscosidade.

Cálculos:

1. Viscosidade reduzida

$$\eta_r = \eta/\eta_0 \cong t/t_0 \quad (\text{deve estar entre 1,1 e 1,9})$$

2. Viscosidade específica

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1$$

3. Número limite de viscosidade

$$[\eta] = (\eta_{sp}/c)_{c=0}$$

onde c (g/dL) e $[\eta]$ (dL/g)

- (iv) A partir da equação de Mark-Houwink

$$\eta = k.M^a \quad (\text{Equação 2})$$

A equação 2 é a equação de Mark-Houwink que relaciona a viscosidade intrínseca com o peso molecular do polímero. Os coeficientes de Mark-Houwink para o sistema em estudo, a 25 °C, estão apresentados na Tabela 1:

Tabela 1- Coeficientes de Mark-Houwink para o sistema em estudo.

Autor	A	K (dL/g)	Intervalo de Peso Molecular ($\times 10^{-3}$ g/mol)
((Terbojevich <i>et al.</i> , 1988)	0,69	$2,4 \times 10^{-3}$	90-510
Terbojevich <i>et al.</i> , 1996	0,88	$2,1 \times 10^{-4}$	120-1200
Poirier <i>et al.</i> , 2002	0,95	$7,6 \times 10^{-3}$	80-710

2.2.3 Metodologia de Extração

A metodologia adotada neste trabalho foi descrita por LISBOA (2011), apresentada a seguir.

- **Pré-tratamento**

As cascas foram colocadas em caixas térmicas e depois armazenadas sob-refrigeração ($\approx -190^{\circ}\text{C}$) até o uso. Em seguida, foi realizada a lavagem manual.

Após a lavagem as cascas foram então acondicionadas em estufa por um período de 12 horas, moídas em liquidificador. Após a moagem, foi feita uma seleção granulométrica em malhas $53 \mu\text{m}$ e $150 \mu\text{m}$; os grãos mais finos foram então separados. Neste trabalho somente os grãos retidos na peneira passaram pelo processo de extração da quitina.

Figura 6-Cascas de camarão na estufa.



Figura 7- Processo de seleção granulométrica.



- **Desmineralização**

Após este processo em que é obtido o pó da casca do camarão, foi realizado o processo de desmineralização com uma solução aquosa 1M de ácido Clorídrico (HCl, Sigma-Aldrich, Pa).

- ✓ Para tanto pesou-se 10g de casca com uma granulometria acima de 150 μ m;
- ✓ Preparou-se 200mL de uma solução aquosa de HCl a 1M;
- ✓ Adicionou-se a solução aquosa às cascas de camarão e deixou-se reagir por 20min à temperatura ambiente e sob agitação mecânica;

- ✓ Após a agitação a solução foi filtrada e lavada com água destilada até atingir pH neutro nas águas de lavagem.
- ✓ O material retido foi então colocado em estufa na temperatura de 60°C por 12 horas.

Figura 8- Processo de desmineralização.



Figura 9- Filtragem após o processo de desmineralização



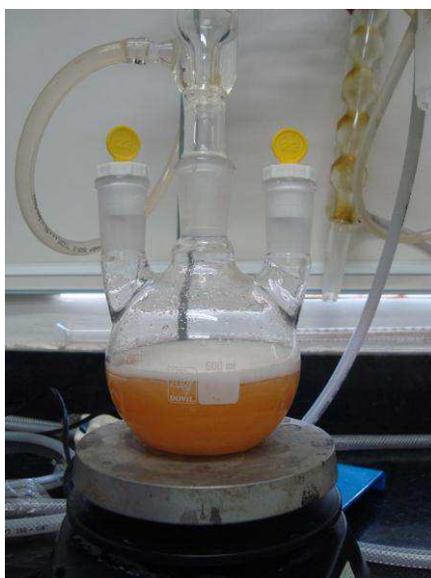
Figura 10- Pó após o processo de secagem em estufa.



- **Desproteíntização**

O processo de desproteíntização foi realizado com 200 ml de solução aquosa 1M de hidróxido de sódio (NaOH, Sigma-Aldrich, Pa) adicionados à casca do camarão por três horas em refluxo à temperatura de 80°C.

Figura 11- Processo de desproteíntização.



Após este processo a solução foi filtrada e lavada com água destilada até atingir pH neutro nas águas de lavagem. Esta etapa foi realizada três vezes em cada amostra.

Figura 12- Filtragem após o processo de desproteinização.



O material retido foi então colocado em estufa na temperatura de 60°C por 12 horas.

Figura 13- Pó após o processo de secagem em estufa.

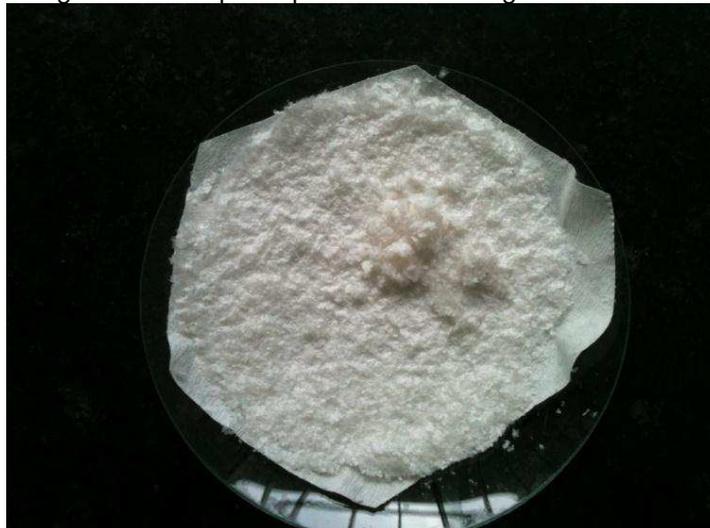


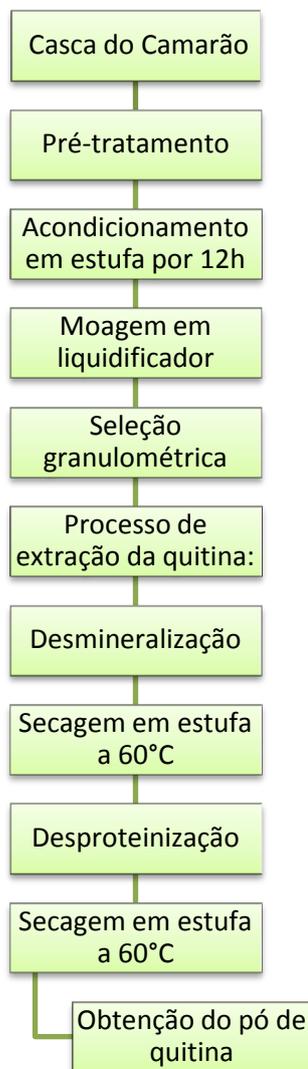
Figura 14- Pó submetido ao processo de desproteinização à esquerda, pó submetido ao processo de desmineralização à direita.



- **Diagrama dos processos de extração da quitina**

Logo abaixo são ilustrados em forma de resumo os processos que envolvem a extração da quitina.

Figura 15- Diagrama do Processo de Extração da quitina.

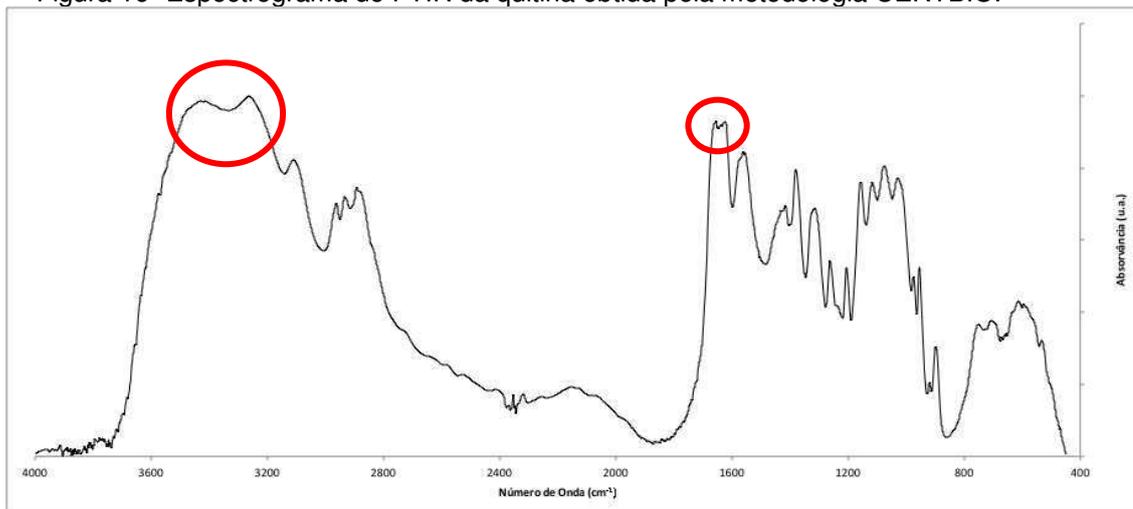


2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 FTIR

Na figura 16, apresenta-se o espectrograma da quitina obtida pelo método desenvolvido no grupo CERTBIO.

Figura 16- Espectrograma de FTIR da quitina obtida pela metodologia CERTBIO.



As bandas observadas neste espectro de infravermelho, como uma consequência das vibrações estão em concordância com os dados da estrutura de quitina, segundo LISBOA (2011) como: amida I em 1630 cm^{-1} e 1655 cm^{-1} , amida II em 1560 cm^{-1} , grupo hidroxila presente em 3450 cm^{-1} , ligação C-H em 2878 cm^{-1} , banda de oxigênio em 1160 cm^{-1} , ligação C-O; 1070 cm^{-1} ; ligação C-O em 1030 cm^{-1} e 897 cm^{-1} .

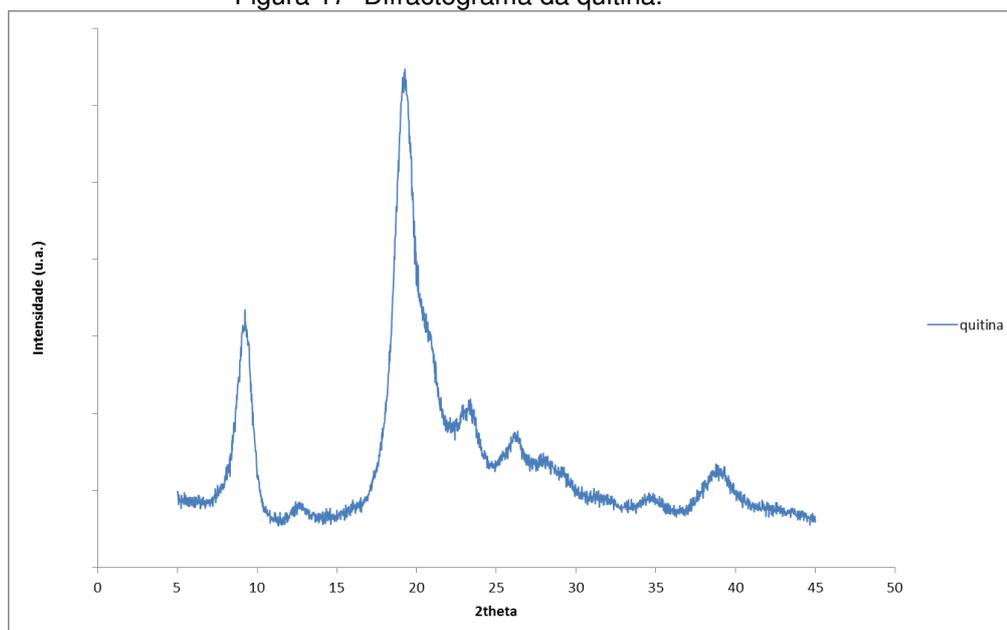
Na região de 3500 cm^{-1} , pode se observar um ombro visualizado apenas na quitina, atribuído ao grupo hidroxilo. Os grupos O-H ligados ao carbono da posição 6 do anel de glicopirranose e o grupo C=O das acetamidas indicam a estrutura mais ordenada da quitina, gerando maior empacotamento. As bandas em torno de 3260 cm^{-1} e 3100 cm^{-1} no espectro de quitina podem ser atribuídas aos grupos N-H da acetamida em ligações intermoleculares de hidrogênio.

Na região de C-H, correspondente ao intervalo 3000 cm^{-1} - 2800 cm^{-1} , o espectro de quitina apresenta bandas intensas, e em maior número devido ao elevado teor de acetamidas. No intervalo 1800 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} são observados as bandas denominadas de amida I e de amida II, no espectro de quitina, podem ser observados dois sinais de intensidades semelhantes, próximos de 1660 cm^{-1} e de 1625 cm^{-1} , correspondentes à banda de amida I. Importa ainda referir a ausência do pico a 1540 cm^{-1} , que comprova a ausência de absorção por proteínas (Gaill et al.,1997).

2.3.2 DRX

Através da difração de raios X conseguiu-se distinguir a quitina de partida de seus derivados desacetilados. Na literatura, encontra-se o difratograma da quitina apresentando dois picos característicos. Assim como também é caracterizada por sinais mais resolvidos e em maior número do que observado nos difratograma de quitosana, atribuída à existência mais domínios cristalinos.

Figura 17- Difratograma da quitina.



No difratograma da quitina observaram-se os seguintes picos, apresentados na Tabela 2:

Tabela 2- Resumo dos picos detectados por DRX na quitina obtida.

Pico	Angulo 2θ	Plano Cristalográfico
I	9,24	020
II	12,3	021
III	19,2	110
IV	23,1	120
V	25,9	130
VI	27,6	013
VII	34,3	-
VIII	38,4	-

Analisando a intensidade dos picos verifica-se que existem dois picos mais significativos, um de menor intensidade no ângulo $2\theta=9,24^\circ$ e outro de alta intensidade no ângulo $2\theta=19,2^\circ$ que evidencia a parte cristalina. Utilizando a Lei de Bragg, verifica-se que tais picos correspondem aos planos cristalográficos de Miller de (002) para o primeiro, e (110 e 040) para o segundo. Estes dados estão em conformidade com a literatura para a α -quitina, nomeadamente com o trabalho realizado por Campana-Filho e colaboradores em 2007 (Campana-Filho *et al.*, 2007)

2.3.3 Determinação do Grau de Acetilação

Para determinar o grau de desacetilação foram utilizadas as equações 1 e 2, desenvolvidas por Shigemasa (1996) que relacionou diferentes razões entre bandas de FTIR e resultados obtidos por ressonância magnética. Existem outras equações, nomeadamente a equação de Roberts que relaciona a absorção do grupo hidroxila (OH), que serve de referência, e se situa no comprimento de onda 3450 cm^{-1} com a absorção do grupo amida I (NH-). O grupo OH serve de referência interna, uma vez que a presença deste grupo não é alterada pela extração, ao passo que o grupo amida I perde intensidade ao longo do processo devido à remoção do grupo acetil tanto na desmineralização como na desproteínização, e mais intensamente durante a desacetilação que será analisada mais futuramente. O valor obtido para o grau de acetilação foi de 6%, confirmando que ocorre uma ligeira desacetilação durante o processo de extração da quitina.

2.3.4 Viscosimetria

Devido a dificuldades de funcionamento do equipamento, e por não ter sido possível realizar esta caracterização em outro equipamento semelhante, em tempo útil, estes dados não são apresentados no presente trabalho, ficando para trabalho futuro. Assim optou-se por deixar descrito a

metodologia e a pesquisa bibliográfica realizada a respeito desta caracterização

2.4 CONCLUSÕES

- ✓ Foi possível obter e caracterizar a quitina a partir da casca de camarão com características ótimas de utilização como matéria prima para o estudo e fabricação de biomateriais.
- ✓ Através da técnica de FTIR e DRX foi possível determinar que a quitina obtida apresenta valores baixos de proteína permitindo assim a sua dissolução em solventes orgânicos.

2.5 BIBLIOGRAFIA

ABRAM, P.A.; HIGUERA, I. – Generalidades, in: Quitina y Quitosano; obtention, caracterizacion y aplicaciones, Ed. Fondo Editorial., Pontificia Universidad Católica Del Perú, 2004.

ASSENHAIMER, C. E RUBIO J. Purificação de águas contendo íons sulfato usando resíduos do processamento do camarão. In: XIX PRÊMIO JOVEM CIENTISTA – ÁGUA: FONTE DA VIDA. 2003.

BRUGNEROTTO, J; DESBRIERES, J; HEUX, L; MAZEAU, K; RINAUDO, M.; Overview on structural characterization of chitosan molecules in relation with their behavior in solution. Macromolecular Symposia, v.168, p. 1–20, 2001.

CAMPANA-FILHO, S.P. *et al*, Extração, Estruturas e Propriedades de α - e β -Quitina Química Nova, v. 30, p. 644-650, 2007

CAVALCANTI, A.S. R. R.M. **Desenvolvimento do Processo de Extração de Quitina e Obtenção de Quitosana para Aplicação em Biomateriais.** 2014. Tese (Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Campina Grande.

FURLAN. L. Copolímeros grafitizados de quitina e quitosana com monômerosacrílicos: estudos de adsorção de Ca (II) e aplicações na tecnologia do papel. Florianópolis, 1993. 98f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 1993.

GAILL, F.; PERSSON, J.; SUGIYAMA, J.; VUONG, R.; CHANZY, H.; The Chitin System in the Tubes of Deep Sea Hydrothermal Vent Worms, Journal Structural Biology, v.109, p. 116 – 128, 1992

Hackman, R. H.; Australian Journal of Biological Sciences, v.13, p.530, 1960.

HENRY, L. K.; PUSPITASARI-NIENABER, N. L.; MANUEL JARÉN-GALÁN, M.; BREEMEN, R. B. V.; CATIGNANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Effects of ozone and oxygen on the degradation of carotenoids in an aqueous model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.5008-5013, 2000.

HIRANO, S. Chitin and Chitosan, **Elsevier**, New York, 37-43, 1989.

HONG, XIAO-YIN; J. M. **S-Pure Appl.Chem.**, v.10, p. 459-1477, 1996.

JAYAKUMAR R; NEW, N; TOKURA, S; TAMURA, H. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.40, p. 75–181, 2007.

KHOR, E. Chitin: a biomaterial in waiting; *Current Opinion in Solid State and Materials Science*; v. 6, p.313–317, 2002.

KNORR, D. **Food Technol.**, January, p. 114-120, 1991.

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

LISBOA, H.M. **Produção de quitosano e desenvolvimento de novos materiais a partir de resíduos alimentares**. 2011. Tese (Ciência e Engenharia de Materiais), Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

MATHUR, N. K.; NARANG, K. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals, *Journal of Chemical Education*, v.67(11), p.938, 1990.

NIFANT'EV, N. E.; CHERNETSKII, V.N. **Mendeleev Chem. J.** 1998.

PERCOT, A.; VITON, C. & DOMARD, A. Optimization of chitin extraction from shrimp shells. **Biomacromolecules**, v.4, p.12–18, 2003. ISSN 1525-7797.

PINTO, L. F. M. S. Síntese e estudo de derivados do quitosano com potencial interesse biológico e ambiental. 2005. 137f. Dissertação (Mestrado em Química)

Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto Alegre- SC. 2005.

RATNER, B. D., in *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Ed. Ratner, B. D; Hoffman, A.; Schoen, F.; Lemons, J. 2nd. ed. Elsevier Academic Press, San Diego, 2004, p. 355.

Richard, A. G.; *The integument of arthropods*, University of Minnesota Press: Minneapolis, p. 110, 1951.

ROBERTS, G. A. F. **Chitin Chemistry**, **Macmillan**, London 14 (3): 166-169 JUN 1992.

STEVENS, D.A.; ICHINOMIYA, M.; KOSHI,Y.; HORIUCHI H., Escape of *Candida* from caspofungin inhibition at concentrations above the MIC (paradoxical effect) accomplished by increased cell wall chitin; evidence for β -1,6-glucan synthesis inhibition by caspofungin, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 50, p. 3160 – 3161, 2006.

SYNOWIECKI, J. Production, properties and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.43, n.2, p.145-171. 2003.

TERBOJEVICH, M., COSANI, A., BIACHI, E., MARSANO, E., Solution behavior of chitin in dimethylacetamide/LiCl. In: Domard, A.; Jeniaux, C.; Muzzarelli, R.; Roberts, G. **Advances in Chitin Science** v. 1. p. 333-339, 1996.

TOLAIMATE, A.; DESBRIÈRES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI. A.; VINCENDON, M.; VOTTERO, P. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin or chitosan. **Polymer**, v. 41, p. 2463-2469, 2000.

CAPÍTULO III
PELE, REGENERAÇÃO TECIDUAL E FIOS
DE SUTURA

3. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos materiais para a aplicação como fios de sutura desperta o interesse da comunidade científica, quanto à possibilidade de uma maior aproximação do que seria o fio ideal. O melhor fio para aplicação como fio de sutura deve possuir a menor reação inflamatória possível, ser capaz de manter sua força tênsil, ou seja, manter o alongamento até que a cicatrização da ferida cirúrgica esteja completa e seja absorvido permitindo a funcionalidade do órgão (FERREIRA, 2005).

Do ponto de vista tecnológico, os fios de sutura absorvíveis, têm despertado grande interesse, ao passo que este sendo biodegradável, exclui obrigatoriamente o retorno do paciente ao hospital para a retirada dos pontos. Assim, os fios de sutura podem ser classificados como fios absorvíveis e fios não absorvíveis. (FERREIRA, 2005)

O estudo dos biomateriais está fundamentalmente atrelado a dois conceitos básicos: biofuncionalidade e biocompatibilidade, sendo estes os pilares de sustentação no estudo e aplicação desse importante campo da ciência. Funcionalidade, de forma clara e objetiva, é o conjunto de propriedades inerentes ao material que o permite desempenhar uma função desejada, enquanto que biocompatibilidade é a aceitação do material pelo meio biológico que o aloja (PUCCI *et al.*, 2002).

Aplicações biomédicas do tipo suturas são provavelmente um dos maiores grupos de implantes de materiais utilizados no corpo humano. Estima-se que o mercado de sutura fature anualmente, mais de \$ 1,3 bilhões de dólares. Já foi relatado o uso das fibras de quitina como material têxtil, agora surge uma nova perspectiva de aplicação destas fibras como material de sutura. Devido ao fato das fibras de quitina possuírem notáveis propriedades em relação às outras fibras utilizadas pelo mercado (CAMPANA *et al.*, 2007).

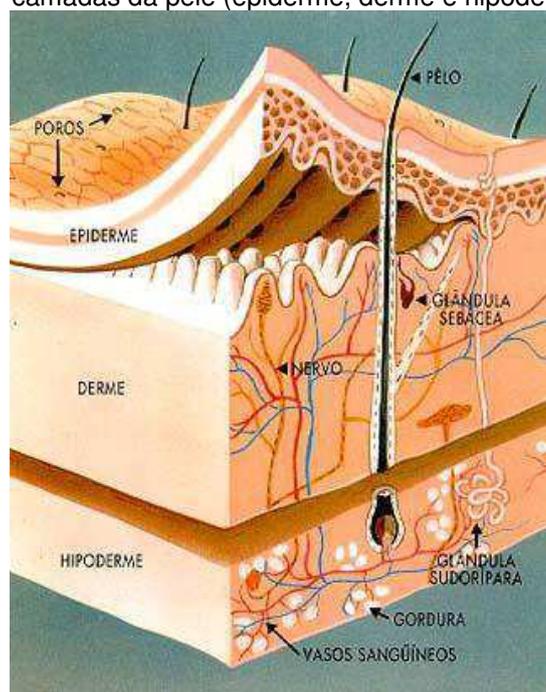
3.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1.1 Pele

A pele é um órgão dinâmico que contém tecidos, tipos celulares e estruturas especializadas. É um dos maiores e mais versáteis órgãos do corpo, que proporciona diversas funções singulares como: regulamentação térmica, defesa orgânica, controle do fluxo sanguíneo, proteção contra diversos agentes do meio ambiente e funções sensoriais como calor, frio, dor e tato. (NASCIMENTO *et al*, 2007).

É constituído por três camadas de estrutura: a epiderme, derme e hipoderme (Figura 18). Tais camadas encontram-se dispostas de modo a adequar-se de maneira harmônica ao desempenho de suas funções (RAUH, 2008).

Figura 18- Esquema simplificado de uma seção transversal de pele demonstrando as três camadas da pele (epiderme, derme e hipoderme).



Fonte: http://www.todabiologia.com/anatomia/sistema_tegumentar.htm

3.1.1.1 Epiderme: A epiderme é a camada mais superficial da pele, é vascular e apresenta função de barreira semipermeável, função imune, de adesão celular e de proteção contra a radiação ultravioleta (UV). É formada por epitélio estratificado, do qual emergem folículos pilosebáceos, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e unhas. Há quatro principais tipos de células presentes nessa camada: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Os queratinócitos representam cerca de 90% a 95% das células dessa camada, sendo sua principal função a síntese de proteínas. Os melanócitos são responsáveis pela formação de melanina, que confere proteção da pele contra radiação UV e aumentam com a exposição solar. As células de Langerhans são as células apresentadoras de antígeno, sendo, assim, responsáveis pela imunidade da pele. (GUSSO e LOPES, 2012).

3.1.1.2 Derme: É a camada mais estruturada e apresentam componentes celulares, estruturas vasculares, linfáticas e nervosas. . (GUSSO e LOPES, 2012).

3.1.1.3 Hipoderme: É a camada mais profunda da pele, formada principalmente por adipócitos, responsáveis pela proteção mecânica, pelo fornecimento de energia e pela termorregulação. . (GUSSO e LOPES, 2012).

A Tabela 3 resume as propriedades e características de cada camada do tecido epitelial.

Tabela 3- Propriedades e características da pele.
Estrutura e função da pele

Camada	Sub-região	Função
Epiderme	Estrato Córneo	Impede a invasão de micro-organismos, detritos, produtos químicos e radiação ultravioleta; Previne a perda de água e eletrólitos;

	Realiza a termorregulação por condução, radiação e convecção.
Melanina (pigmentação)	Impede a penetração de radiação UV.
Derme	Protege contra o trauma físico; Contêm terminações nervosas sensitivas; Mantêm a água e os eletrólitos.
Apêndices	Contêm glândulas sudoríparas écrinas e apócrinas, pêlos unhas e glândulas sebáceas.
Hipoderme	Atua como depósito de gordura e regula o calor

Adaptado: Prentice, W.E. *et al*, 2012.

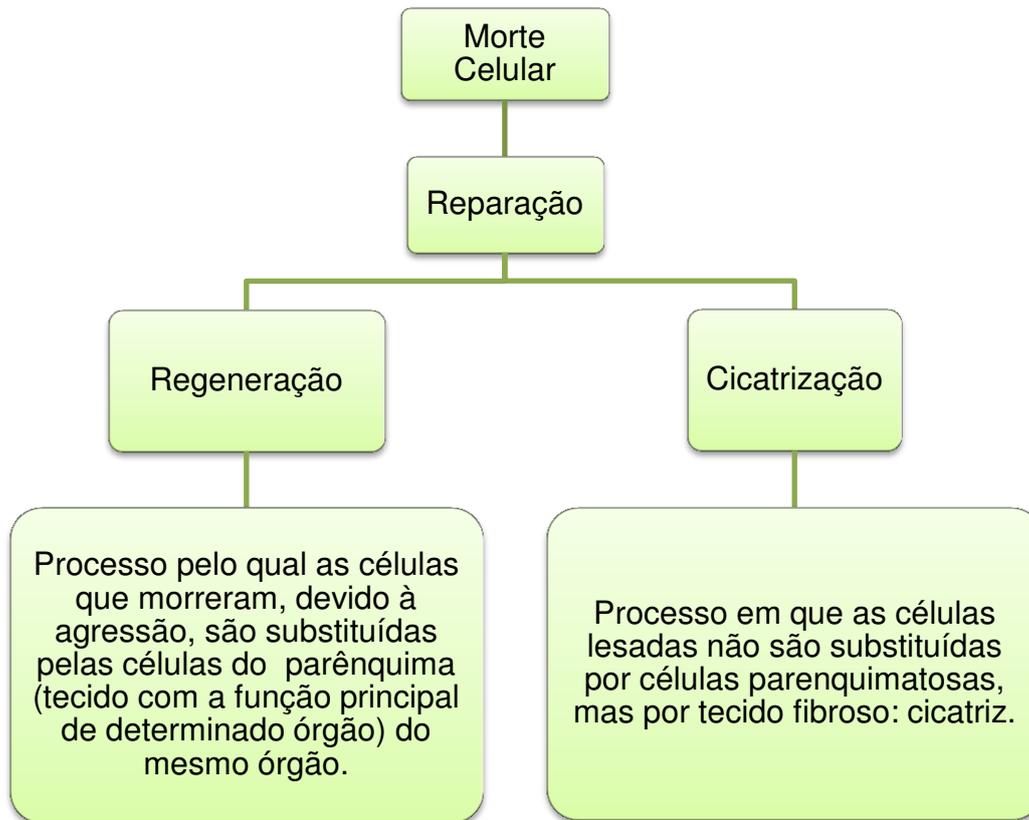
Se um corte na pele, vai levar à cicatrização ou não dependerá da extensão da lesão. Quando ocorre um corte superficial na pele, de maneira geral não leva a cicatrização, mas sim ao processo de regeneração. No caso de um corte mais profundo ocorre a cicatrização, seguido do processo inflamatório (SCHMITT, 2006).

3.1.2 Regeneração e Cicatrização

A regeneração e cicatrização são processos complexos, porém essenciais, no qual sem estes o corpo seria incapaz de sobreviver, envolvem ações integradas das células, matriz extracelulares e mensageiros químicos que visam restaurar a integridade do tecido lesionado o mais rápido possível. (NASCIMENTO, *et al*, 2007).

Os tecidos são classificados de acordo com a capacidade de proliferar, ou seja, a capacidade das células entrarem no ciclo celular, não no período embrionário, mas no período da vida adulta. No caso do tecido epitelial, suas células são classificadas como sendo células lábeis, pois estão continuamente no ciclo celular, sempre em replicação (SCHMITT, 2006).

Figura 19- Processos de regeneração e cicatrização.



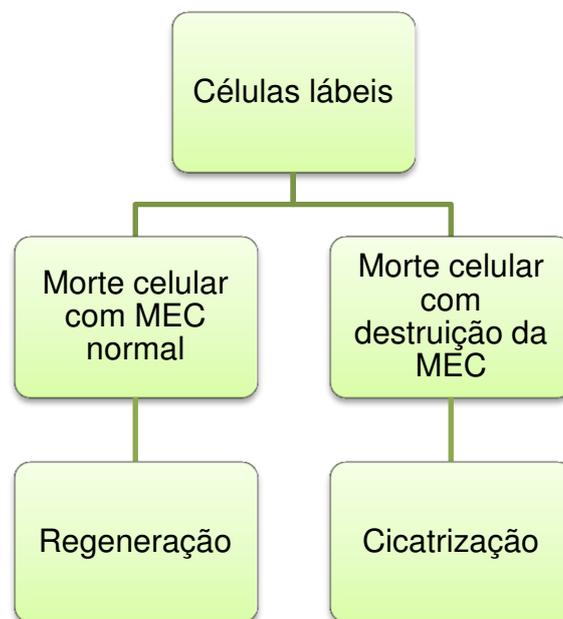
Adaptado: Schmitt *et al*, 2006.

Estes mecanismos não se excluem mutuamente, logo após a lesão pode haver no mesmo tecido regeneração e cicatrização.

No caso de uma lesão tecidual extensa, vai haver grande destruição do tecido, mesmo ocorrendo num tecido de células lábeis, isto pode evoluir para uma reparação por cicatrização, dependendo da intensidade da agressão. É o que acontece quando há a formação de um tecido de granulação, após um processo inflamatório a reparação faz-se por cicatrização. Outro fator importante é a matriz extracelular (MEC), que contribui para a sustentação e conexões da célula com o tecido conjuntivo. Se esta matriz for extensamente lesada a reparação faz-se por cicatrização (SCHMITT, 2006).

Em resumo:

Figura 20- Diagrama de células lábeis que de acordo com a lesão levam ao processo de regeneração ou cicatrização.



Adaptado: Schmitt *et al*, 2006.

Mas indiscutivelmente a técnica utilizada pelo cirurgião ao realiar a sutura, é o fator mais importante no resultado final da aparência da cicatriz, assim a técnica apurada (delicada), sem machucar a pele, a escolha de fios de sutura apropriados, escolha das agulhas, diminuição da tensão no local da cicatriz, são preceitos básicos para se obter uma boa cicatrização. (SCHMITT, 2006).

3.1.3 Fios de Sutura: Um contexto histórico

A utilização das suturas no encerramento de feridas remonta aos tempos dos egípcios, desde então vários materiais têm sido testados e utilizados, como por exemplo, fibras vegetais, resinas, tendões, intestinos de vários animais, crinas de cavalo, filamentos de ouro, dentre outros. Uma das menções mais antigas ao ato de suturar está registrado em escrita egípcia, que data 3.500 a.C. Nesta época, grandes formigas ou escaravelhos eram colocados em feridas de modo que suas mandíbulas fechassem as bordas da lesão, o corpo dos insetos era então torcido e arrancado, deixando suas cabeças firmemente fixas às bordas do ferimento (MAKENZIE, 1973).

O escritor e médico romano, Aurélio Cornélio Celsus, 30 d. C., relatou a utilização e manipulação de fibras de linho como sutura, segundo Celsus as fibras não deveriam ser torcidas quando usadas em suturas, pois assim as fibras tornavam-se mais maleáveis, facilitando os nós que deveriam ser feitos durante o ato de suturar. Esta pode ter sido, a primeira menção da história sobre técnicas de ligaduras de vasos. O conceito de ligadura e sutura está também registrado nos escritos de Hipócrates e Galeno. Galeno de Pergamon, 150 anos d. C., tratou a ruptura de tendões dos gladiadores com suturas utilizando fios de seda e tiras de serosa de intestino de herbívoros, dando-lhes, pelo menos, uma chance de recuperação onde anteriormente eles só poderiam esperar a paralisia (LYONS & PETRUCCELLI, 1987).

Rhazes (850-923 d. C.), o primeiro dos grandes médicos persas, realizou ligaduras de vasos e suturas de feridas com cordas extraídas de um instrumento denominado, alaúde. Atribui-se a esse médico árabe a introdução da palavra kitgut, para designar fios confeccionados com tiras do intestino de animais herbívoros, utilizados como cordas de instrumentos musicais (kit). Acredita-se que essa seja a origem da palavra Catgut, que denomina o fio de sutura mais conhecido de todos os tempos. O famoso cirurgião árabe Abulcasim, na segunda metade do século X, produziu uma descrição detalhada das técnicas de sutura. As agulhas eram feitas de osso ou de bronze, retas ou curvas. Como fios de sutura, foram utilizados como material, fios do pelo da extremidade da cauda de bovinos, tendões de animais e fios de seda para as ligaduras vasculares (MAKENZIE, 1973).

Na Europa, no século VII, na escola de medicina da cidade de Salerno, Rogério de Palermo, considerado um importante cirurgião do Ocidente, após os árabes. Em seus escritos, recomendava a serosa de intestino de herbívoros como sutura material, especialmente para as grandes feridas em vísceras abdominais. Linho ou seda não foram considerados adequados por esse cirurgião. A lista de materiais de sutura de Rogério ainda incluía tendões e pelos de camelo (MAKENZIE, 1973).

Em 1552, o francês Ambroise Paré, que originalmente era um barbeiro, tornando-se mais tarde um dos maiores cirurgiões da época,

utilizou finas tiras de linho e seda para ligaduras vasculares. Ambroise Paré foi um dos primeiros cirurgiões a acreditar na capacidade de regeneração dos tecidos vivos. Ele introduziu as fitas adesivas para fechar ferimentos, além de difundir a ligadura de vasos em substituição à cauterização destes com azeite fervente (PASSERI, 1982).

A primeira sutura vascular, de que se tem notícia foi realizada por Hallowell em 1759, que por sugestão de Lambert, fechou uma pequena abertura da artéria braquial com sucesso. Lambert, sem avaliar a importância do fato descrito, escreve: **"se ficar provado que uma grande artéria, quando lesada, pode vir a ser reparada por este método sem ser ocluída, este terá sido um grande avanço para a cirurgia"**. Infelizmente, as tentativas infrutíferas de Asman, para reproduzir experimentalmente em cães a técnica de Lambert-Hallowell, conduziram os cirurgiões da época ao descrédito do método, responsabilizando a introdução do fio de sutura na luz do vaso, atravessando toda a parede, como sendo a causa de trombose e de oclusão total (KALLAS, et al. 1999).

O professor de cirurgia Joseph Lister (1827-1912), motivado pelo trabalho de Louis Pasteur (1822-1895) para obter procedimentos antissépticos, utilizou o ácido carbólico e o fenol para combater germes nas mãos, instrumentos, material cirúrgico, material de suturas e feridas. A introdução da antisepsia reduziu a taxa de infecção para um valor inferior a cinco por cento. Nas décadas posteriores, a desinfecção e esterilização foram processos desenvolvidos com maior rigor. Lister iniciou uma mudança fundamental na avaliação do material de sutura. A partir de então, todos os tipos de sutura foram rotineiramente esterilizados. Nesse período uma grande variedade de material de sutura foi utilizada: material metálico (prata, cobre, alumínio e bronze), suturas feitas de material vegetal (linho e algodão), suturas feitas de materiais de origem animal (cabelos, tendões, artérias, músculos, tiras de nervos, seda e catgut) (LYONS & PETRUCCELLI, 1987).

Ainda no século XIX, o médico americano Philipe Physick, por meio de seus experimentos com suturas, admitiu pela primeira vez na história a possibilidade de que um fio cumprisse sua função e depois desaparecesse,

sendo absorvido pelos tecidos circundantes. Joseph Lister foi também pioneiro na utilização de ácido crômico para aumentar a resistência do catgut à absorção. Com o advento da industrialização, materiais como a seda e o algodão tiveram seu uso difundido e passaram a ser anexados em agulha.

Em 1900 já se dispunha de catgut em tubo de vidro mergulhado em solução esterilizante. A partir da Primeira Guerra Mundial foram sendo desenvolvidos métodos de esterilização mais seguros, como a radiação ionizante com o Cobalto 60, além de material sintético para a confecção dos fios de sutura cirúrgica. Por volta de 1940 começou a utilização da Poliamida e Poliéster; em 1962 do Polipropileno e a partir de 1970 os primeiros fios absorvíveis de origem sintética começaram a ser comercializados. Em 1971 foi introduzido pela Ethicon o primeiro fio absorvível sintético, um polímero de ácido poliglactínico, poliglactina 910. Muitos estudos enfocaram as qualidades do fio de poliglactina 910. Assim começou a tendência de se utilizar uma variedade de fios para sutura cirúrgica esterilizados, com agulhas pré-instaladas e fornecidos para pronto uso (CASTRO et al., 1974).

3.1.4 Fios de sutura: um contexto técnico

O ato de suturar é um dos métodos mais praticados, para suturar uma ferida, devendo-se assegurar que os dois lados dos tecidos vivos estejam unidos. Esta técnica requer materiais de suturas, instrumentos esterilizados, anestesia local, bem como assistentes durante o seu procedimento. Por outro lado, em alguns casos, é necessário efetuar a remoção dos pontos, após o processo de cicatrização estar completamente concluído (MAHARAJ *et al.*, 2002).

Define-se sutura como uma manobra cirúrgica que visa restituir a integridade dos tecidos que foi rompida por traumas ou intervenções cirúrgicas. Esta manobra é de fundamental importância, no sentido de favorecer a evolução da ferida cirúrgica pela imobilização de tecidos, por reduzir espaços anatômicos, criar condições de estabilização do coágulo, impedir a entrada de microrganismos nos tecidos mais profundos, auxiliar na

hemostasia, manter a funcionalidade e também pela estética (VALIATI *et al.*, 2000).

Na escolha do fio de sutura, o material a ser utilizado não deve prejudicar o processo de cicatrização (SAITO *et al.*, 2006). O melhor fio é aquele que, com a menor reação inflamatória possível, seja capaz de manter sua força tênsil até que a cicatrização da ferida cirúrgica esteja completa e seja absorvido permitindo a funcionalidade do órgão (FERREIRA *et al.*, 2005).

Skinovski *et al.*, (2005) relataram que um fio de sutura ideal não deve ser capilar, alergênico, carcinogênico, deve ser de uso fácil, ser barato, de fácil aquisição, facilmente esterilizado sem ser alterado e que permita uma cicatriz esteticamente perfeita. Os autores ainda mencionaram que apesar do avanço da ciência, ainda não foi possível desenvolver um material de sutura com todas essas propriedades, entretanto, muitos materiais de sutura estão disponíveis ao cirurgião com várias qualidades.

Os fios de sutura podem ser classificados de várias maneiras de acordo com as suas características e propriedades. Essa classificação pode ser baseada de acordo com a capilaridade (multifilamentados ou monofilamentados), com a sua origem (orgânicos, sintéticos, minerais ou mistos), com a sua degradação (inabsorvíveis e absorvíveis) e o tempo que cada fio leva para perder sua força tênsil e ser absorvido ou incorporado pelo organismo.

3.2 PROPRIEDADES DE UM MATERIAL DE SUTURA

3.2.1 Força tênsil: A força tênsil é a força que o fio de sutura pode resistir antes do rompimento. (MEYER; ANTONINI, 1989). O material de sutura deve possuir e manter a força de tração adequada para o propósito desejado. (MOY; WALDMAN; HEIN, 1992)

3.2.2 Reabsorção do tecido: A absorção do tecido é uma característica que não atua concomitantemente a taxa de resistência à tração. Pois a sutura pode perder a sua resistência tênsil rapidamente e, mesmo assim ser absorvida lentamente. A taxa de absorção é uma característica relevante no caso de complicações tardias, como por exemplo, o aparecimento de granulomas, no caso da aproximação de tecidos mais profundos, são geralmente utilizados fios absorvíveis. Alguns fatores como, por exemplo, diabetes, o tratamento com esteróides, desnutrição, estresse e doenças sistêmicas atrasam a cicatrização de feridas. Esses fatores influenciam significativamente a escolha de sutura; em casos onde ocorre uma cicatrização demorada, provavelmente o fechamento externo é feito com material não absorvível.

3.2.3 Diâmetro Transversal: A designação do diâmetro das suturas, são especificadas em ordem descendente (ou seja, 1-0 é maior do que 11-0). Quando o diâmetro da sutura é escolhido, recomenda-se o uso de calibre mais fino que se adapta a força natural do tecido. (MEYER; ANTONINI, 1989).

3.2.4 Coeficiente de Fricção: O coeficiente de fricção refere-se à facilidade que o fio de sutura atravessa o tecido (Ammirati, 2002).

3.2.5 Segurança no nó: A segurança ao nó é a qualidade de um fio de sutura que permite que ele seja preso seguramente com um número mínimo de lances por nó. Uma maior resistência do nó minimiza o risco de abertura da ferida. Um nó fica amarrado por causa do atrito produzido por uma parte do nó que atua em outro, que se refere ao coeficiente de atrito do material de sutura. A sutura com um alto coeficiente de atrito tem uma boa segurança do nó, porém tende a ter uma maior abrasão e arraste através do tecido. Um nó deve segurar as bordas com firmeza sem desgaste ou corte na pele

3.2.6 Elasticidade: É a capacidade do material de voltar ao seu comprimento original após o alongamento. Um elevado grau de elasticidade proporciona vantagens clínicas como, por exemplo, uma menor probabilidade de acúmulo de líquidos, cortar a pele durante a sutura, este material também aproxima as bordas com facilidade durante o processo de cura (AMMIRATI, 2002).

3.2.7 Plasticidade: É a capacidade que o fio de sutura possui de ser moldado ou alterado. A plasticidade está diretamente relacionada à capacidade de uma sutura de esticar com o edema da ferida sem retorno para sua forma original, uma vez que o inchaço desapareça. Em algumas suturas altamente plásticas podem tornar-se frouxas quando o inchaço da ferida diminui conseqüentemente se torna mais difícil manter as bordas do tecido próximas uma da outra (AMMIRATI, 2002).

3.2.8 Memória: A memória é a capacidade do fio de sutura assumir uma configuração linear estável após a remoção da embalagem e após o alongamento, ou seja, a memória é a capacidade de uma sutura permanecer livre de ondulações e outras contorções que possam interferir sua na manipulação cirúrgica e uso. Suturas que possuem memória não são maleáveis, de difícil manipulação e quando utilizadas necessitam de nós adicionais (BENNETT,1988).

3.2.9 Manipulação: Vários fatores influenciam a manipulação da sutura, como elasticidade, plasticidade e memória. O material deve ser manipulado de forma confortável apresentado facilidade na confecção dos nós.

3.2.10 Reatividade tecidual: Todos os materiais de sutura atuam como agentes externos estranhos ao corpo humano e podem, portanto causar uma reação no tecido, como por exemplo, uma resposta inflamatória na cicatrização da ferida, aumentando assim o risco de infecção. A duração e gravidade da resposta do tecido dependem do tipo e quantidade de material de sutura utilizado em conjunto com a sua configuração física. Uma sutura ideal deve estimular uma reação tecidual mínima e não criar uma situação favorável ao crescimento de bactérias. Os materiais de sutura devem ser não eletrolíticos, não capilares, não alergênicos e não carcinogênicos.

3.2.11 Capilaridade: Capilaridade de uma sutura descreve a facilidade do transporte de líquidos ao longo do fio de sutura, é uma propriedade física inerente de suturas multifilamentadas, devido ao espaço intersticial disponível. A capilaridade está relacionada com a capacidade de um fio de sutura para transportar e espalhar microorganismos ao longo do fio, sendo esta uma propriedade importante em termos de infecção da ferida.

3.2.12 Absorção de líquidos: Tanto a absorção quanto a capilaridade são propriedades do fluido importantes devido ao impacto de contaminantes bacterianos em tecidos. A natureza química e física da estrutura dos fios de suturas determina o nível de absorção de fluido. No entanto, a natureza química parece ser o fator mais relevante quando comparado com a estrutura física. Suturas sintéticas têm menor capacidade de absorção de líquidos do que as suturas naturais, pois suturas sintéticas são mais hidrofóbicas. As suturas multifilamentadas tem uma maior absorção de líquidos do que as suturas de monofilamentadas.

3.2.13 Facilidade de remoção: Para feridas nas quais a remoção pode ser difícil ou dolorosa e a aproximação dos tecidos é necessária somente por um curto espaço de tempo, são indicadas suturas de absorção rápida.

3.2.14 Cor: Estão disponíveis no mercado suturas tingidas ou não, um material tingido fornece fácil visualização durante a remoção. Se a remoção da sutura não é planejada pode-se aplicar um material não tingido é indicado, pois poderia se confundir com a pele.

Hoje em dia dois tipos de fios de sutura são bastante utilizados por médicos e cirurgiões. Sendo estes classificados como fios de sutura não absorvíveis e absorvíveis, o presente trabalho irá deter-se somente à apresentação dos fios de sutura absorvíveis, já que o modelo de fio e sutura proposto pelo CERTBIO é o de um fio absorvível.

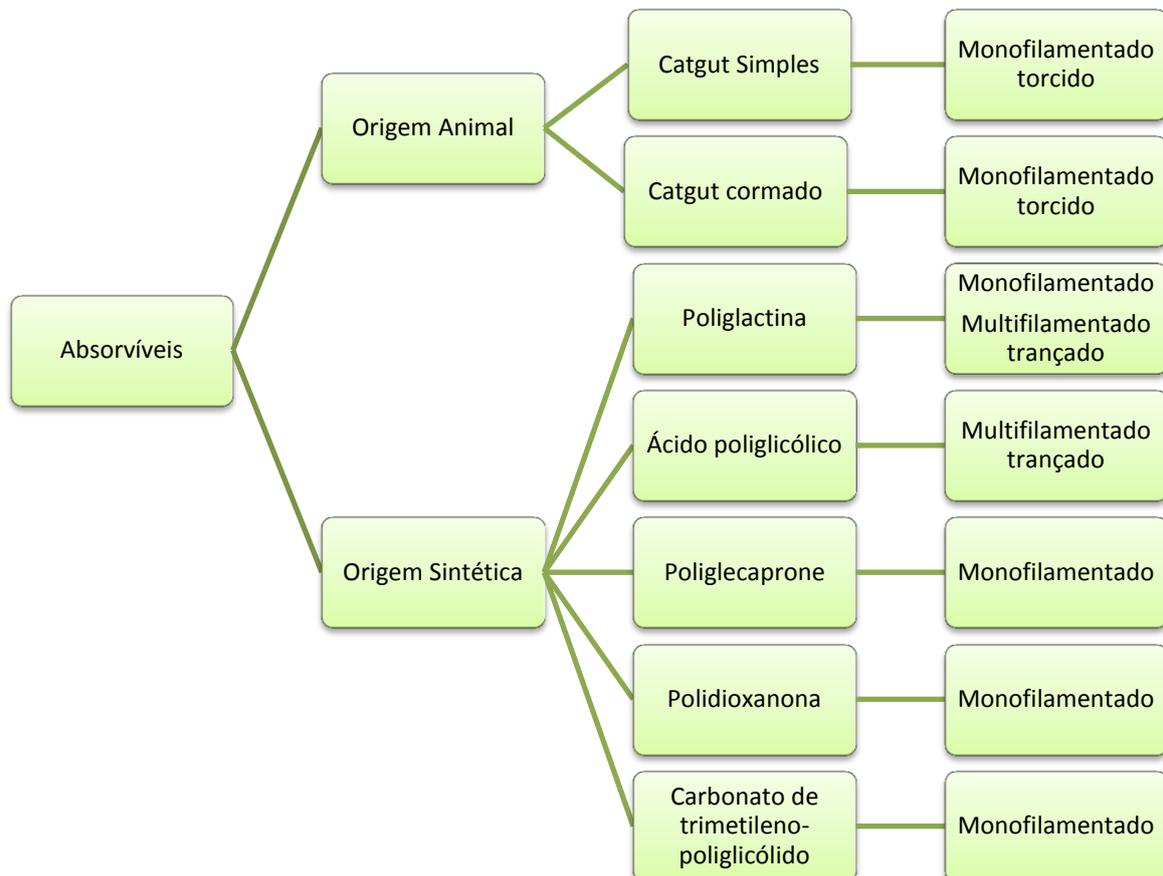
3.3 FIOS NÃO ABSORVÍVEIS E ABSORVÍVEIS

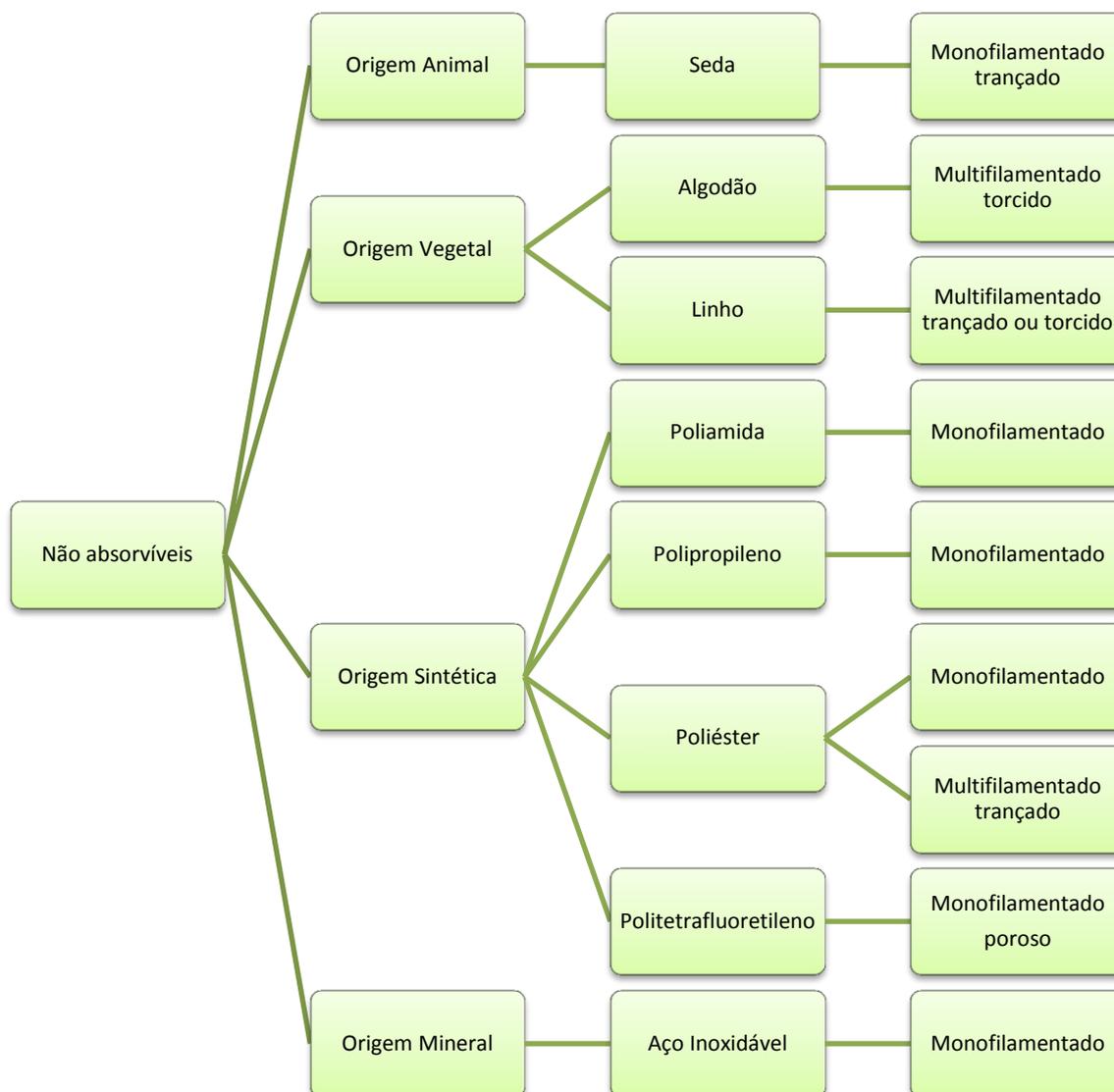
3.3.1 Fios não absorvíveis: São aqueles que o corpo humano não tem capacidade de absorver, isto é, não possui enzimas que degradem a sua estrutura, ou o processo de hidrolização é demasiado lento, devendo por isso ser removidas após o período de cicatrização.

3.3.2 Fios absorvíveis: Para esta categoria, o corpo humano possui capacidade de absorção, não precisando, portanto ser removidos. São tipicamente utilizados em suturas internas.

O Diagrama abaixo, (Figura 21), demonstra a classificação dos fios quanto à absorção, origem, e tipos de filamentos.

Figura 21- Diagramas de classificação dos fios de sutura quanto à absorção, origem do material, composição e capilaridade.



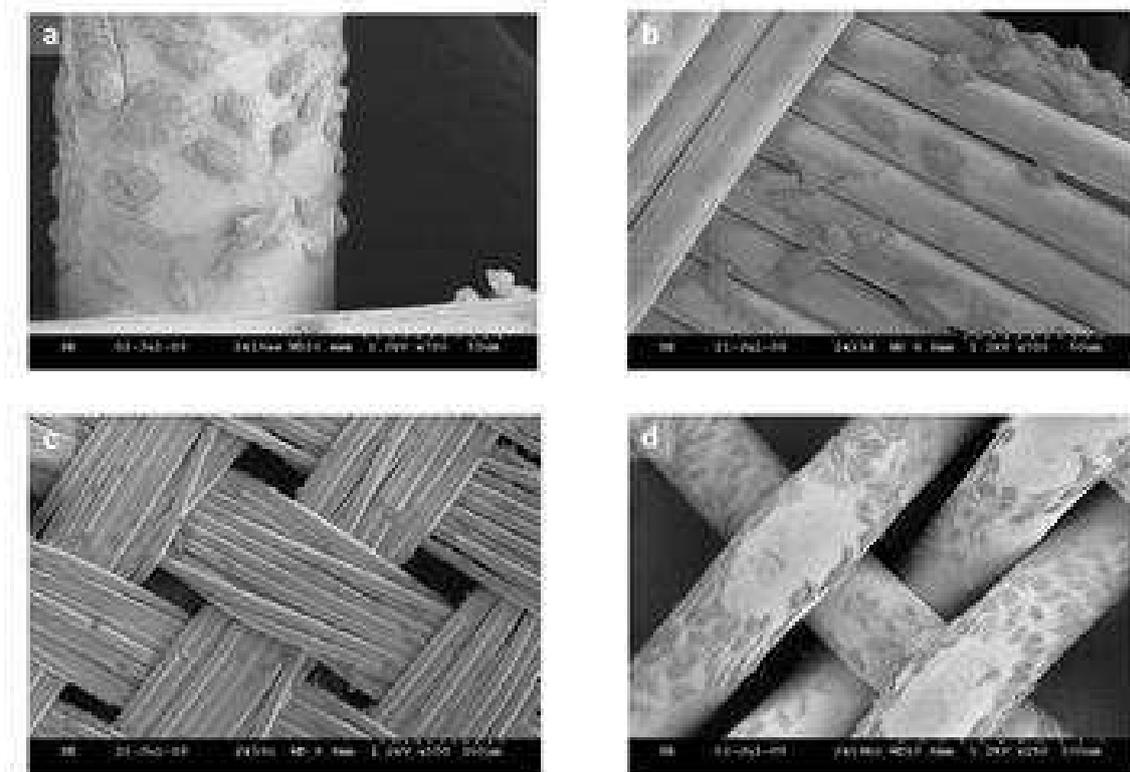


3.4 CONFIGURAÇÃO FÍSICA

3.4.1 Monofilamentos: Este tipo de sutura é composto por um só filamento de fibra. As propriedades apresentadas por tais configurações incluem, força, baixa resistência do tecido e baixa propensão à infecção. A incidência de ocorrer uma infecção é muito menor quando comparadas com suturas do tipo multifilamentadas (trançadas ou retorcidas), porém o manuseio das suturas monofilamentadas é mais complexo. Na figura 22 a) e 22 d) encontram-se exemplos destes filamentos.

3.4.2 Multifilamentos (trançada ou retorcida): Como o próprio nome indica, é composta por uma rede de multifibras, de fácil manipulação, porém o fato da configuração ser multifilamentada há uma maior probabilidade de ocorrer a proliferação de bactérias através dos pequenos vazios criados entre os filamentos trançados. Na figura 22b) e 22c) encontram-se exemplos destes filamentos.

Figura 22- Imagens MEV de Fibras em Monofilamento (a e d) e Multifilamento (b e c) (Edwards, S.L., Werkmeister, J.A., Ramshaw, J.A.M., McLean, K., Jarman-Smith, M.L. Polyetheretherketone Multifilament and Monofilament Woven Tissue Engineering Scaffolds).



3.5 Material utilizado na produção de fios absorvíveis

Os fios absorvíveis geralmente possuem uma faixa de absorção pelo corpo humano na qual perdem propriedades mecânicas ao longo de 60 dias, neste intervalo de tempo as enzimas proteolíticas presente nos tecidos do corpo e as reações de hidrólise são os principais responsáveis pelo fenômeno de absorção. Abaixo são listados os principais materiais utilizados na produção de fios de sutura absorvíveis.

3.5.1 Fio de sutura Catgut: Feita através da torção dos fios de colágeno purificados a partir das camadas da submucosa do intestino delgado de carneiro ou a camada serosa do intestino delgado de bovino, na sua forma simples, ou seja, sem nenhum aditivo o catgut retêm a resistência até 7 dias, sua absorção ocorre entre 10 e 14 dias. A absorção do catgut, quando implantado no tecido, é um processo que envolve dois estágios e fagocitose principalmente pelos macrófagos. As ligações moleculares são quebradas por hidrólise ácida e colagenólise. Em seguida ocorre a digestão e absorção por enzimas proteolíticas seguidas de fagocitose pelos macrófagos. Devido à sua composição, o catgut estimula uma reação tipo corpo estranho significativa no tecido implantado (SLATER, 1998). Por esta razão, este é um fio absorvido rapidamente em áreas infectadas, pois os níveis de digestão enzimática são crescentes. A absorção prematura pode ainda ser observada quando exposto à pepsina ácida do estômago, em tecidos altamente vascularizados e em pacientes com depleção proteica. Em geral a absorção deste fio ocorre depois que já perdeu a sua resistência (95% em 14 dias), levando até 70 dias para ser degradado (SHAUFFERT et al., 2000).

Na sua forma cromada (formada por sais de cromo) o catgut é mais resistente às enzimas do corpo, logo sua resistência à tração pode variar de 14 a 21, a completa absorção do fio de sutura cromado ocorre em 90 dias. O catgut de rápida absorção é tratado termicamente para que sua absorção seja mais rápida (absorvido de 5 a 8 dias, não é indicado para sutura interna) (BEZWADA, *et al.*, 1995).

3.5.2 Fio de sutura poliglactina 910 (Vicryl): Este é um fio de sutura sintético multifilamentar, trançado e bem estirado, absorvido num período de 60 a 80 dias, com boa resistência à tração e de fácil manuseio, além de não favorecer aderências e não desencadear reação inflamatória significativa ao seu redor. Por todas essas qualidades, tem sido considerado um material excelente para qualquer tipo e plano de sutura, podendo ser empregada em suturas mais delicadas ou que requerem maior tempo de permanência (SAITO, *et al*, 2006). Feito a partir de poliglactina 910 revestidas com um copolímero composto de L-lactido/glicolido (Poliglactina 370) e estearato de cálcio. A poliglactina 910 é capaz de manter 65% de sua resistência à tração em duas semanas e em três semanas a resistência à tração cai para 40%. A absorção completa do Vicryl ocorre entre 60 e 90 dias por meio de hidrólise (BEZWADA, *et al.*, 1995). Ferreira *et al.* (2005) realizaram estudo visando comparar os fios de ácido poliglicólico e de poliglactina 910 em ileocistoplastia (técnica cirúrgica em que a bexiga é reconstruída utilizando um segmento de íleo-última porção do intestino delgado, de modo a formar uma nova parede.) em cães. Foi verificado que a relação entre a reação inflamatória e fibrose demonstrou que o processo cicatricial ocorreu em menor período de tempo quando se empregou a poliglactina 910 e que a mesma não desenvolveu reação inflamatória supurativa nem calcificação na linha de sutura, sendo 40% mais eficiente que o ácido poliglicólico. OKAMOTO *et al.* (2003) implantaram a poliglactina 910 em suturas realizadas na pele de ratos e os resultados obtidos demonstram que do 2º ao 5º dia pós - sutura, o tecido conjuntivo tinha infiltrado inflamatório moderado, com discreto número de macrófagos e linfócitos e epitélio recobrimo a ferida cirúrgica com invaginação ao nível da incisão em todos os casos. Os fios analisados apresentaram comportamento biológico satisfatório pelos autores. Em um estudo realizado em ratos utilizando como material de sutura a poliglactina 910, no tecido conjuntivo subcutâneo, avaliou-se a resposta tecidual inflamatória durante cinco, 10 e 20 dias após o implante. Notou-se no 5º dia, nas regiões próximas ao fio, algumas células

multinucleadas ao lado de numerosos macrófagos e em áreas mais afastadas, alguns fibroblastos, capilares, macrófagos e linfócitos (Figura 23). No 10^o dia, observou-se uma discreta absorção do material de sutura em alguns pontos e ainda a presença de células multinucleadas, com a redução do número de macrófagos junto ao fio de sutura (Figura 24). No 20^o dia o fio de sutura apresentou-se em menor quantidade quando comparado aos estágios anteriores, e em contato com o material, apenas alguns macrófagos, linfócitos e fibroblastos (Figura 25) (SAITO et al., 2006).

Figura 23- Lâmina de tecido conjuntivo subcutâneo após cinco dias de implante do fio de poliglactina 910, HE, 40x (SAITO et al., 2006).

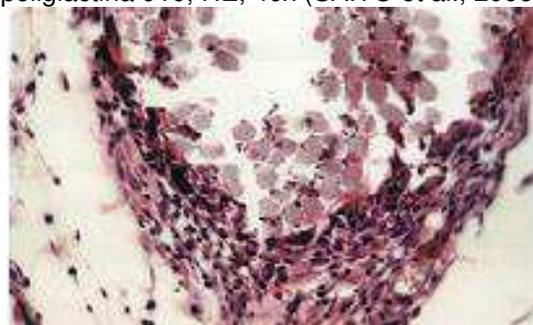


Figura 24- Lâmina de tecido conjuntivo subcutâneo após 10 dias de implante do fio de poliglactina 910, HE, 40x (SAITO et al., 2006).

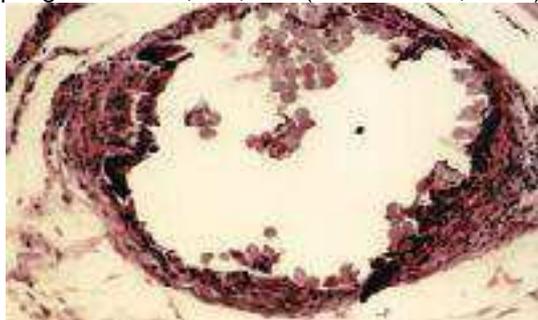


Figura 25- Lâmina de tecido conjuntivo subcutâneo após 20 dias de implante do fio de poliglactina 910, HE, 40x (SAITO et al., 2006).



ROSSI et al. (2008) ao estudarem a resistência tênsil da parede abdominal após síntese de laparotomia (abertura cirúrgica abdominal) utilizando três tipos de fios cirúrgicos em ratos, verificaram que o grupo catgut apresentou resistência ligeiramente menor que o grupo da poliglactina 910. O grupo poliglecaprone foi o que apresentou menor resistência entre os três fios analisados. Eles concluíram que o fio de poliglactina 910 apresentou a maior resistência tênsil dentre os três fios analisados, sendo esta diferença estatisticamente significativa quando comparado ao fio de poliglecaprone.

3.5.3 Fio de sutura Poliglactina 910 (Vicryl rapide): Sutura sintética multifilamentada, derivada da poliglactina 910, sendo esta parcialmente hidrolisada numa solução tampão e esterilizada com radiação gama. Esse processamento acelera a absorção deixando as propriedades mecânicas do fio intactas. Transcorridos cinco dias após aplicação 50% da resistência a tração ainda é mantida. No final de duas semanas a resistência à tração é 0%, sua absorção ocorre por hidrólise no período de 7 a 14 dias (BEZWADA, *et al.*, 1995).

3.5.4 Fio de sutura antibacteriana (revestida com Vicryl Plus): Possuindo um revestimento antimicrobiano, foi a princípio desenvolvido um fio de sutura usando triclosan como revestimento, pois este já era reconhecido por suas propriedades antimicrobianas. Foi notado que os pacientes sentiam menos dor no pós-operatório, devido ao fato de ocorrer certa inibição quanto à proliferação de bactérias (BEZWADA, *et al.*, 1995).

3.5.5 Fio de sutura Poliglicólico (Dexon II): Trata-se de um fio sintético absorvível composto de um monopolímero de ácido glicólico (ácido hidroxiacético) moldado em multifilamentos, com boa resistência, bom manuseio na confecção dos nós e boa fixação. Seu material é considerado inerte, não antigênico e não piogênico. Sua absorção ocorre por hidrólise de forma uniforme e previsível. Sua esterilização industrialmente é feita com óxido de etileno (GOFFI & TOLOSA, 1996). Este fio é capaz de *manter* 89% da força tênsil em 7 dias, 63% em 2 semanas, 17% em 3 semanas. Possuindo uma perda de função mais lenta e menor plasticidade, pois o revestimento lubrificante diminui o coeficiente de atrito. A absorção completa ocorre usualmente em 100 a 120 dias (BEZWADA, *et al.*, 1995). BIMONTE (1997) citou que a velocidade de absorção está diretamente relacionada com a vascularização do tecido onde é aplicado e que a poliglactina 910 é mais resistente à hidrólise que o ácido o poliglicólico. Fontes & Sadi (1995) afirmaram que a forma de absorção determina o grau de reação inflamatória, mas apesar dos fios de poliglactina e ácido poliglicólico sofrerem o mesmo tipo de degradação (hidrólise) a reação ao ácido poliglicólico é mais intensa que a da poliglactina nos tecidos. Sua indicação é para cirurgias gerais de tecidos moles, em específico, cirurgias plásticas, urológicas, cardiovasculares, oftalmológicas, ginecológicas, obstétricas e ortopédicas (OKAMOTO *et al.*, 1994).

3.5.6 Fio de sutura Poliglecaprone (Monocryl): Formado a partir do copolímero de glicolide + ϵ -caprolactone, o poliglecaprone é um fio monofilamentar sintético, à base de blocos segmentados de copolímeros de ϵ -caprolactona e glicolida, que são absorvidos por hidrólise quando em contato com organismos vivos. A sua absorção é completa entre 91 e 119 dias após implantação. Apresenta excelente resistência tênsil, reduzida memória e grande maleabilidade.

Este material apresenta perda da resistência tênsil de 20 % após duas semanas de pós operatório (período considerado crítico na cicatrização e reparação de tecidos). Devido a essas características pode ser aplicado não somente nas suturas internas, mas também em suturas superficiais de mucosa e externas cutâneas (BEZWADA et al.,1995). Autores relataram que em cirurgia geral, este fio mostrou mínimas complicações e resultados estéticos excelentes, com pequena reação tecidual e fácil manuseio (OKAMOTO *et al.*, 2003). O monocryl tingido retém de 30 a 40% da sua resistência a tração em duas semanas, ao passo que o não tingido retém 25% em duas semanas e por fim 0% em 21 dias. Absorção da sutura ocorre por meio de hidrólise em cerca de 90 a 120 dias (BEZWADA, *et al.*, 1995).

3.5.7 Fio de sutura Polidioxanona (PDS): É um fio do tipo monofilamentado sintético feito a partir de poliéster, poli (p-dioxanona). A fórmula empírica molecular do polímero é $C_4H_6O_3$. Polidioxanona é um polímero não alergênico, não piogênico, provocando apenas uma ligeira reação tecidual durante a absorção. As suturas com PDS são indicadas em aproximações de tecidos moles, em cirurgias cardiovasculares, cirurgias oftálmicas (com exceção da córnea e da esclera). Este monofilamento não está indicado para ser usado em tecido neural. É particularmente útil quando se espera a combinação de uma sutura absorvível com resistência prolongada (SLATER, 1998). Duas características importantes descrevem o desempenho *in vivo* de suturas absorvíveis: a resistência à tração e a taxa de absorção (perda de massa). Dados obtidos a partir de implantes em ratos mostraram que PDS é essencialmente absorvido entre 182 e 238 dias pós-implantação. Em suturas conjugadas com implante de próteses (válvulas cardíacas ou enxertos sintéticos) este fio não foi recomendado (BOURNE et al., 1988). É capaz de reter 74% da sua tensão à tração após 2 semanas, 50% após 4 semanas e 25% após 6 semanas. Porém é um pouco duro e de difícil manuseio. Possui uma baixa reatividade sutura que mantém a sua integridade na presença de bactérias. A taxa de absorção deste material é mínima, até 90 dias, sendo lentamente absorvido no corpo por hidrólise de 180 a 210 dias (BEZWADA, *et al.*, 1995).

3.5.8 Fio de sutura carbonato de trimetileno-poliglicólico (Maxon): é um fio de sutura monofilamentado, formado pelo copolímero de ácido glicólico e de carbonato de trimetileno. Quando comparado ao PDS o Maxon é um pouco mais difícil de manusear a resistência à tração foi mensurável durante 42 a 92 dias para Maxon, sua absorção é completa entre 6 e 7 meses (BEZWADA, *et al.*, 1995).

O uso de quitina, como material de sutura foi sugerido por BALASSA (1977), ele observou a capacidade da quitina promover a cicatrização de feridas. Estudos realizados em suturas feitas à base de quitina confirmaram que esta mantém os tecidos unidos até que a ferida esteja completamente curada.

Apesar das aparentes vantagens deste polissacarídeo, ainda não existe uma produção comercial de material de sutura absorvível à base de quitina, principalmente por causa de certos problemas no processo de produção relacionados à solubilização da quitina. (MIKHAILOV, G. M.; LEBEDEVA, M. F., 2007).

3.6 CRITÉRIOS DE SOLUBILIDADE DA QUITINA

Em 1975, Austin sugeriu a utilização de solventes orgânicos contendo ácidos na dissolução da quitina. Tal sistema mencionado era formado por cloro etanol e ácido sulfúrico. A precipitação de quitina na forma fibrilar era feita em água, metanol, ou hidróxido de amônio aquoso, porém não foram apresentados dados de resistência a tração das fibras.

No caso da quitina a dissolução pode ser feita através de fortes solventes polares, tais como o ácido tricloroacético (TCA - *trichloroacetic acid*), ácido dicloroacético (DCA - *dichloroacetic acid*), em 1975 Brine e Austin utilizaram o TCA como solvente da quitina, sendo uma mistura contendo 40% de TCA, 40% de hidrato cloral (CH - *chloral hydrate*) e 20% de diclorometano (MC - *dichloromethane*).

A partir de então, patentes contendo as seguintes misturas: água + DCA, TCA + MC ou TCA + CH + MC, têm sido relatadas como um sistema de dissolução. Entretanto TCA e DCA são bastante corrosivos e, portanto degradam o polímero reduzindo o peso molecular em níveis os quais a resistência das fibras são afetadas. Além disso, os solventes do tipo cloro-hidrocarbonetos estão se tornando inaceitáveis do ponto de vista ambiental (ATKINS, *et al.*, 1985).

Em 1976 foi marcado como o ano em que foram feitos avanços concretos no que diz respeito a sistemas de dissolução de quitina, Austin e Rutherford

descobriram o sistema amida cloreto de lítio terciário iria produzir ao menos 5% de soluções de quitina. O LiCl coordenado com o grupo acetyl carbonila forma um complexo com a quitina que é solúvel em dimetilacetamida (DMAc) e em N-metil-2-pirrolidona (NMP), vale ressaltar que os mesmos solventes, a mistura LiCl/DMAc são também solventes da celulose. Os solventes mais frequentes utilizados para fazer uma solução de cloreto de lítio a 5-7% (w/v), são DMAc, N,N-dimetilpropionamida, NMP e 1,3-dimetil-2-imidazolidinona.

O mecanismo de dissolução no caso do DMAc / LiCl é descrito quando o íon Li^+ é associado ao oxigênio da carbonila do DMAc; este complexo fraco solvatado 'polieletrólito' formado pela associação entre os íons Cl^- e grupos de prótons lábeis ($-\text{OH}$ e $-\text{NHCOCH}_3$) da cadeia de quitina, interrompendo a extensa teia de ligações de hidrogênio na estrutura cristalina da folha de quitina. Outros mecanismos também foram propostos, mas a estrutura exata do complexo envolvido ainda não é bem conhecida. (Morgenstern, Kammer, 1996; Paner, Beste, 1976).

Como ocorre em soluções de celulose + DMAc / LiCl, a dissolução da quitina provavelmente conduz a uma solução cineticamente estável em vez de soluções termodinamicamente estáveis. Estas soluções são susceptíveis a apresentar um comportamento de envelhecimento, transformando-os em sistemas separados de fase. A concentração do LiCl em DMAc obviamente domina o poder de extração do solvente. A solubilidade da quitina é dependente do peso molecular e aumenta com a diminuição do comprimento da cadeia. Cada uma das espécies moleculares é dissolvida, quando o seu limite de dissolução intrínseca é alcançado mediante a adição de uma mistura de DMAc / LiCl com poder de extração suficiente. Um peso dependente do fenômeno de adsorção molecular preferencial dos componentes de solventes nas cadeias de quitina, possivelmente, ocorre no atual sistema. Provavelmente, exerce um efeito sobre a solubilidade limite intrínseco de um determinado comprimento de cadeia. (POIRIER *et al.*, 2002).

Austin foi o responsável por introduzir os parâmetros de solubilidade para diversos solventes em quitina, a descoberta de sistemas de dissolução de quitina não degradantes possibilitou a fiação de fios, obtidos a partir das fibras

de quitina para utilização como fios de sutura. (AUSTIN, *et al.*, 1981; AUSTIN, *et al* 1988).

Enquanto a quitina é insolúvel na maioria dos solventes orgânicos a quitosana é solúvel em soluções ácidas num valor de pH abaixo de 6.0. Isso ocorre devido ao fato da quitosana ser considerada uma base forte, uma vez que possui grupos aminos primários com valor de $pK_a = 6.3$. A presença de grupos aminos indica que o pH vai substancialmente alterar o estado carregado assim como irá alterar as propriedades da quitosana. Em baixos valores de pH esses grupos amina tornam-se protonados, passando a serem positivamente carregados, tornando a quitosana um polieletrólito catiônico solúvel em água. Por outro lado, à medida que o pH aumenta para valores acima de 6, as aminas da CS ficam desprotonadas, logo o polímero perde a sua carga, tornando-se insolúvel. A transição solúvel/insolúvel ocorre no seu valor de pK_a em torno de pH entre 6 e 6,5. Enquanto que o valor de pK_a é altamente dependente do grau de *N*-acetilação, a solubilidade de quitosana é dependente do grau de desacetilação e do método de desacetilação utilizado. A quitosana forma facilmente sais de nitrogênio quaternários a baixos valores de pH. Logo, ácidos orgânicos como: ácido acético, fórmico, láctico pode dissolver a quitosana. O solvente comumente utilizado é o ácido acético a 1% com um valor de $pH = 4.0$. A quitosana também é solúvel em ácido clorídrico a 1% e ácido nítrico diluído, mas insolúvel nos ácidos sulfúrico e fosfórico. É sabido que a quantidade de ácido necessária depende da quantidade de quitosana a ser dissolvida, a concentração de prótons necessária deve ser no mínimo igual à concentração de unidades de $-NH_2$ envolvidas (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009). No processo de obtenção da quitosana, onde tratamentos anteriores que foram feitos durante o isolamento da quitina, relação da quitina com a solução alcalina, o tamanho de partícula, a: temperatura, tempo de desacetilação, a concentração de álcali, podem influenciar a solubilidade da quitosana. As propriedades de dissolução da quitosana dependem não apenas do grau de acetilação, mas também da distribuição dos grupos acetila e do peso molecular, sendo o primeiro considerado último um parâmetro importante, pois controla significativamente a solubilidade e outras propriedades. Ambos, grau de desacetilação e peso

molecular são responsáveis por afetar as propriedades das fibras de quitosana (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

3.7 FORMAÇÃO DE FIBRA DE QUITINA

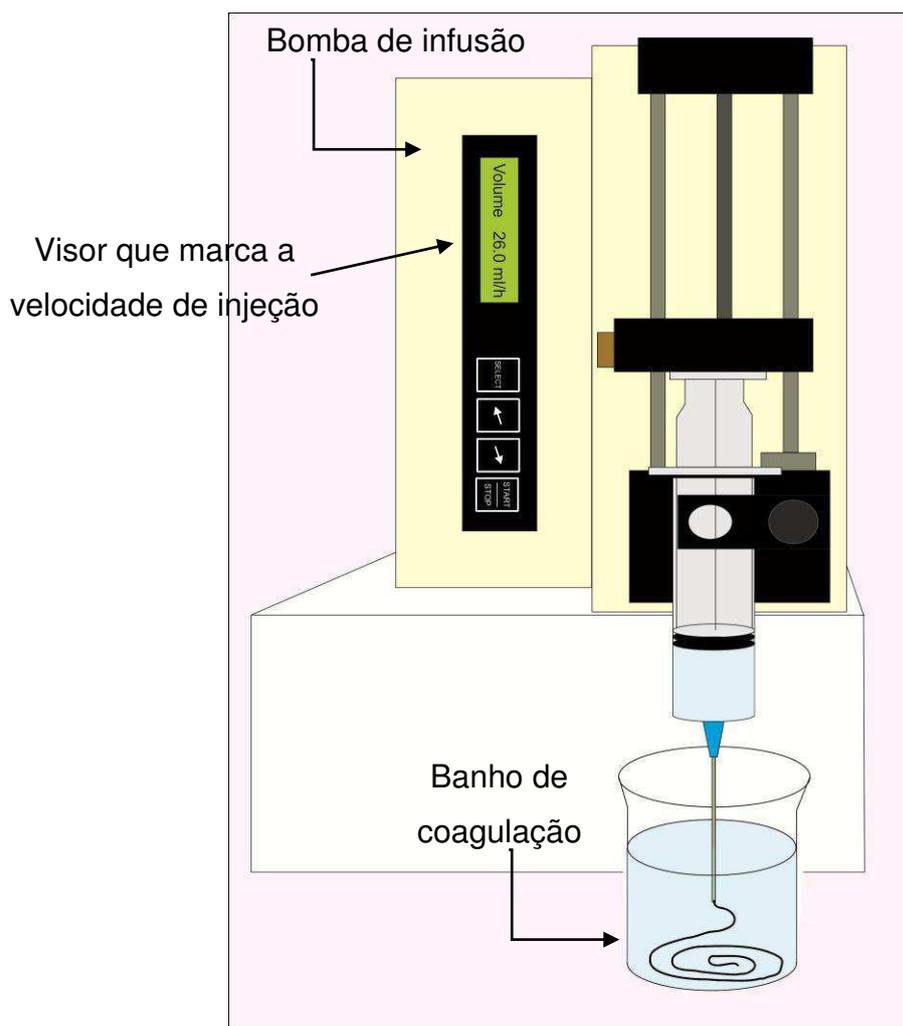
As primeiras tentativas para preparar soluções de quitina para fabricar fibras a partir destas foram feitas no início do século XX. Em 1926, Kunike relatou os primeiros estudos de fibras de quitina. Ele dissolveu quitina em ácido sulfúrico concentrado a frio e obteve soluções com concentrações de 6-10%.

Em termos tecnológicos existem diversos métodos de formação de fibra a partir de polímeros. Um dos métodos mais utilizados é o *melt spinning*, em que o polímero é fundido, extrudido em forma de fibra, e arrefecido (CALLISTER, 2000). No entanto, no caso dos polissacarídeos quitina e da quitosana, tal não é possível, pois estes não apresentam temperatura de fusão, sendo necessário recorrer à fiação úmida. A única forma de transformar a quitina e a quitosana em fibras é aproveitar as suas características particulares de solubilidade e insolubilidade. Assim, para a formação de fibra de quitina são necessários dois componentes:

- A solução de quitina, dissolvida num solvente apropriado;
- Uma solução coagulante ou não solvente, que induz a precipitação da quitina.

O princípio subjacente a esta metodologia é que a solução de quitina extrudida através da ponta de uma seringa, ganha essa forma física quando em contato com a solução coagulante, pois passa do estado líquido (dissolvido) para o estado sólido (coagulado). Na figura 27 apresenta-se um diagrama esquemático do processo e fiação úmida.

Figura 26- Diagrama esquemático do processo de fiação úmida realizado no Certbio.



Fonte: Autoria própria

Presentemente existem diversos artigos e patentes publicados acerca de fibras quitina. No entanto, este biopolímero não é tão utilizado quanto a quitosana, principalmente devido às suas características de solubilidade (KHOR, 2001). No trabalho de Pillai e colaboradores são apresentadas 33 tentativas de formação de fibra de quitina, apresentando diversos sistemas de solubilização da quitina. Dos estudos apresentados, aqueles que utilizam bases e ácidos para a solubilização apresentam fibras com propriedades mecânicas inferiores aquelas que utilizam sistemas com solventes orgânicos como o DMAC/LiCl (MIKHAILOV *et al.*, 2001) e o Cloreto de Cálcio-Metanol (TAMURA *et al.*, 2006). Os motivos para tal estão relacionados com a quebra de peso molecular da quitina quando se utilizam ácidos ou bases fortes como o ácido tricloroacetato ou o hidróxido de sódio. Por essa mesma razão esses sistemas apresentam menores valores de viscosidade, o que permite a fiação de concentrações

maiores, ao passo que com os sistemas orgânicos apresentados a viscosidade é alta, fruto da não despolimerização da quitina. Assim, menores valores de concentração de quitina terão forçosamente que ser usados para se conseguir fiar uma fibra contínua (PILLAI *et al.*, 2009).

Outro problema que se espera encontrar com a utilização do solvente DMAc/LiCl, relaciona-se com a remoção do LiCl da coordenação do complexo quitina-LiCl solúvel em DMAc. O mesmo trabalho de Pillai *et al.* (2009), apresentou várias hipóteses para os banhos de coagulação e lavagem, que envolvem, desde a utilização e combinação de acetato de etilo, éter isopropílico, acetona e água fria.

Alternativamente, outros autores reportam a utilização de derivados de quitina como o dibutilil-quitina, o succinil-quitina, o tosil-quitina e ainda a quitina solúvel em água (50% de grau de desacetilação). Apesar de estar reportado que este último apresenta valores de tensão à ruptura baixos, as principais vantagens reportadas na modificação química relacionam-se com a facilidade de dissolução dos derivados (BLASIN'SKA *et al.*, 2005; LUCCA *et al.*, 1991; HIRANO *et al.*, 1999).

Em termos da melhoria das propriedades mecânicas, existem relatos da utilização dos aditivos poliméricos ou não como a celulose, fibra de seda, poli(caprolactona) alginato ou glicerol, que servem como adjuvantes para a formação da fibra e ainda como plastificantes (MIKHAILOV *et al.*, 2005; YANG *et al.*, 2001; HIRANO *et al.*, 1999). Segundo Pillai *et al.* (2009), a exocutícula (camada mais exterior da casca do camarão) é caracterizada por ser uma matriz quitina/proteína, composta por uma estrutura muito fina e fibrosa de rigidez elevada (8,5 -9,5 GPa). A matriz é organizada estruturalmente por microfibrilas paralelas, isto traz a possibilidade de melhorar as propriedades mecânicas das fibras de quitina.

A possibilidade de a quitina formar soluções liotrópicas líquida cristalinas em diversos solventes, permitiu ainda o estudo da formação de fibras a partir destas soluções. A vantagem seria a anisotropia, ou seja, a orientação preferencial das cadeias poliméricas, num determinado eixo, ao invés da

isotropia habitual. Foi reportado por Chen *et al.* (2004), que soluções de quitina com concentração de 2% (p/v) em DMAC/LiCl 5% (p/v) formariam este tipo de soluções uma vez que estudos reológicos indicam uma diminuição da viscosidade de soluções de 1% para 2% (p/v) (CHEN *et al.*, 2004). Em soluções isotrópicas poliméricas, verifica-se sempre um aumento da viscosidade com o aumento da concentração polimérica, ao passo que com soluções anisotrópicas, tal não sucede devido à organização macromolecular facilitar o escoamento.

3.8 MATERIAIS E MÉTODOS

3.8.1 Materiais

- **Matéria-prima:** Para esta etapa foi utilizada, a quitina extraída a partir de exoesqueletos de camarão *Litopenaeus vannamei*, através das etapas de desmineralização e desproteínização já descritos.
- **Reagentes:** Os reagentes que utilizados para a formação das fibras foram:
 - N,N – Dimetilacetamida P.A
 - Cloreto de lítio, P.A., LiCl_2
 - Cloreto de Cálcio, CaCl_2
 - Etanol 30%, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
 - Acetona, 70%, $\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$
 - Água Destilada, H_2O
 - Etanol 50%, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
 - Hexano P.A

3.8.2 Metodologia de Solubilização

A primeira tentativa de solubilizar a quitina foi com um solução de DMAC/LiCl 5% (p/v) tendo ficado sob agitação magnética a temperatura

ambiente durante 48h, baseando-se na metodologia proposta Terbojevich *et al.* (1988). Uma vez que não foi possível dissolver a temperatura ambiente, experimentou-se aumentar a temperatura para cerca de 30°C, com o intuito de aumentar a energia de solvatação do solvente. No entanto, esta revelou-se ineficaz tendo-se então utilizado uma temperatura de 120°C com refluxo. Não se obteve mais do que uma dispersão de partículas de quitina. Considerou-se que a quitina estaria ainda pouco purificada para este tipo de solubilização, como indicado por Poirer e Charlet (2002), então se decidiu estender a desproteínização para mais duas etapas de 3h.

Tentou-se novamente dissolver a quitina purificada com as metodologias anteriores, sem que o resultado tivesse sido diferente. Uma vez que alguns trabalhos reportavam a utilização de ciclos de congelamento/descongelamento para a dissolução com o sistema NaOH/urea, experimentou-se a utilização deste método (Chang *et al.*, 2011; Bo Duan, *et al.*, 2013). Então a dispersão de quitina em DMAc/LiCl (5%) foi colocada à temperatura de -80°C até congelar, tendo sido retirada e descongelada com agitação magnética. Ao fim de três ciclos, as partículas de quitina ficaram totalmente dissolvidas, tendo-se obtido um líquido de elevada viscosidade. Apesar de se ter obtido uma solução dissolvida, a viscosidade da solução dificultava o processo de fiação, evidenciando que o tamanho das moléculas ainda era grande para o calibre da agulha utilizado.

Foi quando uma nova amostra de quitina foi preparada, submetida aos processos de pré-tratamento e desmineralização já feitos anteriormente, diferindo somente o processo de desproteínização que nesse momento foi feito sob-refluxo. Acredita-se que durante o processo de desproteínização sem refluxo a água evaporou, tornando a quantidade de NaOH mais concentrada, conseqüentemente, levando a uma desacetilação parcial da quitina e diminuindo sua solubilidade no sistema DMAc/LiCl₂, pois o complexo DMAc + LiCl₂ se liga ao grupo acetamida da quitina. No caso da utilização do refluxo tornou-se a concentração de NaOH constante, evitando essa desacetilação.

3.8.3 Formação da Fibra de Quitina

3.8.3.1 Preparação das Soluções de Quitina

Diferentes soluções de quitina foram preparadas, conforme a Tabela 4. O procedimento de preparação das soluções de quitina foi o seguinte:

- Pesou-se 12,5 g de Cloreto de Lítio;
- Adicionou-se a quantidade pesada de Cloreto de Lítio a um balão volumétrico de 250mL;
- Prefez-se o volume com Dimetil-Acetamida;
- Pesou-se uma determinada quantidade de quitina, de acordo com a concentração peso volume desejada, no caso da pesquisa as concentrações de quitina dissolvidas no solvente DMAc/LiCl₂ 5% (p/v) foram de 0,5%, 0,85% e 1%;
- Adicionou-se a solução DMAc/LiCl₂ 5% (p/v) à quitina pesada na relação peso volume desejada;
- Colocou-se a dispersão sob agitação mecânica até dissolução completa;

- Figura 27- Agitação mecânica: processo de dissolução



Tabela 4- Descrição das amostras, tipo de solvente e coagulante utilizado.

Amostra	Concentração de Quitina %(p/v)	Solvente % (p/v)	Coagulantes
A	0,5 %		CaCl ₂ , CH ₃ CH ₂ OH (30%),
B	0,85%	DMAC/LiCl 5%	CH ₃ (CO)CH ₃ (70%), Água destilada(100%)
C	1,0%		

3.8.3.2 Condições de preparação das fibras

As fibras foram preparadas no laboratório de processamento do Certbio, à temperatura e umidade numa faixa de 20°C - 22°C, 61% - 70%, respectivamente, sob a velocidade de extrusão de 26 ml/h.

3.8.3.3 Banho de Coagulação

Para a obtenção das fibras (fios), foram utilizados os seguintes banhos de coagulação: 2% cloreto de cálcio aq.(CaCl₂), 30% etanol (CH₃CH₂OH), 70% acetona (CH₃(CO)CH₃), 100% água destilada.

3.8.3.4 Banho de Lavagem

Os banhos posteriores ao banho de coagulação foram divididos em duas etapas de três horas (3h) cada. A primeira etapa foi constituída de um banho de lavagem com uma solução de 50% etanol e 50% água destilada e a segunda etapa constituída de 100% água destilada.

3.8.3.5 Banho de desidratação

O banho de desidratação foi constituído por uma solução de 100% Hexano.

3.8.3.6 Secagem

Após os banhos de desidratação, as fibras foram colocadas para secar a temperatura ambiente.

3.8.4 Caracterização

Os ensaios de caracterização foram realizados no laboratório CERTBIO, localizado da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

- **Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier- FTIR**

As fibras de quitina foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho, o qual forneceu informações sobre vibrações moleculares presentes no material. A transformada de Fourier da espectroscopia no infravermelho oferece uma alta razão entre sinal e ruído e alta acurácia espectral (RATNER *et al.*, 2004). Logo as ligações químicas das substâncias e as massas dos átomos envolvidos nessas ligações possuem frequência de vibração específica. (ALBUQUERQUE, 2008). É um método analítico padrão, frequentemente usado para caracterizar a estrutura de polímeros.

A caracterização por FTIR foi realizada em um espectrômetro modelo Spectrum 400 FT Mid-IR PerkinElmer com varredura de 4000 a 400 cm^{-1} para a quitina e 4000-650 cm^{-1} para as fibras, devido à utilização do dispositivo ATR (attenuated total reflection).

- **Microscopia eletrônica de varredura**

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000 X) e resolução. A microscopia eletrônica fornece informação morfológica e topográfica sobre superfícies de sólidos, necessária para se entender o comportamento de superfícies.

As fibras foram caracterizadas morfologicamente por microscopia eletrônica de varredura utilizando um microscópio eletrônico de bancada, modelo TM-1000, HITACHI.

- **Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)**

O EDX é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais, no qual os elementos químicos presentes numa amostra podem ser identificados através do espectro de raios-X emitido pela amostra. Um detector instalado na câmara de vácuo do MEV mede a energia associada a esse elétron. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível, no ponto de incidência do feixe, determinar quais elementos químicos estão presentes naquela amostra. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição atômica em amostras de tamanhos muito reduzidos (<5 µm), permitindo uma análise quase que pontual. O detector está acoplado ao MEV TM-1000, HITACHI, Laboratório de Desenvolvimento e Avaliação de Biomateriais – CERTBIO

- **Intumescimento**

O ensaio de avaliação do Grau de Intumescimento é realizado com o objetivo de investigar o comportamento do material durante a imersão e permanência em soluções aquosas de concentração iônica similar à do plasma sanguíneo.

Para realização deste ensaio os fios/fibras foram imersos em PBS (pH 7.4). As amostras foram cortadas, pesadas e inseridas na referida solução, utilizadas em triplicata. Após o período pré-determinado, os fios/fibras foram retirados, a água adsorvida na superfície foi removida através de papel de filtro e o peso úmido registrado.

O grau de intumescimento é determinado pela equação:

$$I\% = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde: **I%** é o grau de intumescimento em porcentagem, **m_f** é a massa final em gramas e **m_i** é a massa inicial em gramas (RODAS, 2004).

- **Medição do diâmetro das fibras (Fios)**

Após estarem totalmente secos, seus diâmetros foram medidos com um micrometro digital (*Mitutoyo, 0-25mm, 0.001mm*), com o cuidado de não esmagar a fibra. Para se obter um valor com significado estatístico, foram medidas 6 amostras de cada coagulante, somando um total de 24 amostras.

- **Ensaio mecânico de Tração**

Para a realização dos ensaios mecânicos de tração foi utilizada uma máquina de testes universais, INSTRON Modelo 6633, com célula de carga de 500N, e a uma velocidade de 120 mm/min. Os fios de sutura apresentavam comprimentos iniciais de 10 cm (valores adaptados a partir da norma ABNTNBR 13904:2003), e determinou-se, a tensão máxima de tração, a percentagem de estiramento máximo, e o módulo de Young de cada fio.

- **Avaliação da viabilidade Celular de Macrófagos**

A análise de citotoxicidade das fibras é importante para a futura aplicação destes materiais em cultura de células, ou até mesmo, dentro do organismo.

O teste de citotoxicidade *in vitro* deve ser um dos ensaios iniciais para avaliar a biocompatibilidade de qualquer biomaterial. Algumas vantagens do teste de citotoxicidade incluem a rapidez, a sensibilidade (capacidade de distinguir entre materiais tóxicos e não tóxicos) e o baixo custo (TANGERINO, 2006).

O ensaio de citotoxicidade dos fios de quitina foi realizado pelo teste de avaliação da viabilidade celular de MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio] de acordo com a ISO 10993. Para este ensaio foi utilizado o método de contato direto entre o material e as células, utilizando-se a linhagem celular L929.

Após tripsinização das células em cultura e do ajuste da concentração da suspensão celular para 1×10^5 células/mL, procederam-se a distribuição desta suspensão celular numa microplacaplaca de 96 poços,

preenchendo-se 12 poços para cada uma das amostras e 12 poços para o controle negativo (100 µL de suspensão celular por poço). Esta placa foi então incubada durante 24h (5% CO₂, 37°C) para se formar uma monocamada celular aderente e semi-confluenta.

Após este período, o meio de cultura foi aspirado, e 200 µL de RPMI 1640-C foram adicionados a cada poço. As amostras foram então colocadas nos respectivos poços e a microplaca foi incubada por 24h adicionais (5% CO₂, 37°C). 24h depois, o meio de cultura foi aspirado, e adicionados 100 µL de uma solução de MTT a cada um dos poços, incubando-se a microplacaplaca durante um período de 3h. Depois desse período, a solução de MTT foi descartada, e adicionados 100 µL de Isopropanol a cada poço, medindo-se de imediato a densidade ótica num espectrofotômetro a 540 nm com filtro de referência de 620 nm.

- **Biodegradação in Vitro**

O ensaio de Biodegradação enzimática foi realizado para verificar as taxas de degradação, em solução tampão e na presença de enzimas lisozima, dos fios sintetizados durante 7 dias.

O ensaio foi realizado em triplicata para ambas as variações. As amostras foram divididas em dois grupos: no primeiro grupo as fibras foram imersas em solução de lisozima/*Phosphate Buffered Saline* – PBS com concentração de 0,001g/L, e no segundo grupo foi utilizada apenas a solução de PBS, para controle.(FREIER *et al.*, 2005).

Para a metodologia empregada neste ensaio foi utilizado como base as normas ASTM F1635-04 Standard Test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants (2010) e a 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).

3.9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.9.1 Estudos Preliminares

3.9.1.1 Quitina em diferentes concentrações

Foram preparadas soluções de quitina nas concentrações de 0,5%, 0,85% e 1% na relação peso/volume. Os resultados das soluções obtidas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5- Resultado das soluções de quitina com diferentes concentrações.

Concentração	Resultado
0,5%	Viscosidade ideal para fiação, solução homogênea e bem dissolvida, sob agitação mecânica por 24h.
0,85%	Solução mais viscosa, homogênea sob agitação mecânica de pelo menos 36h, fiação viável.
1,0%	Solução muito viscosa necessita de uma agitação mecânica no intervalo de tempo mínimo 48h, maior dificuldade para fiação, porém ainda viável.

Analisando os dados da Tabela 5, podemos observar que as soluções de quitina a 1% tornam-se bastante viscosas. Esta particularidade leva ao aparecimento de bolhas depois da agitação, porém todas as soluções após agitação foram colocadas em repouso por pelo menos 2h, diminuindo o número de bolhas causadas pela agitação. Percebeu-se que a solução de 1% necessitava de um período maior de repouso, de no mínimo 12h, tornando-a assim uma solução mais difícil, quando submetida ao processo de fiação. A presença de bolhas e uma viscosidade mais elevada das soluções podem produzir defeitos e descontinuidade nas fibras, isto pôde ser observado na microscopia eletrônica de varredura.

Devemos salientar que esta avaliação foi realizada para todas as concentrações estudadas. A partir destes dados pode-se concluir que existe uma concentração ideal de 0,5% de quitina para fiação úmida, que permite obter fibras estruturalmente sólidas e resistentes o suficiente para os testes posteriores.

3.9.1.2 Avaliação dimensional

Foram calculados os diâmetros das fibras tanto para a solução de quitina a 0,5%, 0,85% e 1,0%, quanto para todos os coagulantes estudados. As análises dimensionais foram realizadas com grupos de 6 amostras. Os valores médios obtidos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6- Diâmetro das fibras de quitosana.

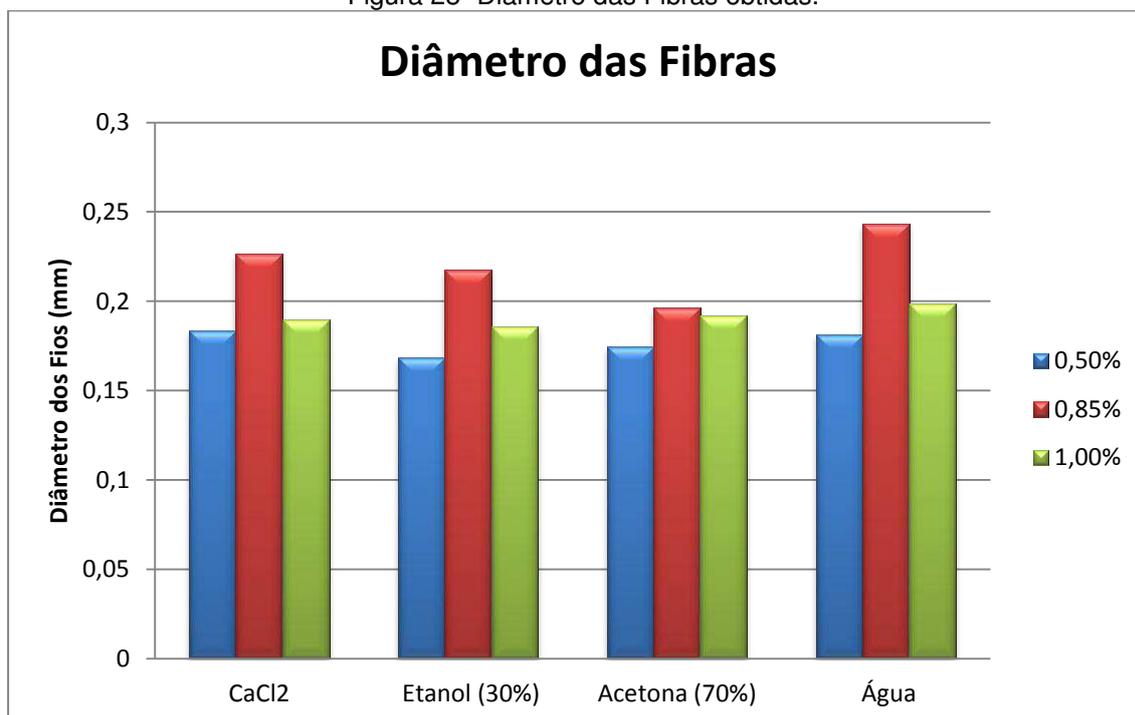
Concentração da Fibra	Coagulante	Diâmetro Médio (mm)	Desvio Padrão
0,5%	CaCl ₂	0,183	0,0109
0,5%	Etanol (30%)	0,168	0,0009
0,5%	Acetona (70%)	0,174	0,0243
0,5%	Água	0,181	0,0056
0,85%	CaCl ₂	0,226	0,00649
0,85%	Etanol (30%)	0,217	0,00623
0,85%	Acetona (70%)	0,196	0,0072
0,85%	Água	0,243	0,0212
1,0%	CaCl ₂	0,189	0,0162
1,0%	Etanol (30%)	0,186	0,0066
1,0%	Acetona (70%)	0,192	0,0096
1,0%	Água	0,198	0,0111

Analisando os resultados apresentados na Tabela 6, verifica-se que existem diferenças dimensionais entre os diferentes coagulantes utilizados. Assim, as fibras produzidas com acetona (70%) e etanol (30%) como banho de coagulação, possuem os menores diâmetros, ao passo que as produzidas com água e CaCl₂ possuem o diâmetro mais elevado. A condição alcalina no banho de coagulação, ou seja, o aumento do pH acelera a neutralização das fibras que quitina, aumentando a velocidade de formação de uma microestrutura cristalina reduzindo o diâmetro das fibras durante o processo de extrusão. Pressupõem-se então, que o diâmetro da fibra é tanto menor quanto mais rápido for a re-cristalização da quitina. Verifica-se, ainda, que o diâmetro aumenta com o aumento da concentração, tal fato seria de esperar, uma vez que num mesmo volume de solução se encontram um maior número de cadeias poliméricas ocupando o mesmo espaço, no entanto tal não acontece para as soluções de 1%. Provavelmente devido

à dificuldade de fiação destas fibras, as quais não apresentaram soluções com uma viscosidade e homogeneidade satisfatória.

Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura, segundo Lee et al. (2011), a técnica de wet spinning já é capaz de produzir fibras com uma vasta gama de diâmetros de um ~ 30 e 600 microns, e a ação do coagulante é, portanto, altamente dependente das propriedades de solventes e soluções, bem como o polímero utilizado. (KUMAR, 2010).

Figura 28- Diâmetro das Fibras obtidas.



A partir da análise dimensional é possível classificar as fibras de acordo com a ABNT NBR 13904. As quais são classificadas de acordo com a Tabela 7.

Tabela 7- Relação entre número cirúrgico e diâmetro médio obtido.

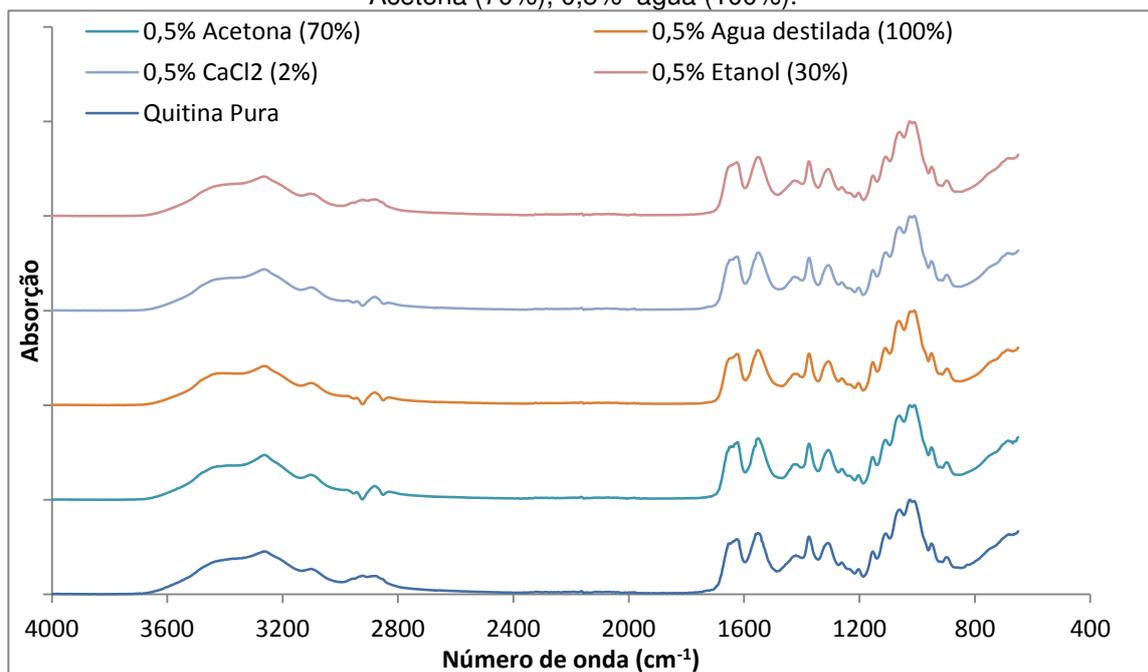
Tipo da Fibra	Diâmetro Médio (mm)	Número Cirúrgico de acordo com ABNT NBR 13904
0,5% CaCl ₂	0,183	5 – 0
0,5% Etanol (30%)	0,168	5 – 0
0,5% Acetona (70%)	0,174	5 – 0
0,5% Água	0,181	5 – 0
0,85% CaCl ₂	0,226	4 – 0
0,85% Etanol (30%)	0,217	4 – 0
0,85% Acetona 70%)	0,196	5 – 0
0,85% Água	0,243	4 – 0
1% CaCl ₂	0,189	5 – 0
1% Etanol (30%)	0,186	5 – 0
1% Acetona (70%)	0,192	5 – 0
1% Água	0,198	5 – 0

Analisando os dados obtidos na Tabela 7, pode-se observar que os fios se enquadram de acordo com a ABNT NBR 13904, como fio cirúrgico 5 – 0 e 4 – 0.

3.9.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O estudo químico das fibras produzidas foi feito utilizando a técnica de FTIR. A Figura 29 apresenta o espectro vibracional das fibras de 0,5% de quitina pura e quitina nos quatro coagulantes (Acetona (70%), CaCl₂ (2%), água (100%), Etanol (30%)).

Figura 29- Espectros vibracionais das fibras: 0,5% CaCl₂ (2%), 0,5% Etanol (30%), 0,5% Acetona (70%), 0,5% água (100%).



Analisando o espectro da Figura 29, pode-se perceber que não há diferenças entre os espectros da quitina pura quando comparados com as fibras submetidas aos banhos de coagulação. Isso indica que foi possível produzir fibras de quitina com elevado grau de pureza, fator importante do ponto de vista da utilização deste como um biomaterial.

Na região de 3500 cm^{-1} , pode se observar um ombro visualizado apenas na quitina, atribuído ao grupo hidroxila. Os grupos O-H ligados ao carbono da posição 6 do anel de glicopirranose e o grupo C=O das acetamidas indicam a estrutura mais ordenada da quitina, gerando maior empacotamento. As bandas em torno de 3260 cm^{-1} e 3100 cm^{-1} um pequeno ombro devido à banda de deformação axial N-H da acetamida em ligações intermoleculares de hidrogênio.

Na região de C-H, correspondente ao intervalo $3000\text{ cm}^{-1} - 2800\text{ cm}^{-1}$, o espectro de quitina apresenta bandas intensas, principalmente as amostras submetidas aos banhos de coagulação: CaCl₂ (2%), água destilada (100%), acetona (70%) e em maior número devido ao elevado teor de acetamidas. No intervalo $1800\text{ cm}^{-1} - 1500\text{ cm}^{-1}$ são observados as bandas denominadas de amida I e de amida II, no espectro de quitina, podem ser observados dois sinais de intensidades semelhantes, próximos

de 1660 cm^{-1} e de 1625 cm^{-1} , correspondentes à banda de amida I. Importa ainda referir a ausência dos picos a 1540 cm^{-1} , em todas as amostras produzidas que comprova a ausência de absorção por proteínas (Gaill et al.,1997).

3.9.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada com o objetivo de se estudar a estrutura morfológica das fibras produzidas nas diferentes concentrações, bem como nos diferentes tipos de coagulantes. As imagens de MEV demonstram que a morfologia e o diâmetro das fibras foram afetados diretamente pelo banho de coagulação e o aumento da concentração de quitina.

As figuras 30, 31, 32 e 33, respectivamente ilustram as micrografias obtidas para a concentração de 0,5% de quitina nos quatro diferentes coagulantes: Acetona (70%), água destilada (100%), CaCl_2 (2%) e etanol (30%), respectivamente. De acordo com as micrografias obtidas verifica-se a presença de uma estrutura de fibras com direção orientada, de diâmetro uniforme, é possível comprovar através do MEV o que foi observado na análise dimensional das fibras que o aumento do pH no banho de coagulação, (pH água: 6,0 , pH CaCl_2 : 6,32, pH etanol:7,68, pH acetona: 6,83) ,levou a uma neutralização mais rápida das fibras de quitina, conseqüentemente ocorre um fenômeno conhecido como encolhimento ou “shrink” no diâmetro da fibra.

Segundo Deshmukh e Li (2008) a composição do banho de coagulação, temperatura e pH são parâmetros importantes que influenciam diretamente na morfologia e performance do biomaterial.

Pode-se observar certa descontinuidade devido ao método de processamento em laboratório, como por exemplo, na fibra de 0,5% submetida ao banho de coagulação de acetona (70%). Uma superfície mais lisa é observada nas fibras submetidas aos banhos de coagulação de água (100%) > CaCl_2 > etanol (30%), respectivamente.

Figura 30- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% acetona (70%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

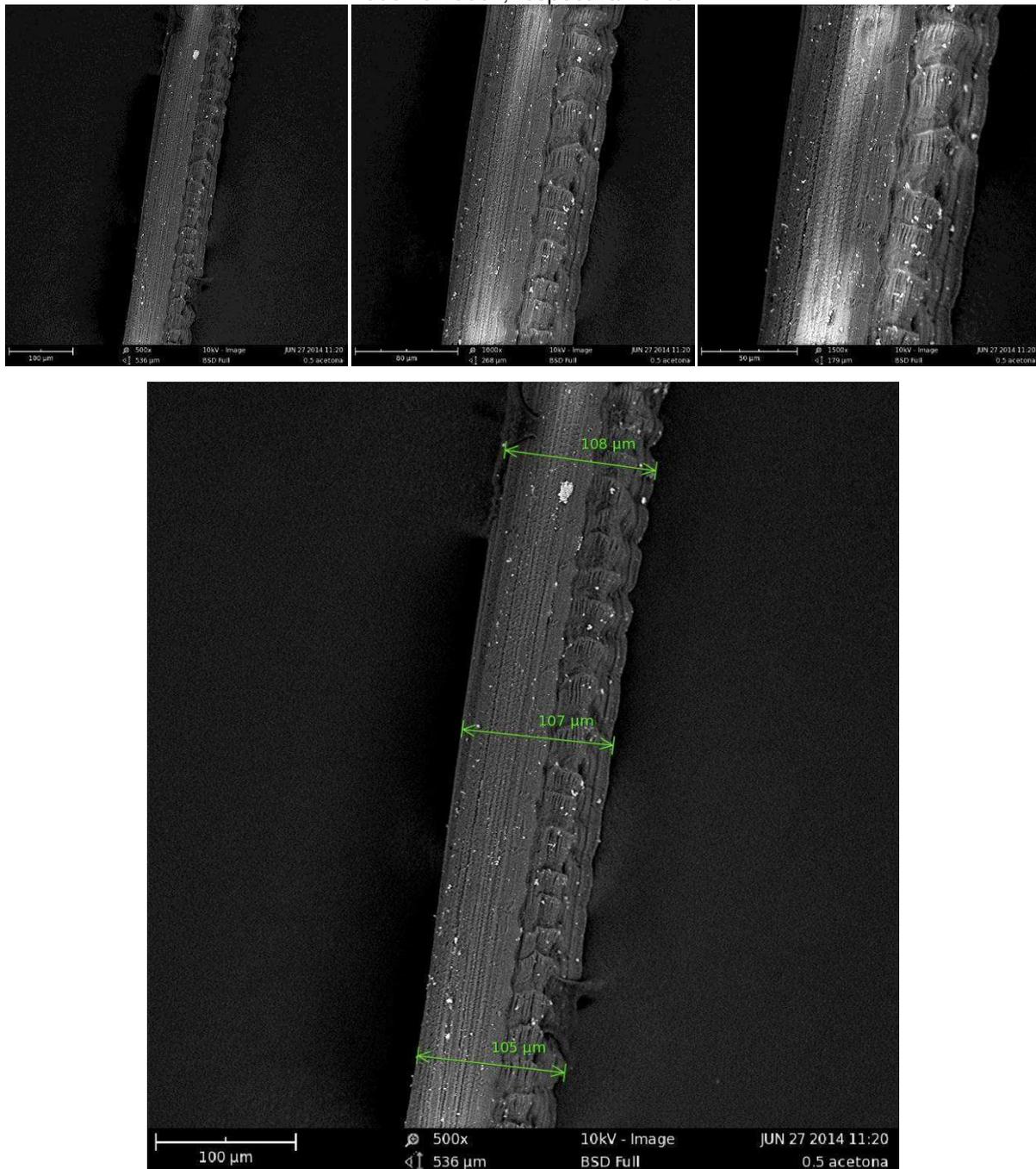


Figura 31- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% água destilada (100%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

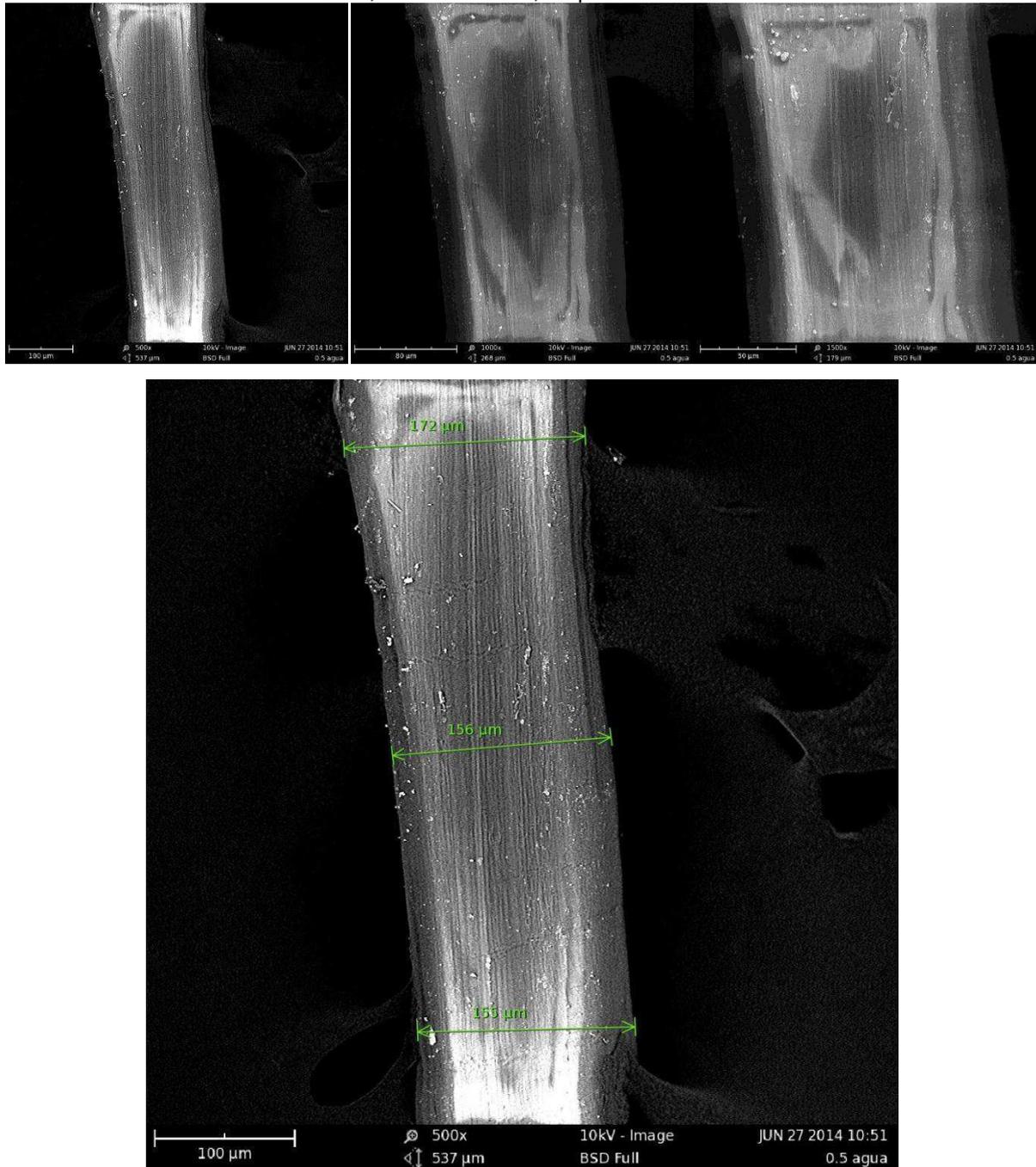


Figura 32- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% CaCl₂ (2%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

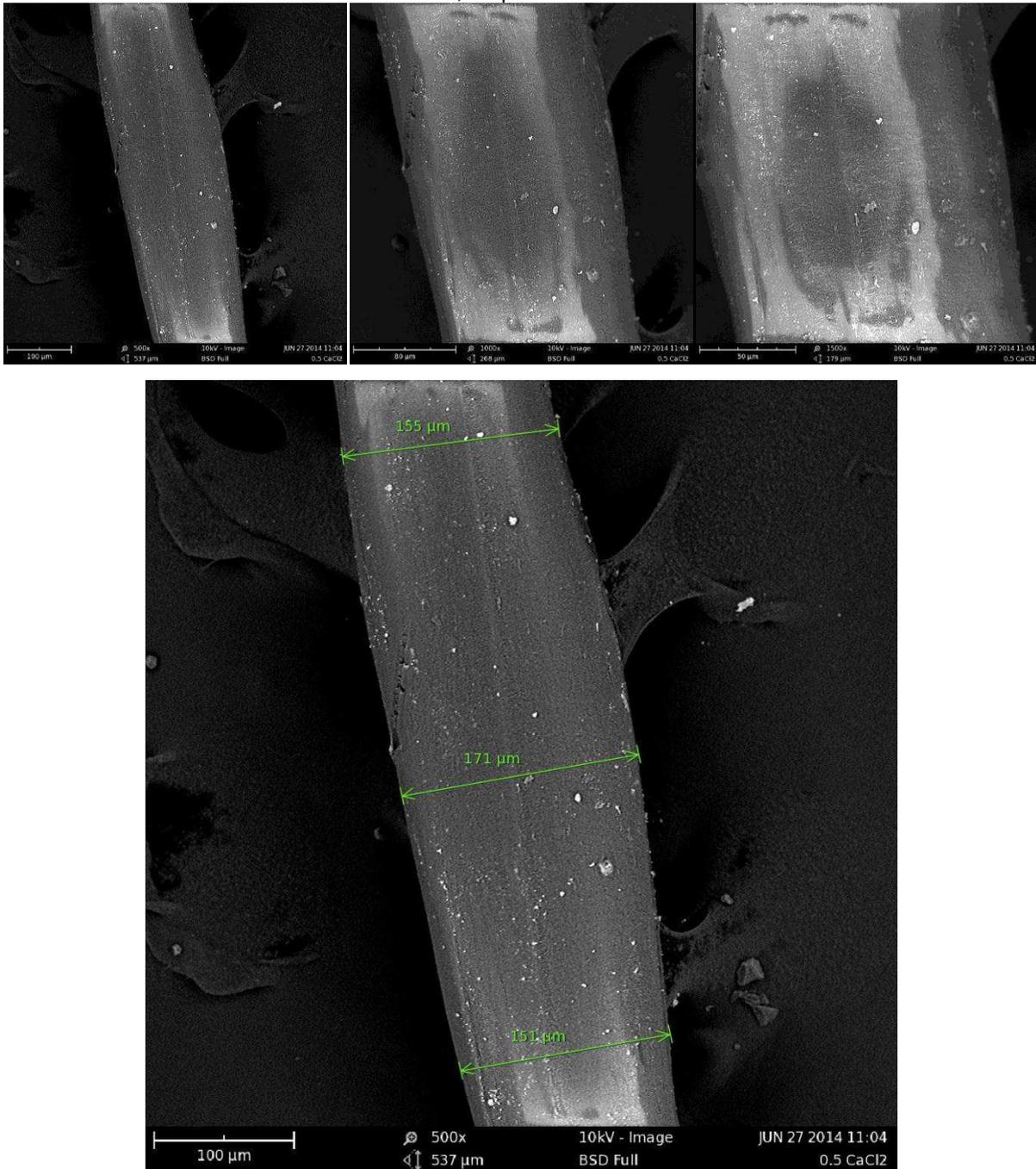
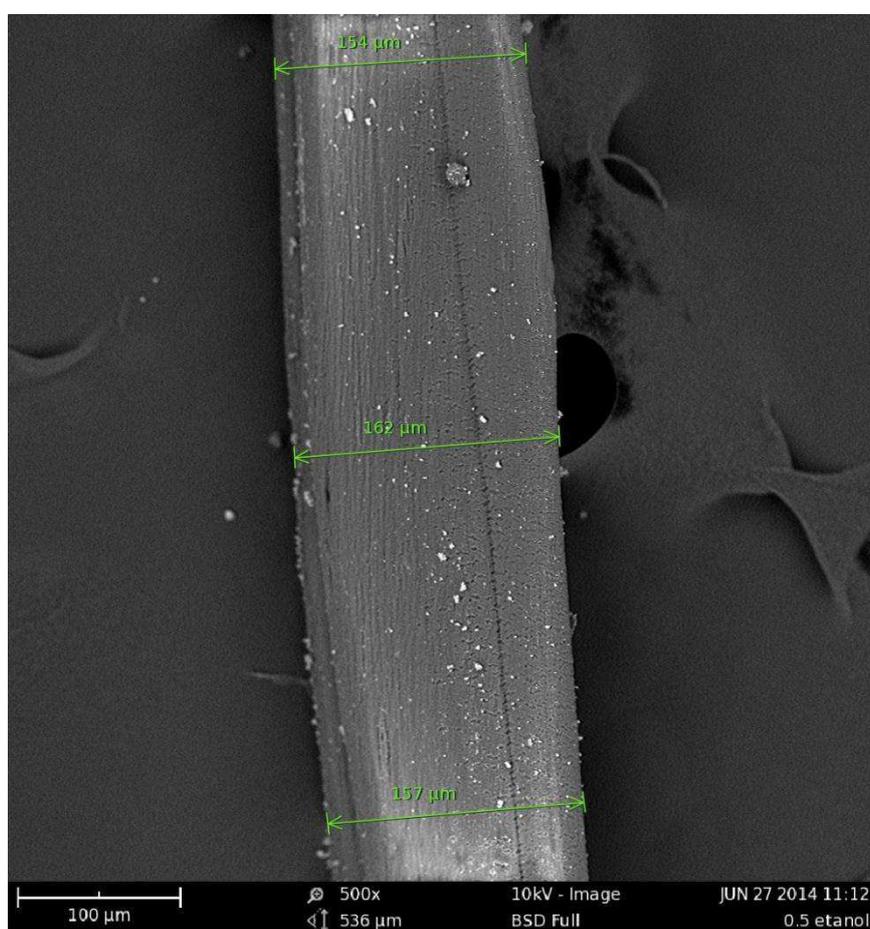
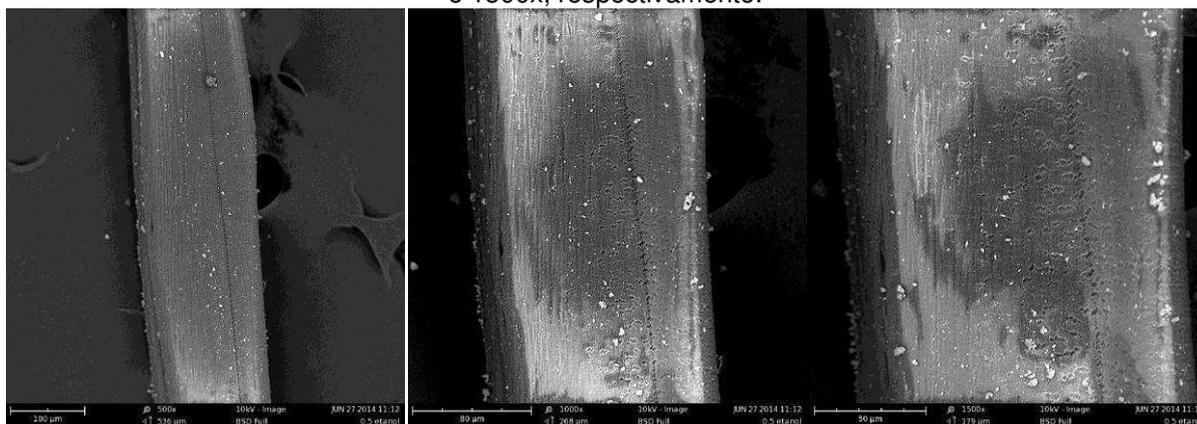


Figura 33- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,5% etanol (30%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.



Nas figuras 34,35, 36 e 37, respectivamente ilustram as micrografias para a concentração de 0,85% de quitina, percebe-se novamente uma orientação preferencial das fibras, fica claro nas imagens que o aumento da concentração levou a formação de uma estrutura diferenciada quando comparada com a concentração de 0,5%. Fatores como homogeneidade e processamento da amostra influenciam diretamente na configuração das

fibras. Pode-se afirmar que o aumento da concentração, neste caso, proporcionou a formação de uma estrutura mais rugosa com possíveis pontos concentradores de tensão, pode-se afirmar também que a homogeneidade foi afetada com o aumento da concentração, percebendo-se partículas de quitina distribuídas ao longo da estrutura. Possíveis aberturas na morfologia da fibra podem favorecer a proliferação de bactérias durante o processo de cicatrização da ferida. Quanto aos banhos de coagulação tem-se que o banho constituído por etanol (30%) apresentou uma estrutura mais porosa quando comparado com as outras concentrações. Isto pode ser atribuído à taxa de coagulação. Segundo Deshmukh e Li (2008), de forma geral uma taxa de coagulação rápida resulta numa estrutura do tipo “finger”, na qual os poros são alongados e largos, lembrando o formato de dedos, uma taxa de coagulação mais lenta resulta em uma estrutura de tipo esponja porosa. Este aspeto reforça como verdadeiro o fato observado na análise dimensional das fibras, que os solventes orgânicos como coagulantes promovem uma cristalização mais rápida tendo dois efeitos claros na fibra: estrutura, quanto mais rápida for a formação das fibras quando submetidas a banhos em solventes orgânicos maior será a sua velocidade de formação, ocasionando na formação de fibras com menores diâmetros.

Figura 34- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% acetona (70%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

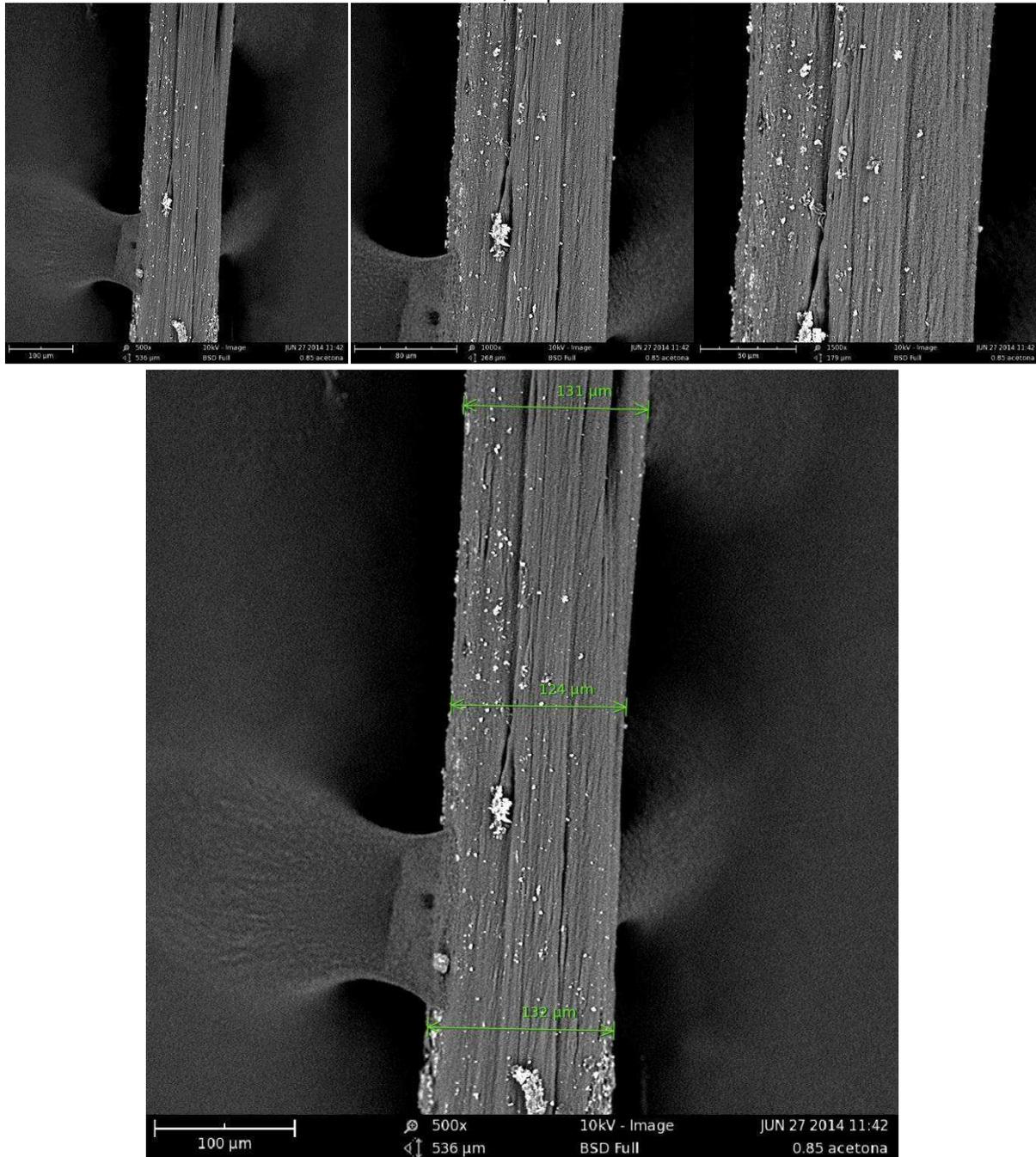


Figura 35-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% água destilada (100%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

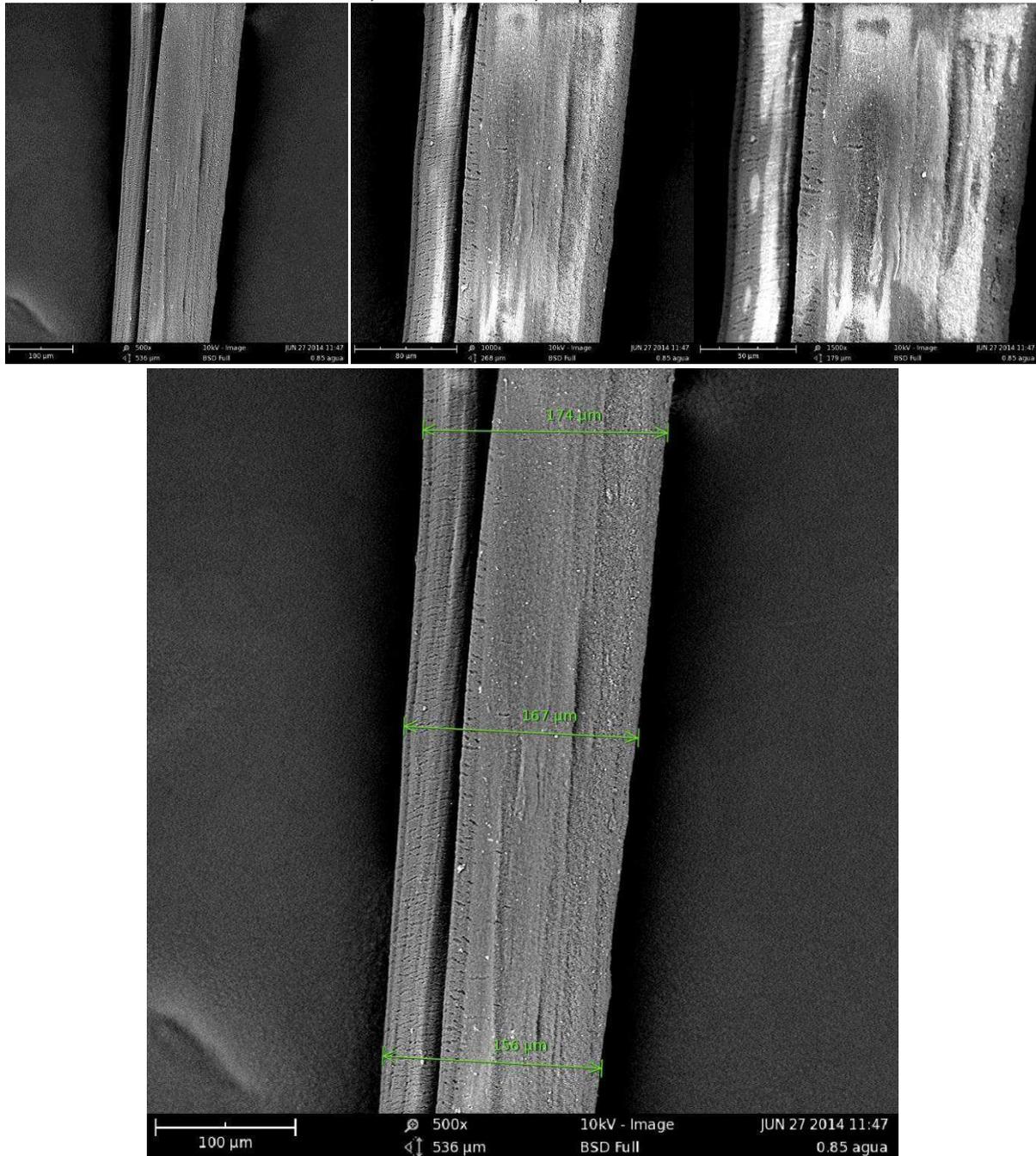


Figura 36-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% CaCl₂ (2%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente..

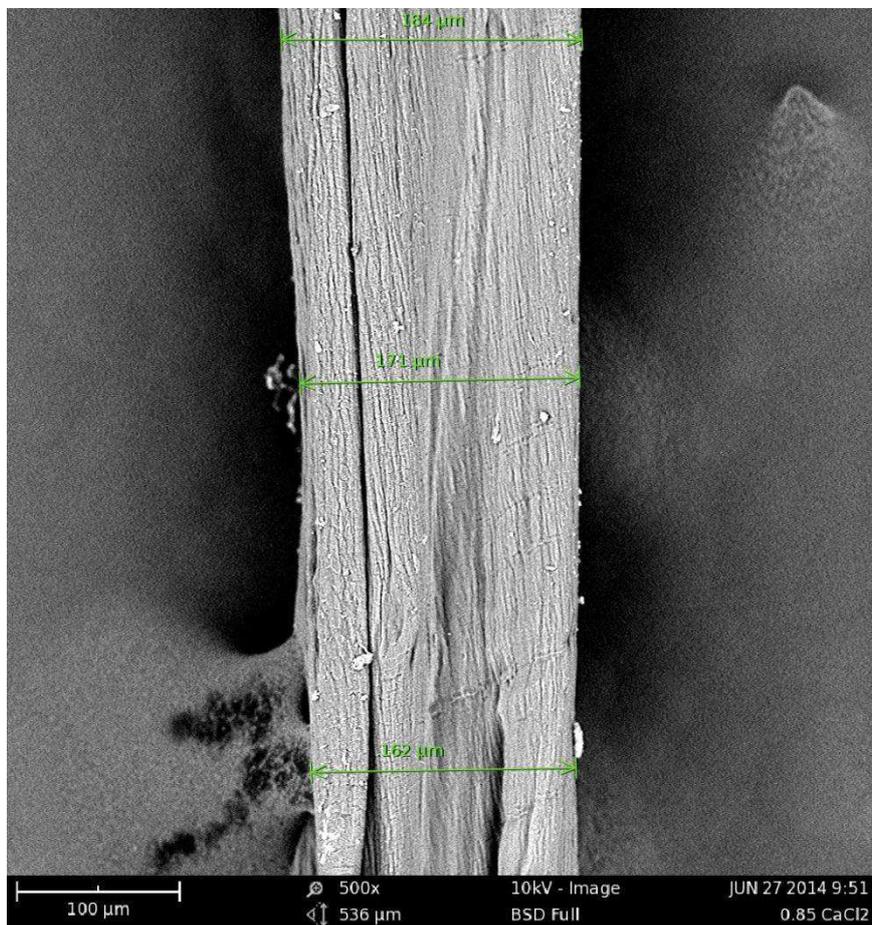
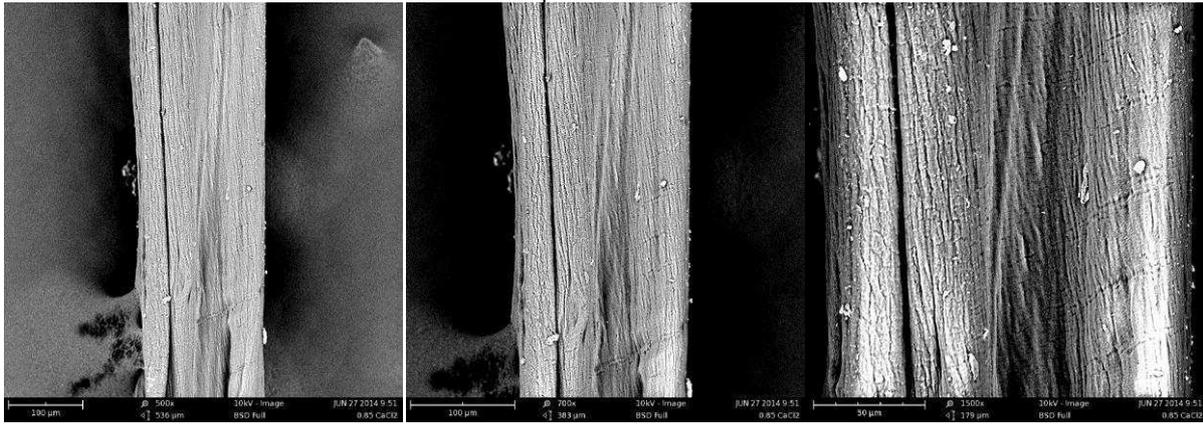
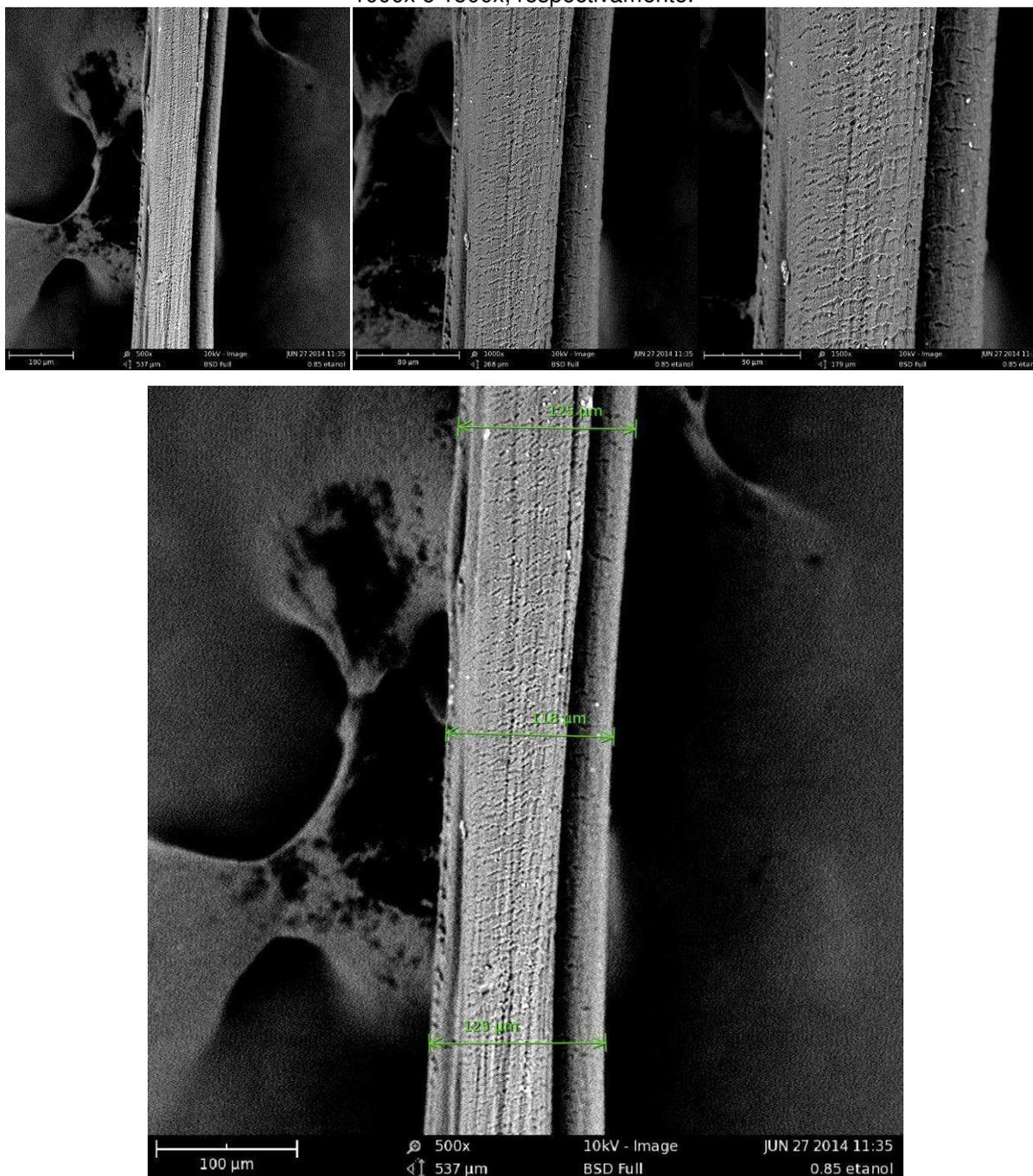


Figura 37- Micrografias (MEV) das fibras de quitina 0,85% etanol (30%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.



Nas figuras 38, 39, 40 e 41, respectivamente ilustram as micrografias para a concentração de 1% de quitina, as fibras possuem uma superfície de orientação preferencial, percebe-se que o aumento da concentração levou a formação de uma estrutura mais rugosa quando comparado com as concentrações de 0,85% e 0,5% de quitina. Foi relatada a dificuldade de

fiação das amostras na concentração de 1% quitina, devido à evaporação do solvente DMAc, tornando a solução mais viscosa. Com a evaporação do DMAc, tem-se uma concentração maior do LiCl_2 , ocasionando em pontos de precipitação da quitina, tanto nas amostras de 0,85%, quanto nas amostras de 1% pode-se perceber nas micrografias a presença de pontos “brancos” que são na verdade a quitina precipitada. Segundo Vasconcelos (2011), concentrações mais elevada de LiCl_2 podem ser relacionadas com a precipitação de quitina em concentrações mais elevadas, aumentando a possibilidade de complexação intra e intermolecular com grupos carbonila de quitina. O resultado seria a formação de agregados macromoleculares, seguida por precipitação do polímero.

A Tabela 8 abaixo, mostra os parâmetros de solubilidade do etanol/água em várias composições de banhos de coagulação. Os dados demonstram uma diminuição no parâmetro de solubilidade do banho de coagulação de 47,8 a 37,2 $\text{MPa}^{1/2}$ com o aumento da concentração do etanol no banho de coagulação de 0% a 50% (DESHMUKH; LI, 2008).

Tabela 8- Parâmetros de solubilidade de acordo com o meio de coagulação.

Meio de coagulação	Parâmetro de solubilidade $\partial_t \text{MPa}^{1/2}$
Etanol	26.5
Água	47.8
Etanol: Água (10:90)	45.7
Etanol: Água (20:80)	43.5
Etanol: Água (30:70)	41.4
Etanol: Água (40:60)	39.3
Etanol: Água (50:50)	37.2

Figura 38-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% acetona (70%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

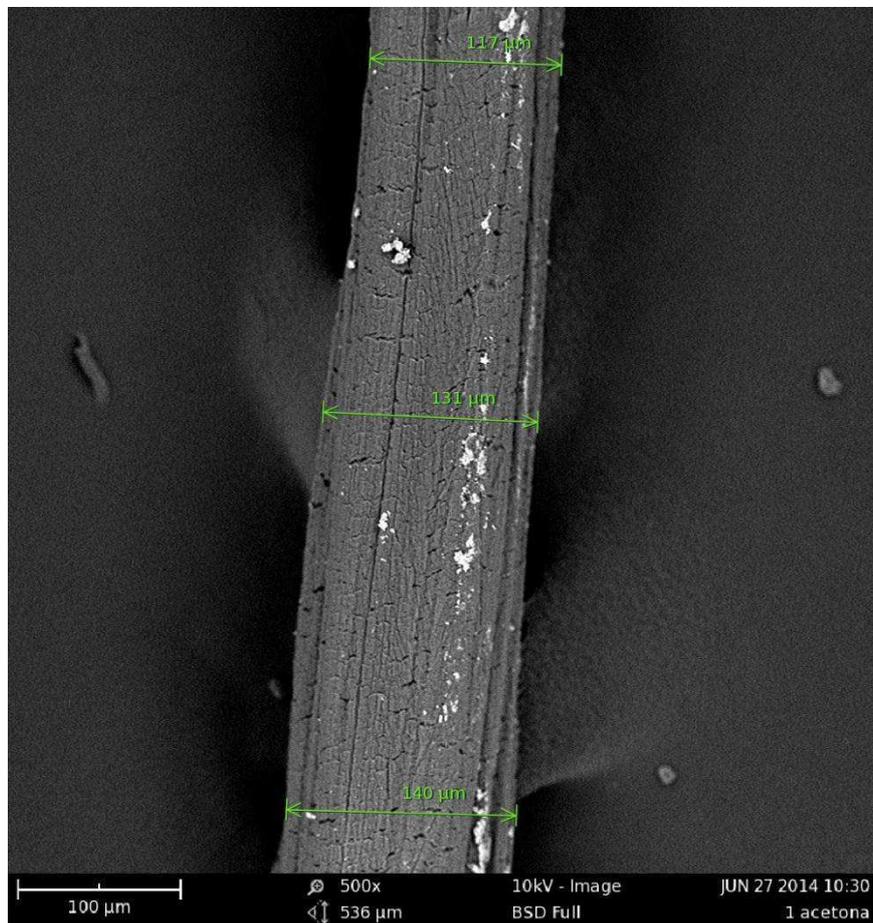
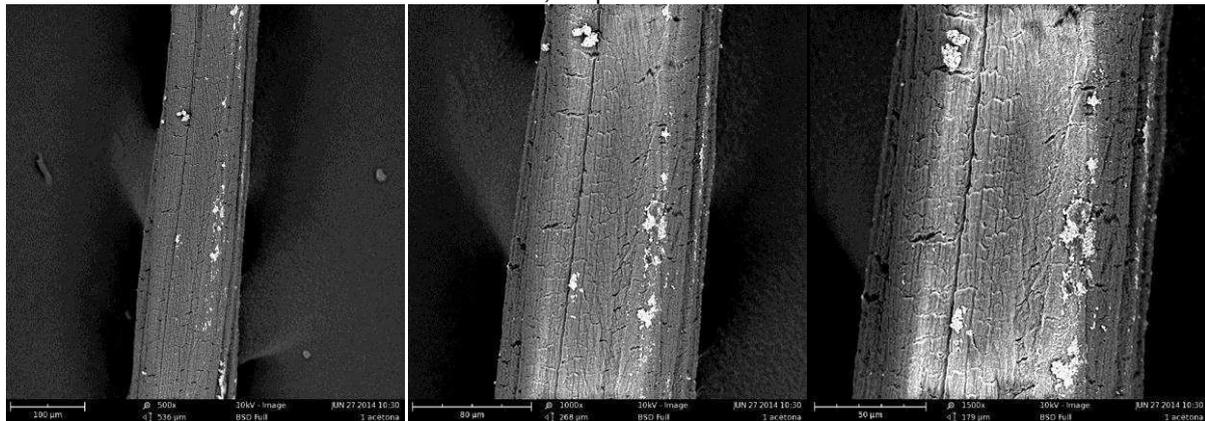


Figura 39-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% água (100%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.

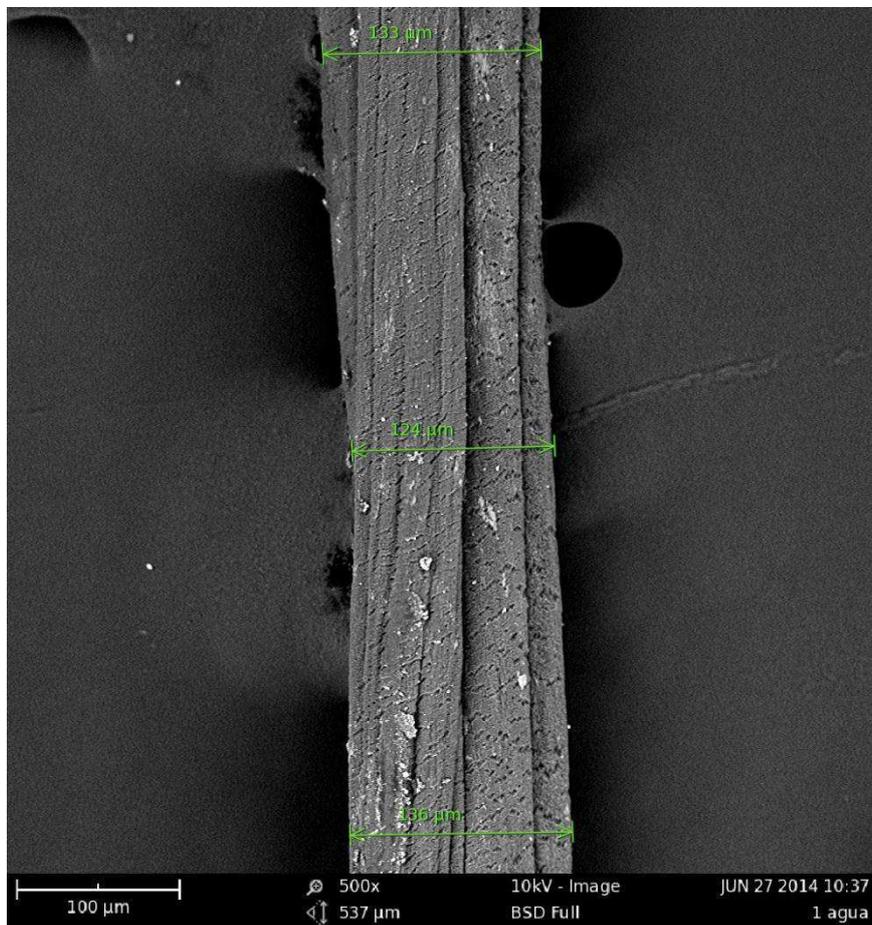
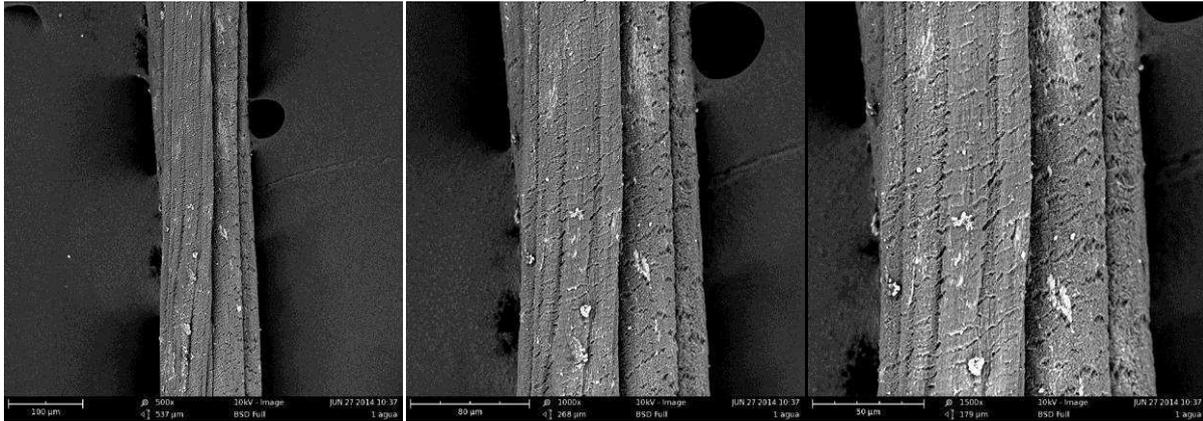


Figura 40-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% CaCl_2 (2%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente..

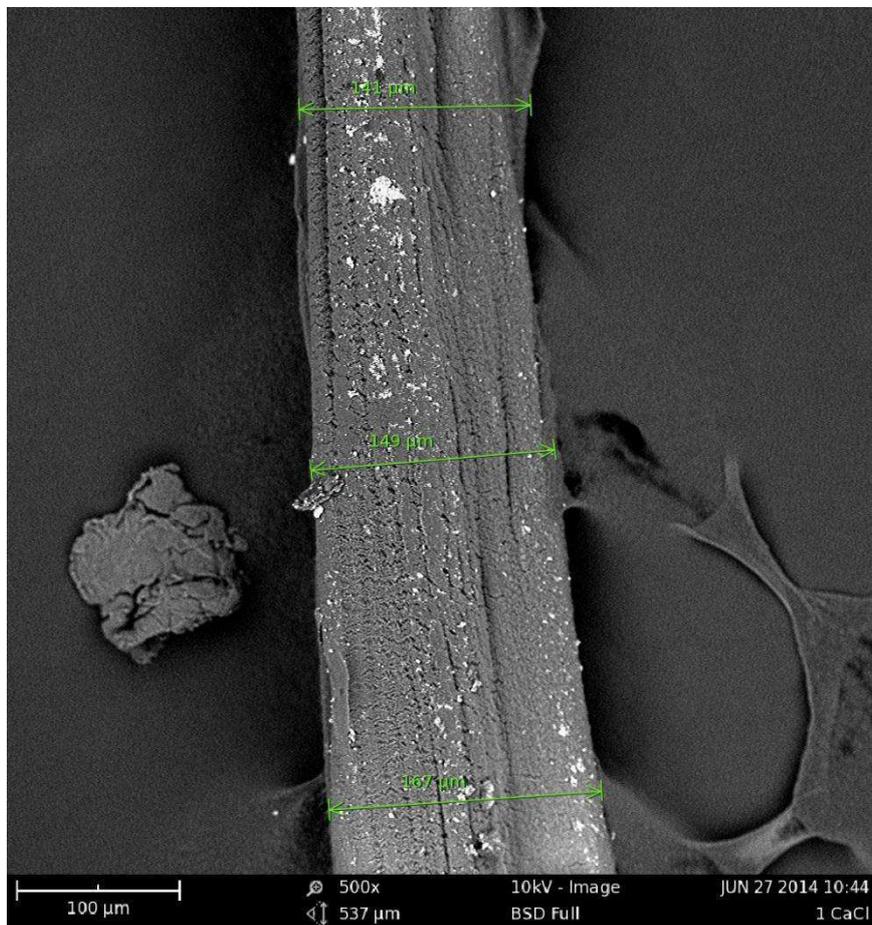
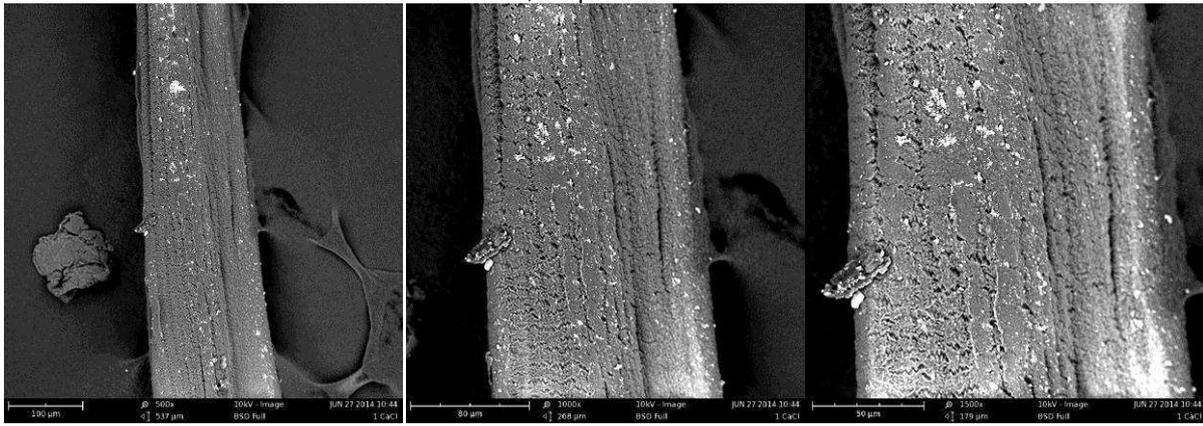
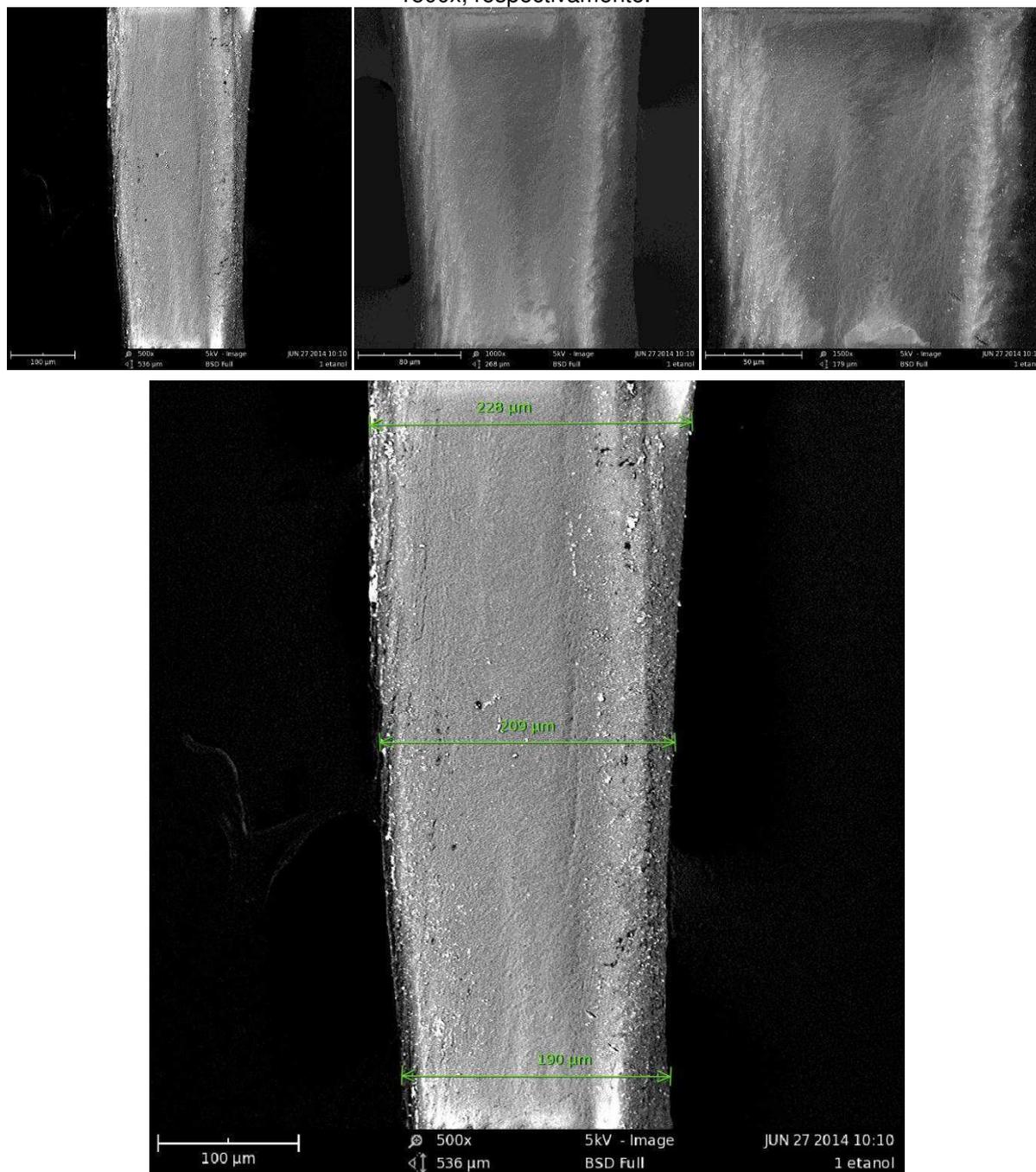


Figura 41-Micrografias (MEV) das fibras de quitina 1% Etanol (30%), aumento de 500x, 1000x e 1500x, respectivamente.



3.9.4 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

É uma técnica analítica utilizada para a análise elementar ou a caracterização química de uma amostra. É um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica, no qual os elementos químicos presentes numa amostra podem ser identificados através do espectro de raios X emitido pela amostra. O diâmetro reduzido do feixe permite a

determinação da composição mineral em amostras de tamanhos muito reduzidos ($< 5 \mu\text{m}$), permitindo uma análise quase que pontual (FIDELES, 2010).

Essa técnica foi utilizada nesta pesquisa com o objetivo de detectar a presença de algum elemento químico diferente daqueles obtidos em amostras de quitina, e possivelmente a constatação de uma possível falha em algum dos procedimentos metodológicos caso isto ocorresse, através do dispositivo de energia dispersiva acoplado ao equipamento MEV, TM-1000, HITACHI.

As figuras 42, 43, 44 e 45, respectivamente apresentam as porcentagens dos banhos de coagulação: Acetona (70%), água destilada (100%), CaCl_2 (2%), etanol (30%), na concentração de quitina 0,5%. Os elementos identificados através do EDS correspondem aos elementos presentes na estrutura química da quitina, com pequenas variações nos elementos carbono e hidrogênio no caso do banho de acetona, que possui uma quantidade maior de carbono, quando comparado com os outros banhos de coagulação, provavelmente devido a um maior número de acetamidas.

Figura 42-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de coagulação acetona (70%).

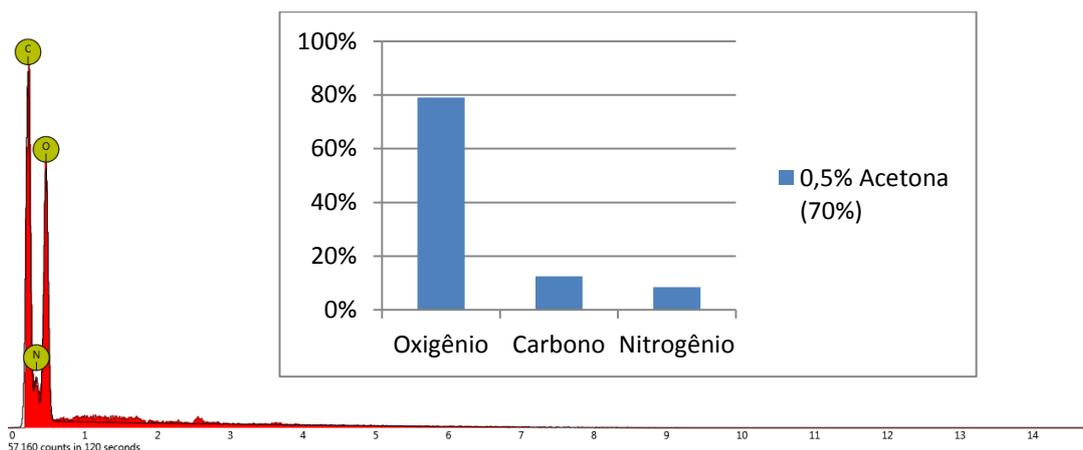


Figura 43-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de água destilada (100%).

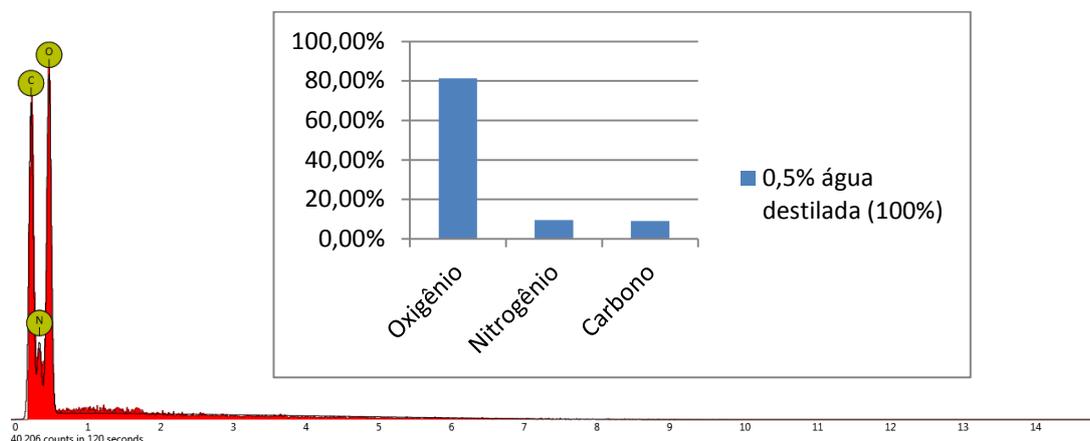


Figura 44-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de CaCl₂ (2%).

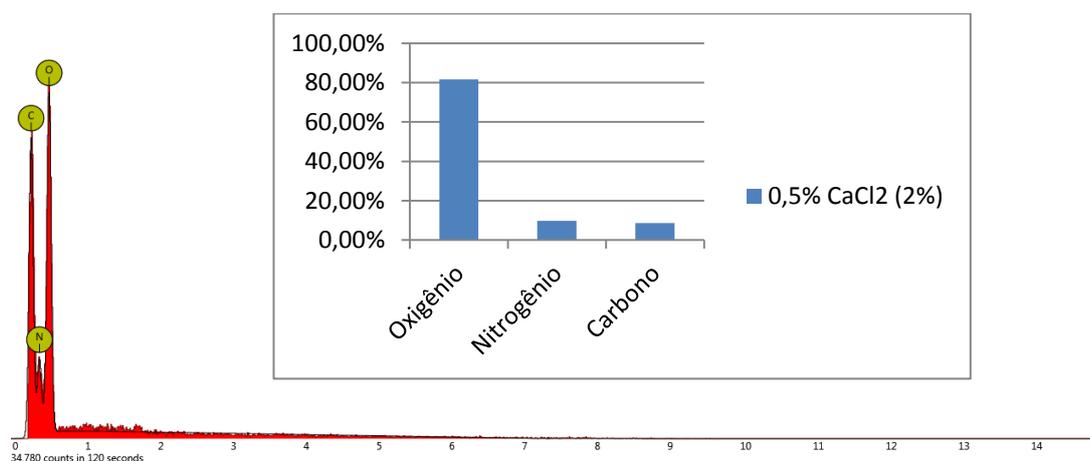
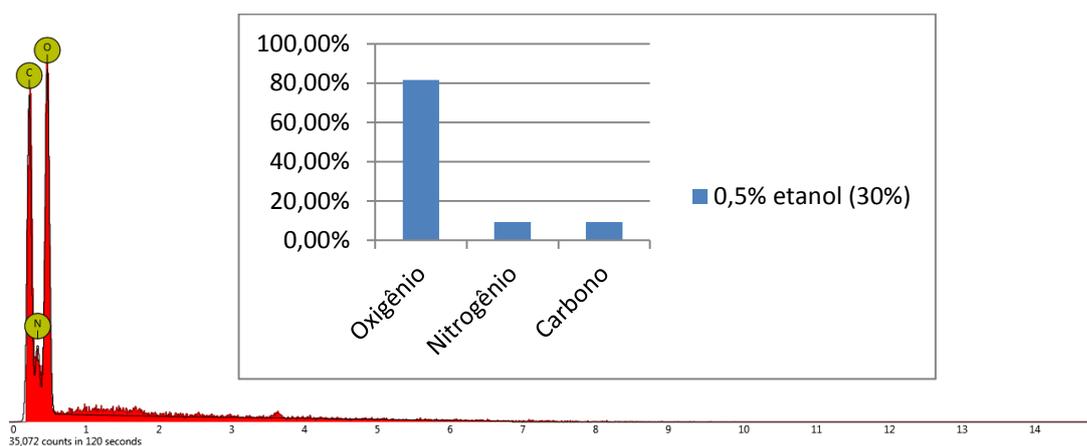


Figura 45-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,5% sob o banho de etanol (30%).



As figuras 46, 47, 48 e 49, respectivamente apresentam as porcentagens dos banhos de coagulação: Acetona (70%), água destilada (100%), CaCl_2 (2%), etanol (30%), na concentração de quitina 0,85%. Os elementos identificados através do EDS correspondem aos elementos presentes na estrutura química da quitina, evidenciando que os banhos de coagulação interferiram na orientação das fibras, mas não interferiram na presença de contaminantes, este é um fator importante tendo em vista que podemos provar que as fibras são compostas de quitina pura.

Figura 46-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de acetona (70%).

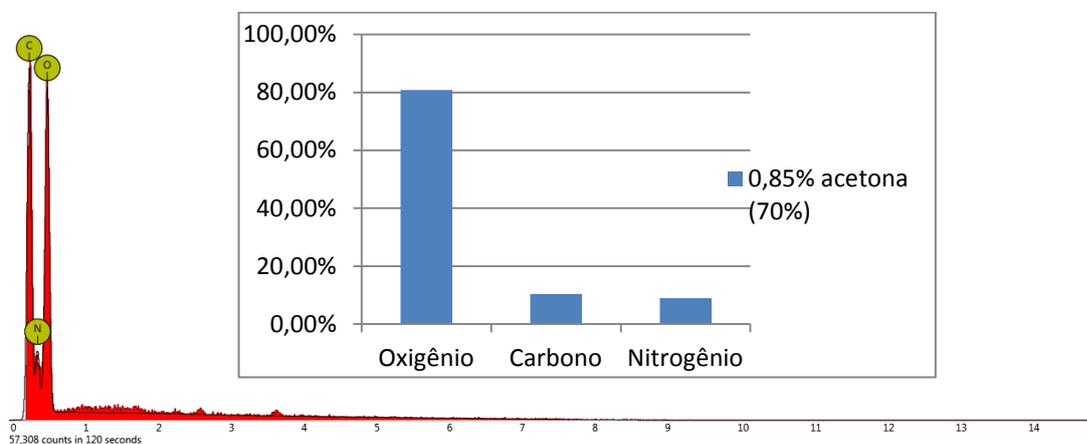


Figura 47-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de água destilada (100%).

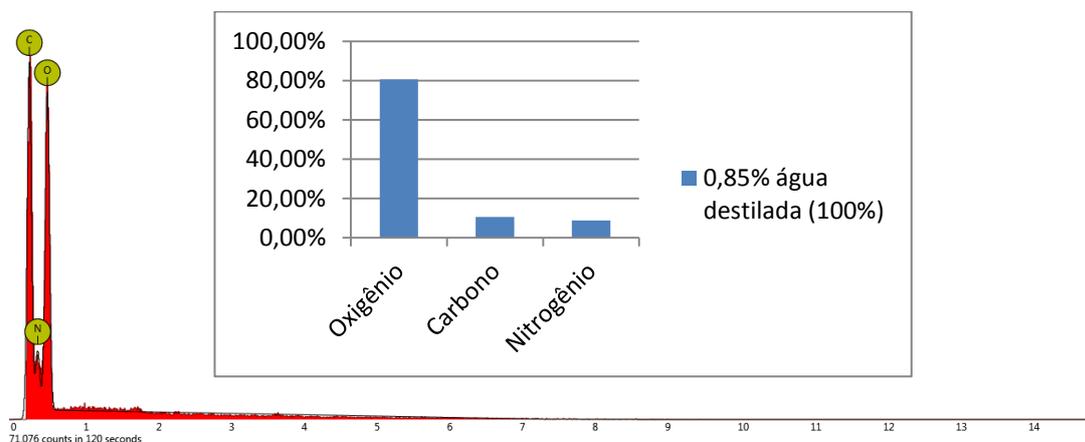


Figura 48-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de CaCl₂ (2%).

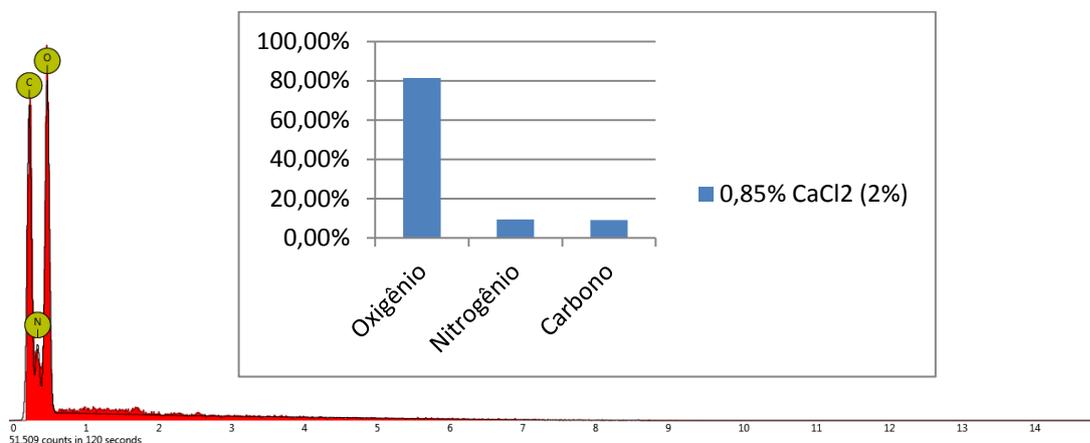
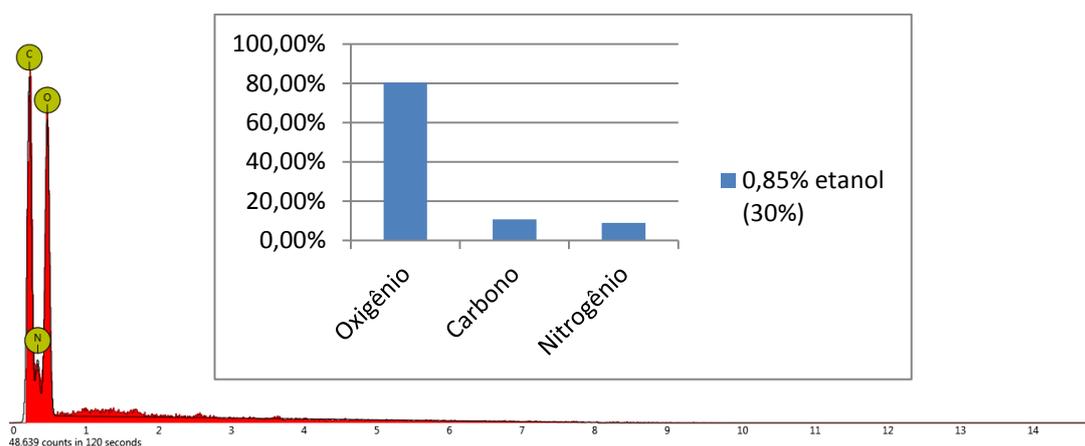


Figura 49-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 0,85% sob o banho de etanol (30%).



As figuras 50, 51, 52 e 53, respectivamente apresentam as porcentagens dos banhos de coagulação: Acetona (70%), água destilada (100%), CaCl₂ (2%), etanol (30%), na concentração de quitina 1%. Os elementos identificados através do EDS correspondem aos elementos presentes na estrutura química da quitina. Novamente os banhos de coagulação interferiram quanto à orientação das fibras, como foi constatado pelo MEV, porém não interferiram quanto à presença de contaminantes, este é um fator importante tendo em vista que podemos provar que as fibras são compostas de quitina pura.

Figura 50-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de acetona (70%).

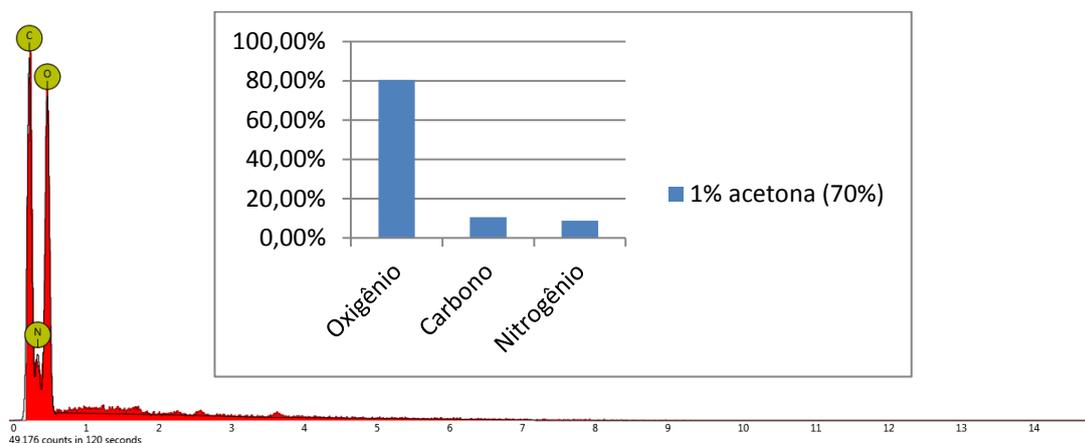


Figura 51-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de água destilada (100%).

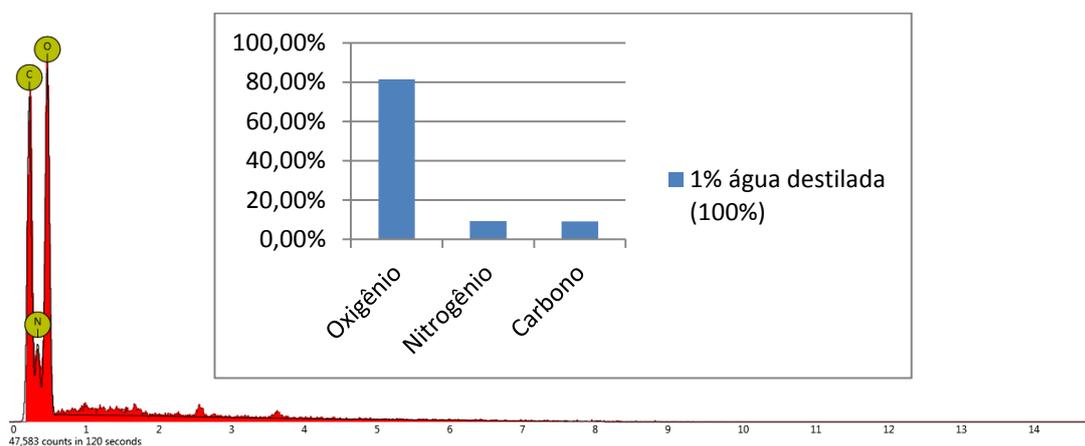


Figura 52-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de CaCl₂ (2%).

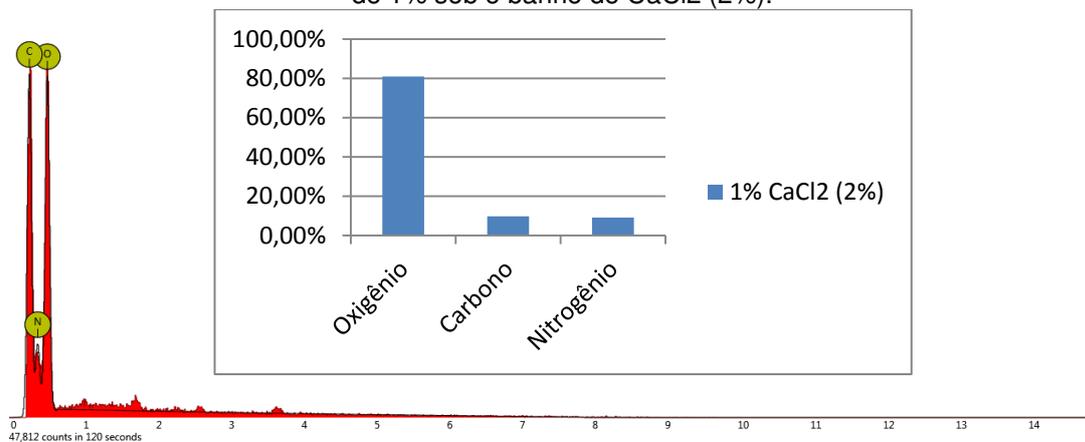
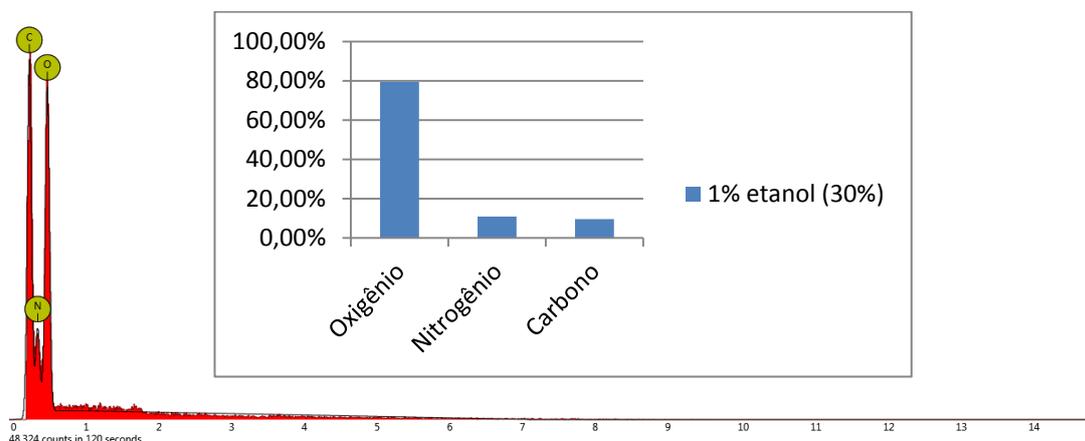


Figura 53-Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) da quitina numa concentração de 1% sob o banho de etanol (30%).



3.9.5 Intumescimento

Para a realização do ensaio de intumescimento, as amostras foram cortadas no tamanho de 10 cm pesadas quando secas e depois de imersas em uma solução tampão fosfato-salino *PBS - phosphate buffered saline* (pH 7.4). em uma variação progressiva de tempo de: 1 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min, 30 min, 1h, 3h, 6h, 12h, 24h, sendo esta última medida feita em 24h devido a variação correspondente ao tempo necessário para que ocorra a estabilização de amostra, antes da estabilização da amostra, nós temos oscilações que indicam a resistência que cadeias exercem à entrada de água.

Para realização dos cálculos neste ensaio, utilizaram-se os valores verificados após a imersão em água deionizada em uma variação progressiva de tempo citada anteriormente, resultando no total de 24 horas, para as amostras com concentração de quitina de 0,5% para os banhos de coagulação CaCl_2 (2%), etanol (30%), acetona (70%) e água (100%).

Aplicou-se a seguinte equação 8:

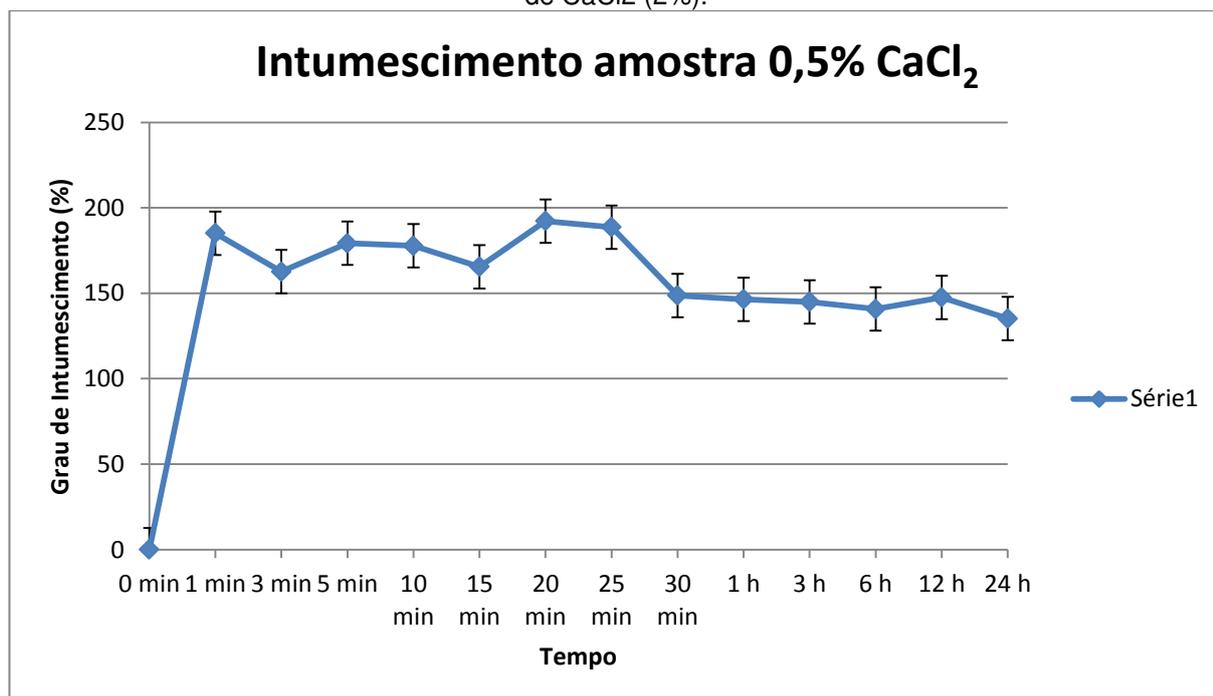
$$I\% = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Após obtenção dos valores, fez-se um gráfico a partir dos dados para verificação da curva que representa o intumescimento em porcentagem (%) versus o tempo.

Ao observar a Figura 54, percebe-se uma mudança bastante elevada do valor do peso inicial para o primeiro minuto de imersão na solução de PBS, mostrando que sua capacidade de absorção é elevada, chegando a quase 180%. Os tempos seguintes mostram uma pequena oscilação entre aumento e perda na capacidade de absorção, até atingir a estabilidade. Percebe-se que a maior oscilação acontece entre o tempo de 1 minuto a 20 minutos com dois aumentos – 1 minuto a 5 minutos e 10 minutos a 20 minutos – e estabilidade próxima de 30 minutos.

Verifica-se ainda que o pico máximo atingido é de aproximadamente 190% e o mínimo de aproximadamente 140%.

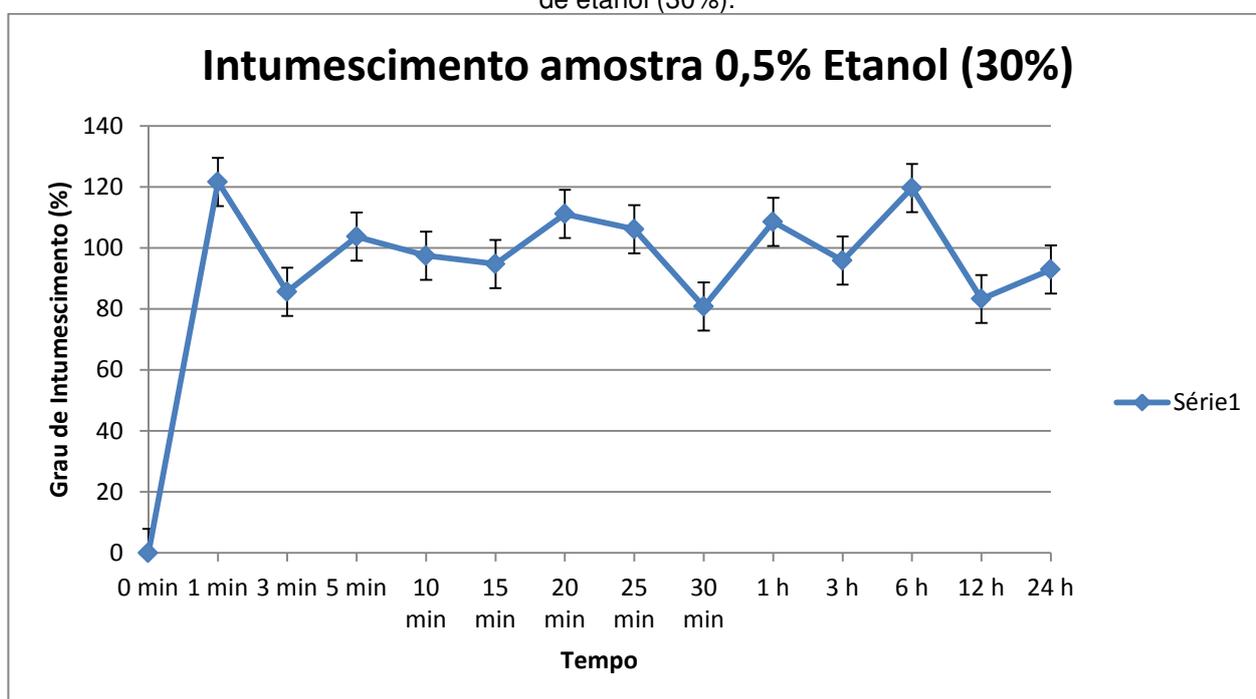
Figura 54-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de CaCl₂ (2%).



Na figura 55 pode-se observar um comportamento estável, com pouca absorção no primeiro minuto de imersão na solução de PBS, aproximadamente 120%, evidenciando uma menor capacidade de absorção quando comparada com os outros banhos de coagulação. A capacidade de

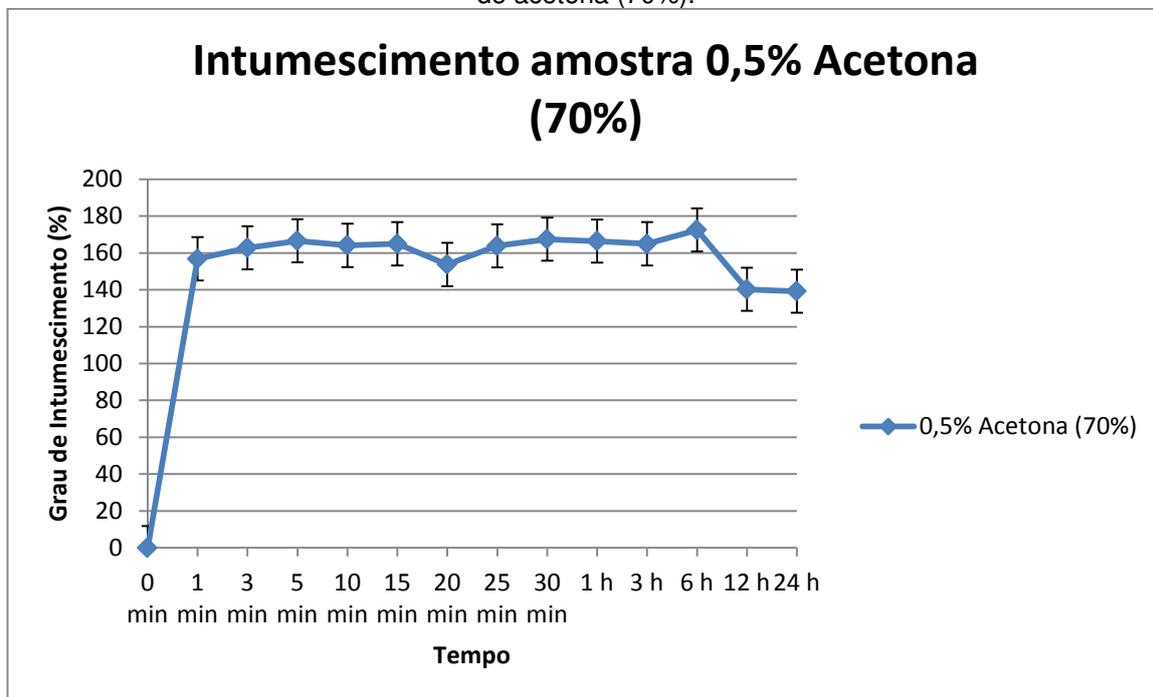
aproximadamente 120%, evidenciando uma menor capacidade de absorção quando comparada com os outros banhos de coagulação. A capacidade de absorção permanece quase constante até 25 minutos, onde logo após tem-se o pico máximo de absorção em 1 hora. Nos tempos subsequentes tem-se novamente uma absorção quase constante até a estabilização da amostra em aproximadamente 24 horas. Verifica-se que o pico máximo de absorção atingido foi de aproximadamente 120% e o mínimo de aproximadamente 90%.

Figura 55-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de etanol (30%).



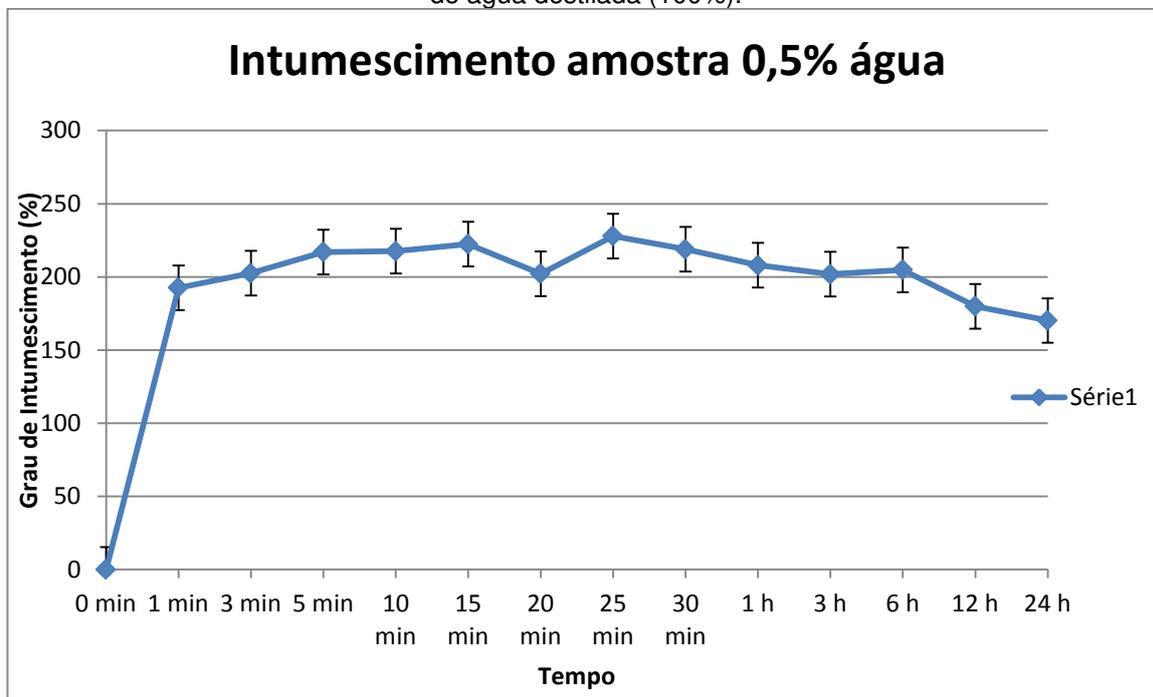
Na figura 56 podemos observar um comportamento estável, com elevada absorção no primeiro minuto de imersão na solução de PBS, aproximadamente 160%, permanecendo praticamente estável no intervalo de tempo de 1 minuto até 3 horas evidenciando uma maior estabilidade de absorção num maior intervalo de tempo quando comparada com as amostras anteriores (CaCl_2 (2%) e etanol (30%)). Nos tempos subsequentes tem-se este mesmo comportamento até atingir o mínimo de absorção. Verifica-se que o pico máximo de absorção atingido foi de aproximadamente 170% e o mínimo de aproximadamente 140%.

Figura 56-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de acetona (70%).



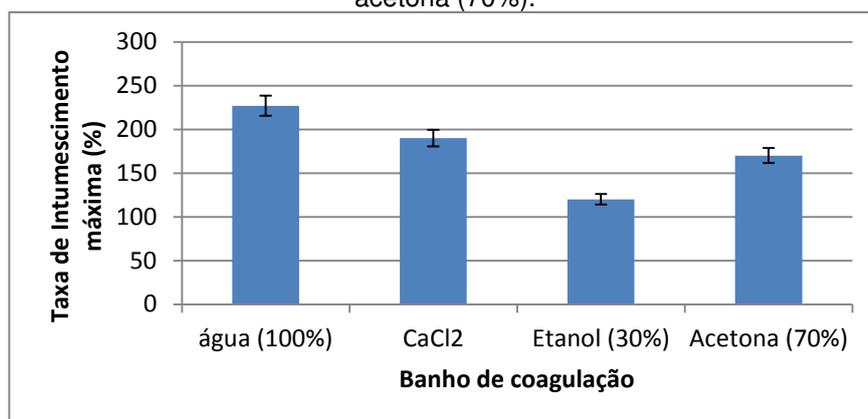
Na figura 57 podemos observar uma elevada absorção no primeiro minuto de imersão na solução de PBS, aproximadamente 190%, com duas oscilações na curva entre aumento e perda na capacidade de absorção, sendo a primeira oscilação, no intervalo de tempo de 1 minuto a 25 minutos, a segunda no intervalo de tempo de 30 minutos até 6 horas. Verifica-se que o pico máximo de absorção atingido foi de aproximadamente 225% e o mínimo de aproximadamente 160%.

Figura 57-Ensaio de intumescimento das amostras de 0,5% submetidas ao banho de coagulação de água destilada (100%).



Analisando a Figura 58, verifica-se que as fibras coaguladas com solventes orgânicos, etanol e acetona, possuem menor grau de intumescimento que aquelas coaguladas em solventes aquosos. A explicação para tal poderá estar na formação de uma estrutura com menor espaço intersticial entre as cadeias, dificultando a penetração das moléculas de água para o interior da fibra. Como apresentado na análise dimensional, estas fibras apresentaram menores diâmetros, justificando por isso tal hipótese.

Figura 58-Avaliação da taxa de intumescimento máxima nas concentrações de quitina 0,5%, submetidos aos banhos de coagulação: água destilada (100%), CaCl₂ (2%), etanol (30%), acetona (70%).



3.9.6 Ensaios mecânicos de tração

A norma vigente que regula as propriedades mecânicas das fibras, ABNT NBR 13904, estabelece que estas sejam categorizadas a partir dos seus diâmetros, logo se pode prever o valor de resistência à tração que a fibra deve apresentar. Os valores de referência estão resumidos na Tabela 9.

Tabela 9-Categute cirúrgico estéril - Diâmetro e resistência à tração sobre nó, de acordo com a ABNT NBR 13904.

Número		Diâmetro		Resistência à tração			
Cirúrgico	Métrico	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Média (kgf)	Média (N)	Valor Individual (kgf)	Valor Individual (N)
5-0	1,5	0,150	0,199	0,38	3,73	0,20	1,96
4-0	2	0,200	0,249	0,77	7,55	0,40	3,92

Na Tabela 10 têm-se os valores médios de carga máxima suportada pelas fibras.

Tabela 10-Valores Médios da Carga máxima suporta pelas fibras.

Fibras	Carga máxima (N)
0,5% Água dest. (100%)	0,90
0,5% Etanol (30%)	1,11
0,5% Acetona (70%)	0,59
0,5% CaCl ₂ (2%)	1,27
0,85% Água dest. (100%)	1,05
0,85% Etanol (30%)	0,74

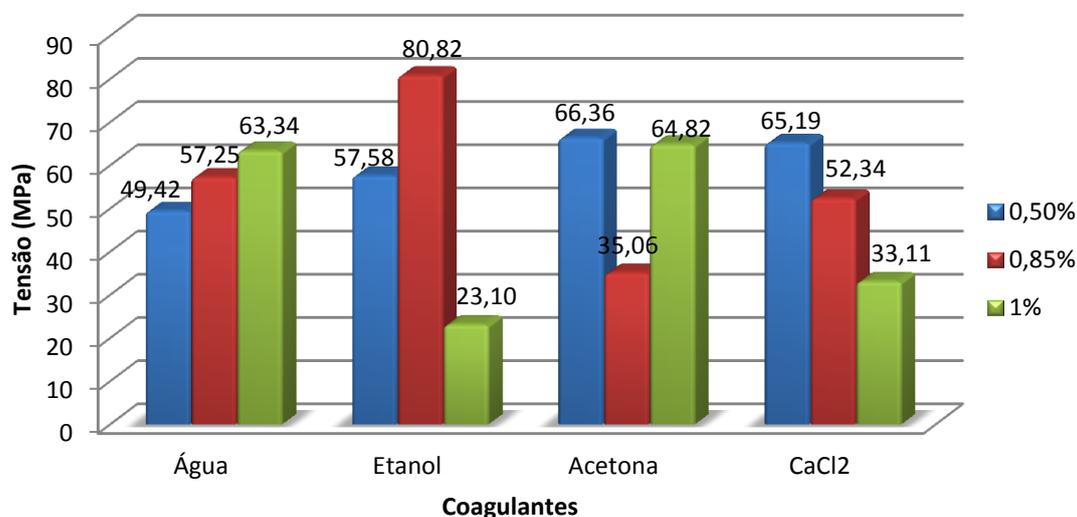
0,85% Acetona (70%)	0,41
0,85% CaCl ₂ (2%)	1,10
1% Água dest. (100%)	0,78
1% Etanol (30%)	1,04
1% Acetona (70%)	0,93
1% CaCl ₂ (2%)	0,74

Analisando os dados da Tabela 10, pode-se perceber que as fibras produzidas na concentração de 0,5% de quitina para todos os banhos de coagulação, foram as fibras que apresentaram uma maior carga suportada.

Em termos científicos estes valores não representam fibras com melhores propriedades mecânicas, uma vez que as fibras produzidas na concentração de 0,85% de quitina apresentam maior diâmetro. Uma análise feita sobre a tensão, que é uma medida que relaciona a área de corte da fibra torna-se mais apropriada para fins comparativos.

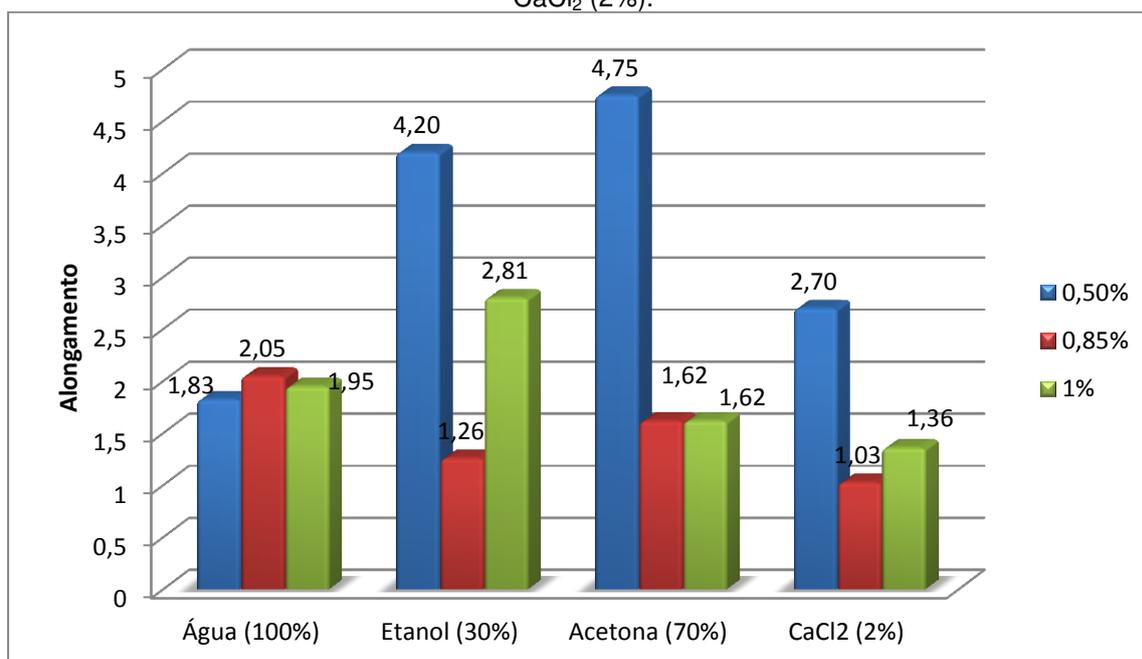
A Figura 59 ilustra que a utilização de solventes orgânicos e o aumento da concentração torna a estrutura mais compacta, aumentando a interação entre as cadeias poliméricas, e por isso acredita-se que será necessário exercer uma tensão maior para provocar extensão nas fibras. Este fenômeno pode ser visualizado quando utilizado o banho de coagulação de água destilada (100%), porém o mesmo não ocorre nos outros banhos de coagulação. Excetuando estes, os outros resultados obtidos não apontam nenhuma tendência em termos da influência nem da concentração nem do coagulante. Apesar do valor mais elevado ter sido obtido com a concentração de 0,85% e em etanol, verifica-se que os resultados mais coerentes em termos de tensão máxima, são os obtidos com a concentração de 0,5% que variam dos 49,42 Mpa a 66,36 Mpa. Mesmo neste caso, os resultados obtidos com solventes orgânicos são superiores aos da água, mas semelhantes aos do cloreto de cálcio.

Figura 59 - Avaliação da tensão máxima nas concentrações de quitina 0,5%, 0,85% e 1%, submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl₂ (2%).



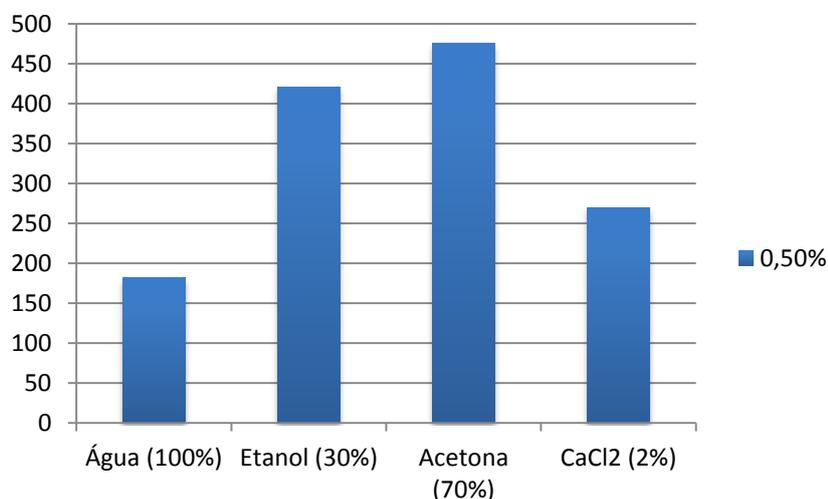
Analisando os dados da Figura 60, pode-se perceber que as fibras que apresentaram maior alongamento foram as fibras produzidas com 0,5%, a menor concentração, possivelmente devido a uma menor interação ou emaranhamento entre cadeias poliméricas que torna a estrutura da fibra mais elástica e por isso mais capaz de ser alongada.

Figura 60-Avaliação do alongamento máximo nas concentrações de quitina 0,5%, 0,85% e 1%, submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl₂ (2%).



A Figura 61 demonstra os valores de alongamento para as amostras na concentração de 0,5% de quitina em diferentes banhos de coagulação. Os melhores resultados são apresentados pelas fibras coaguladas em etanol (30%) e acetona (70%). Duan *et al.* (2013), demonstrou que filmes de quitina coagulados com soluções orgânicas, possuem uma ordem na estrutura e uma agregação compacta das cadeias, levando a boas propriedades mecânicas

Figura 61-Avaliação do alongamento máximo na concentração de quitina 0,5% submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl₂ (2%).

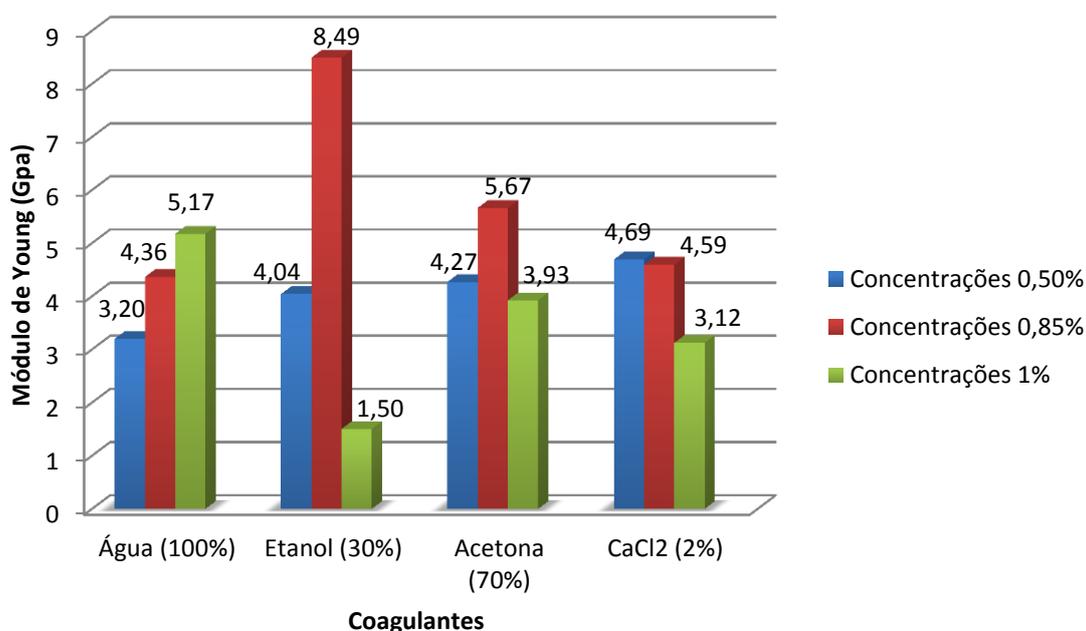


O Módulo de Young caracteriza o material em relação à sua deformação na zona elástica. Estas deformações não são permanentes, uma vez que a carga é retirada, o corpo de prova volta ao seu formato original. A Figura 62 demonstra os resultados obtidos para o módulo de Young.

Analisando os dados da Figura 62, referentes ao módulo de Young ou de elasticidade, verifica-se que os dados não são totalmente coerentes entre si. Seria de esperar que com o aumento da concentração, a rigidez da fibra também aumentaria apresentando módulos de elasticidade maiores, ou seja, seria necessária uma maior tensão para provocar uma determinada extensão. Tal fato só se verificou para as amostras coaguladas em água, enquanto que em outros solventes as concentrações de 0,5% e 0,85%

demonstraram valores superiores em relação às amostras de 1%. Já foi reforçada a ideia de que as soluções de 1% possuíam uma viscosidade elevada, possivelmente encontrando-se já no estado gel e por isso não haveria uma uniformidade completa na formação da fibra. Assim e analisando somente as concentrações de 0,5% e 0,85%, o resultado era o esperado, um aumento do módulo de elasticidade com a concentração deve-se, sobretudo ao aumento da interação macromolecular entre as cadeias poliméricas das fibras.

Figura 62-Avaliação do alongamento máximo nas concentrações de quitina 0,5%, 0,85% e 1%, submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl_2 (2%).

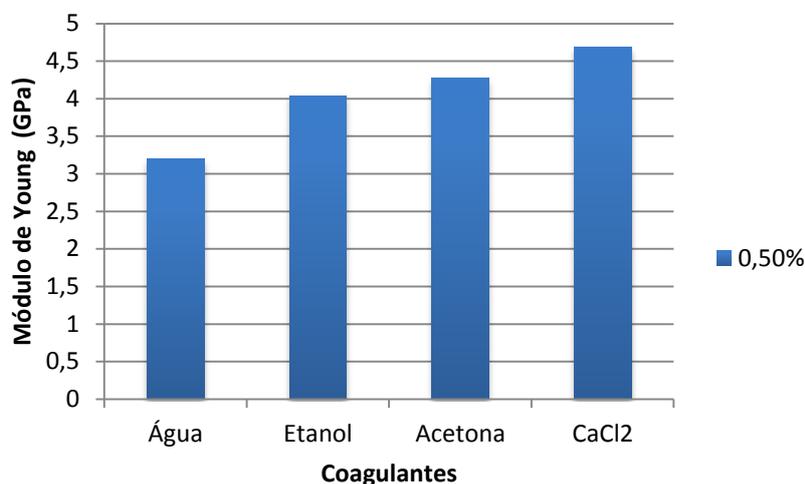


O resultado apresentado na figura 63 demonstra que as fibras têm valores de módulo de elasticidade elevados e que estes valores dependem do coagulante usado. A elasticidade das fibras coaguladas em água é maior, seguida de etanol, acetona e finalmente cloreto de cálcio. As fibras com etanol e acetona são as fibras mais compactas tendo maior interação entre cadeias, e por isso apresentam maior módulo de elasticidade que as fibras coaguladas em água. A utilização de cloreto de cálcio, apesar de não provocar uma compactação tão grande quanto os solventes orgânicos,

possivelmente melhora o fenômeno de coordenação entre as macromoléculas de quitina na fibra exibindo por estas, maior rigidez.

Note-se que a quitina usada possui peso molecular elevado e segundo alguns autores ocorre formação de estruturas cristalinas a concentrações baixas. No presente trabalho não foi possível determinar se estas estruturas ocorrem nas faixas de concentração usadas. É de esperar que a formação de uma estrutura anisotrópica leve a um incremento de todas as propriedades mecânicas analisadas, uma vez que o ensaio usado é a tensão uniaxial e a ordenação das fibras anisotrópicas seria nessa mesma direção única.

Figura 63-Avaliação do módulo de young na concentração de quitina 0,5% submetidos aos banhos de coagulação: Água destilada (100%), Etanol (30%), Acetona (70%), CaCl₂ (2%).



3.9.7 Avaliação da Viabilidade Celular

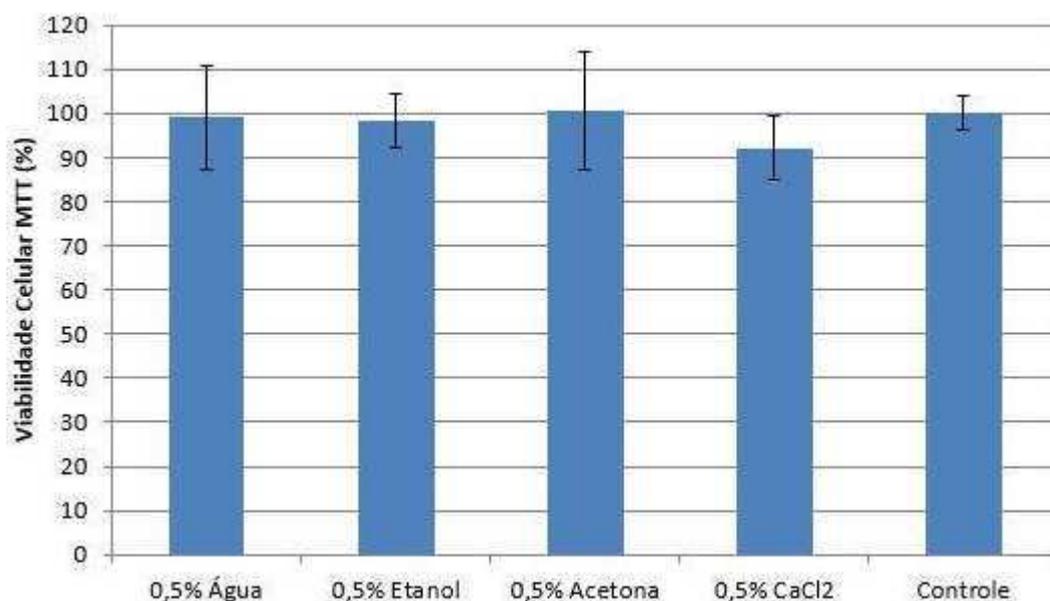
Os testes de citotoxicidade são um importante aspecto dos biomateriais. Para um material ser aplicado como um biomaterial não deve liberar nenhum produto tóxico ou produzir reações adversas, as quais podem ser avaliadas por testes citotóxicos *in vitro* (Li *et al.*, 2009).

Acreditava-se que a utilização do solvente DMAc + LiCl₂ na formação das fibras de quitina poderia conduzir a formação de fios com certa toxicidade, tornando-os, portanto, impróprios para utilização como biomaterial. Com o intuito de avaliar a toxicidade dos fios, o ensaio de citotoxicidade foi realizado.

A Figura 64 demonstra os resultados obtidos para este ensaio. Tem-se que todos os fios na concentração de 0,5% apresentaram uma viabilidade

celular na faixa de aproximadamente 90%, para as amostras submetidas ao banho de coagulação CaCl_2 (2%) a 100%, para as amostras submetidas ao banho de coagulação acetona (70%), segundo a NBR ISO 10993-5:2009 viabilidades celulares maiores ou iguais a 70% indicam um material não citotóxico, o que comprova que nenhuma das fibras produzidas é citotóxica e que os processos subsequentes a formação das fibras, atuaram de forma significativa na retirada do solvente.

Figura 64-- Ensaio de citotoxicidade para a concentração de quitina de 0,5%, submetidos aos banhos de coagulação de água destilada (100%), etanol (30%), acetona (70%), CaCl_2 (2%).



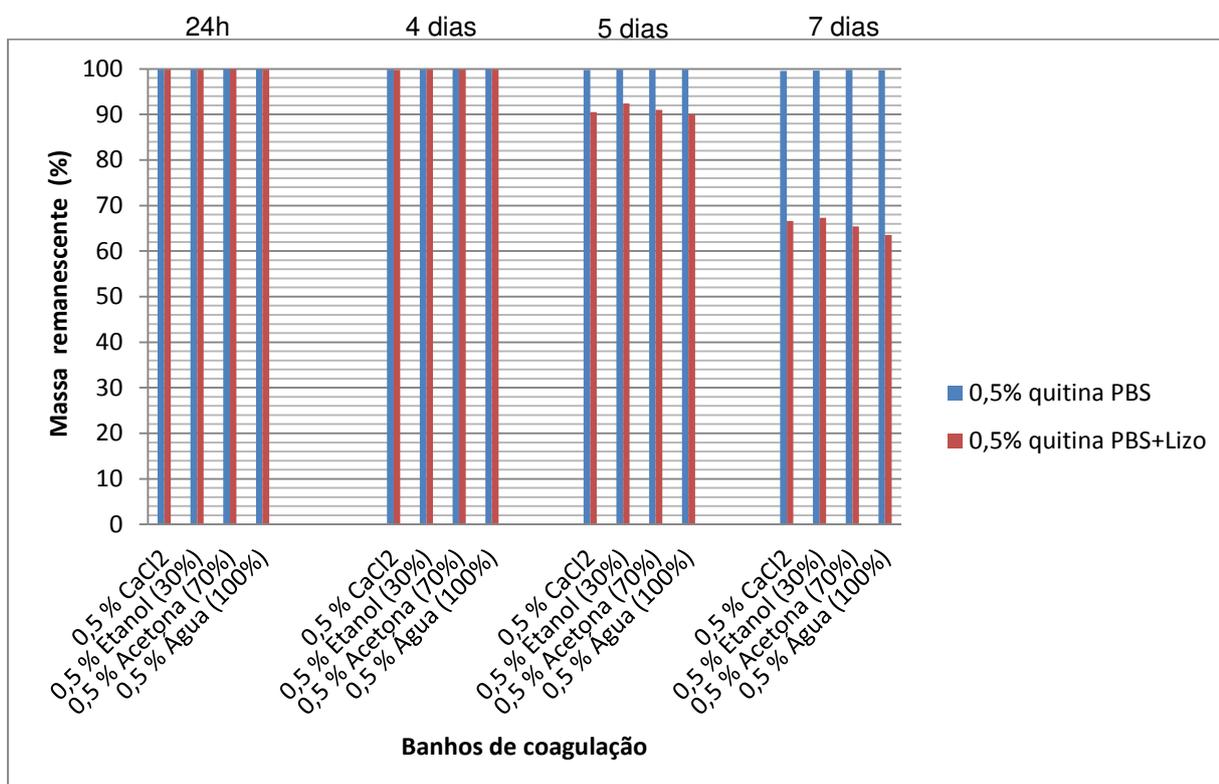
3.9.8 Biodegradação *in vitro*

O ensaio de biodegradação *in vitro* é realizado com o intuito de avaliar a taxa de degradação dos biomateriais quando introduzidos no corpo humano. As amostras são cortadas, embebidas em soluções de PBS + enzima (lisozima) e PBS (phosphate buffered saline), pesadas e então comparadas com a curva em branco (curva PBS). A degradação da quitina por lisozima ocorre através da clivagem da ligação glicosídica entre as unidades de N-acetilglucosamina, a taxa de degradação dependerá da cristalinidade, do peso molecular, estrutura morfológica (Kumar et al., 2011).

O ensaio foi realizado ao longo de sete dias, as amostras foram medidas em: 24h, 4 dias, 5 dias e por fim 7 dias.

A Figura 65 apresenta os resultados para o ensaio em PBS e em PBS+Lisozima, com relação aos percentuais de massa perdido, percebe-se que até 4 dias não há perdas de massa significativa para todas as amostras ensaiadas. A partir do quinto dia temos uma perda de aproximadamente 10% da massa, para as amostras submetidas aos banhos de coagulação CaCl_2 , água destilada (100%), respectivamente. As fibras coaguladas nos banhos de coagulação de acetona (70%) e etanol (30%) apresentaram no quinto dia uma maior perda de massa 8% e 9%, respectivamente. Este comportamento corrobora com os ensaios de intumescimento, onde as fibras coaguladas com solventes orgânicos possuem um menor espaço intersticial entre as cadeias, dificultando a penetração das moléculas de água para o interior da fibra, no caso da biodegradação este comportamento pode ser observado através de uma menor perda de massa das fibras coaguladas neste tipo de solvente, ao passo que as fibras coaguladas em solventes aquosos apresentam uma perda de massa maior.

Figura 65-Resultados do Ensaio de Biodegradação Enzimática para as amostras de 0,5% de quitina submetidas a solução tampão de PBS e solução PBS+Lisozima.



Já é conhecido que na degradação da quitina a lisozima pode clivar especificamente as ligações glicosídicas da quitina, logo serão produzidos como produtos da degradação os monômeros, N-acetil-d-glucosamina e d-glucosamina monômeros, os quais irão aumentar a bioatividade dos materiais (KUMAR *et al.*, 2011). Estes produtos da degradação pelo fato de aumentarem a bioatividade podem atuar também atraindo mais células para o local da cicatrização, logo o polímero degrada ao mesmo tempo em que conduz a um processo de cicatrização mais rápido.

3.10 CONCLUSÕES

O presente trabalho alcançou a proposta de desenvolver fibras de quitina para aplicação como fios de sutura, realizando um estudo destas fibras em diferentes concentrações, através da técnica de *wet spinning* foi possível também determinar a influência dos banhos de coagulação na formação das fibras. A caracterização destas fibras foi de grande importância do ponto de vista futuro da utilização deste produto como um fio de sutura biodegradável. A análise dos resultados das caracterizações propostas permitiu se chegar às seguintes conclusões:

- ✓ As análises de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) confirmaram que não há diferença entre os espectros da quitina pura quando comparados com as fibras submetidas aos banhos de coagulação, pode-se concluir que as fibras produzidas possuem um elevado grau de pureza, o que torna viável a utilização destas fibras como um biomaterial.
- ✓ O estudo morfológico destas fibras realizado por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelou a influência dos banhos de coagulação no diâmetro das fibras. O aumento do pH no banho de coagulação levou a uma neutralização mais rápida das fibras de quitina, conseqüentemente ocorre um fenômeno conhecido como encolhimento ou “shrink” no diâmetro da fibra.
- ✓ Os ensaios de EDS revelaram elementos característicos da estrutura química da quitina, comprovando que os banhos de coagulação interferem quanto a uma neutralização mais rápida ou não, porém não interferem quanto à presença de contaminantes, este é um fator relevante tendo em vista que pode-se comprovar que as fibras são compostas de quitina pura.
- ✓ Através dos ensaios de intumescimento tem-se que as fibras coaguladas com solventes orgânicos, etanol e acetona, possuem menor grau de intumescimento, quando comparadas com as fibras coaguladas em

solventes aquosos. Estes dados corroboram com a análise dimensional realizada nas fibras, tendo em vista que estas apresentaram menores diâmetros. Como citado este comportamento pode ser atribuído a formação de uma estrutura com menor espaço intersticial entre as cadeias, o que dificulta a penetração das moléculas de água para o interior da fibra.

- ✓ Os testes mecânicos realizados não revelaram uma tendência que possa relacionar o aumento da concentração e os solventes orgânicos utilizados. Acredita-se que o aumento da concentração propiciou uma maior formação de defeitos atribuídos à insolubilidade da quitina, esta afirmação corrobora com os resultados de MEV, onde se podem ver claramente porções de quitina não dissolvidas na superfície do material. As fibras na concentração de 0,5% de quitina apresentaram resultados mais coerentes, provavelmente devido a uma melhor solubilização da quitina, levando a uma menor formação de defeitos nesta estrutura.
- ✓ A avaliação da viabilidade celular comprovou que os banhos subsequentes aos banhos de coagulação foram efetivos na extração do solvente, este fato é importante do ponto de vista de utilização deste produto como um biomaterial.
- ✓ Os ensaios de biodegradação corroboram com os resultados encontrados no intumescimento, é provável que uma maior compactação nas cadeias das fibras coaguladas em solventes orgânicos tenha proporcionado uma taxa de biodegradação mais lenta quando comparadas com as outras amostras.

Desta forma, conclui-se que a técnica de wet spinning utilizada demonstrou ser efetiva na obtenção de fibras de quitina, sendo esta considerada uma técnica versátil devido à possibilidade de manipulação de variáveis experimentais como: concentração, banhos utilizados, calibre da agulha, altura na qual a agulha se encontra. Os resultados mostraram que a alteração da

concentração da solução de quitina e os diferentes banhos de coagulação utilizados modificam as propriedades gerais das fibras produzidas.

Algumas das metodologias propostas, como o ensaio mecânico de tração, por exemplo, tiveram de ser adaptadas para atenderem às normas. Torna-se importante, a possibilidade de posterior continuidade das investigações em futuras pesquisas, no que toca o ensaio de tração e outros métodos de ensaios de viabilidade celular e adesão celular.

3.11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALASSA, L.L., PRUDDEN, J.F., Application of chitin and chitosan in wound-healing acceleration. Proceedings of the 1st International Conference on Chitin and Chitosan, p. 296-305, 1977.

BENNETT, R.G., Selection of wound closure materials. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.18, 1988.

BEZWADA, R. S.; JAMIOLKOWSKI, D. D.; LEE I. Y.; AGARWAL, V.; PERSIVALE, J.; TRENKA-BENTHIN, S.; ERNETA, M.; SURYADEVARA, J.; YANG, A.; LIU, S. Monocryl suture, a new ultra-pliable absorbable monofilament suture. **Biomaterials**. Amsterdam; v. 16, n. 15, p.1141-8, 1995.

BIMONTE, D. Reacciones de materiales de sutura usados en cirugía veterinaria. **Veterinaria**, Corrientes v. 33, n. 133, p. 12-14, 1997.

BOURNE, R. B.; BITAR, H.; ANDREAE, P. R. et al. In vivo comparison of four absorbable sutures: Vycril, Dexon plus, Maxon and PDS. **Canadian Journal of Surgery**, Quebec v. 31, n. 1, p. 43-45, 1988.

CAMPANA-FILHO, S.P. *et al*, Extração, Estruturas e Propriedades de α - e β -Quitina *Química Nova*, v. 30, p. 644-650, 2007

CASTRO, H. L.; OKAMOTO, T.; CASTRO, A. L. Reação tecidual a alguns tipos de fios de sutura. Avaliação histológica em ratos **Revista da Faculdade de Odontologia**, Araçatuba, v. 3, n. 1, p. 101-111, 1974.

DESHMUKH, S.P., LI, K., Effect of ethanol composition in water coagulation bath on morphology of PVDF hollow fibre membranes, **Journal of Membrane Science**, v.150, p. 75–85 (1998).

FIDÉLES, T. B. **Filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial**. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande, 2010.

FONTES, M. A. Q. R.; SADI, M. V. Estudo experimental comparativo com fios de sutura absorvíveis em bexiga de cães. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 83-88, 1995.

DUAN, B. et al., High strength films with gas-barrier fabricated from chitin solution dissolved at low temperature **Journal of Materials Chemistry- Royal Society of Chemistry A**, p. 1867-1874, 2013.

FERREIRA, M. L. G. Estudo comparativo entre os fios de ácido poliglicólico e poliglactina na ileocistoplastia em cães (*Canis familiaris*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 12, p.84-88, 2005.

FAO – Food and Agriculture Organization the United Nations (2012). The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, Italy: FAO/UN

GOFFI, F. S.; TOLOSA E. M. C. Operações fundamentais. In: Goffi FS. Técnica Cirúrgica: bases anatômicas, fisiopatológicas e técnicas cirúrgicas. **Roca**, São Paulo, Ed. 4., p. 52-53, 1996.

GUSSO, G.; LOPES, J.M.C.; Tratado de Medicina de Família e Comunidade: 2 volumes: Princípio, Formação e Prática. **Artmed**, Porto Alegre, 2012

OKAMOTO, T., YABUSHITA, H. H.; NAKAMA R. Processo de reparação cutânea após incisão e sutura com fios de poliglactina 910 e poliglicaprone 25: estudo microscópico comparativo em ratos. **Revista de Odontologia**, Araçatuba, v. 24, n. 2, p. 62-67, 2003.

OKAMOTO, YABUSHITA, H. H.; NAKAMA R T. et al. Healing process of the gingival mucosa and dental alveolus following tooth extraction and suture with poly glycolic acid and polyglaction 910 threads: comparative histomorphologic study in rats. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto v. 5, n. 1, p. 35-43, 1994.

PUCCI, L.; PÉRTILE, L. B.; SILVA, P.R.C.; PEREIRA, R.B., Biocerâmica: Características e aplicações. Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia de Materiais, 2002.

KALLÁS, I. E.; KALLÁS, A. C.; CALLAS, E. Anastomoses arteriais: passado, presente e futuro. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 14, n. 4, 1999.

KUMAR, A; SRINIVASANA, SOWMYA; LAKSHMANANA, V; TAMURA,H; NAIR,S.V; JAYAKUMAR, R. Synthesis, characterization and cytocompatibility studies of –chitin hydrogel/nano hydroxyapatite composite scaffolds, **International Journal of Biological Macromolecules**, v.49, p. 20-31, 2011.

LI, Q.; YANG, D.; MA, G.; XU, Q.; CHEN, X.: LU, F.; NIE, J. Synthesis and characterization of chitosan-based hydrogels. , **International Journal of Biological Macromolecules**, v.44, p.121-127, 2009.

LYONS, A.S., PETRUCELLI-II, R.J. Medicine an illustrated history. New York:**Harry Adams**; 1987.

MORGENSTERN, B; KAMMER, H.W., Solvation in cellulose - LiCl - DMAc solutions, **Trends in Polymer Science**, v.4 (3), p.87-92.

MAHARAJ, D; NARAYNSINGH, V; RAMDASS, M., Meta-analysis of techniques for closure of midline abdominal incisions, **British Journal of Surgery**, v.89, 2002.

MAKENZIE, D. The history of sutures. Product Manager da Ethicon Ltd, **Medicine History**, Edimburgo, v. 4, p.158-168, 1973.

MOY RL, WALDMAN B, HEIN, DW., A review of sutures and suturing techniques. *J Dermatol Surg Oncol* 1992;18:785–95.

MEYER, R.D., ANTONINI, C.J., A review of sutures materials, part II. In: *Compendium of CME in dentistry*. Jamesburg Dental Learning Systems Co.; 1989. p. 360–8.

NASCIMENTO, L.F; BARBOSA, M.; SILVA, R.S.A.; CORDEIRO, V.A.; *Estrias*. Ver. *Presonalité*, nº54, Ano X, 2007.

PASSERI, L. A. Observações clínicas sobre o emprego de poliglactina 910 (poli i c ryl) em suturas intrabucais. **Revistada Associação Paulista de Cirurgões Dentistas**, Araçatuba, v. 3, n. 1, p. 5-7, 1982.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in polymer science**, 2009; 34: 641-678.

POIRIER, M.; CHARLET, G., Chitin Franction and characterization in N,N-dimethylacetamide/ lithium chloride solvent system, *Carbohydrate Polymers*, v.50, p.363-370, 2002.

PRENTICE, W.E.; *Fisioterapia na prática esportiva*; McGraw Hill Brasil, 2012. P.795;

RAUH, L.K. Avaliação da atividade antiinflamatória tópica da *Vernonia scorpioides* (Lam) Persons em modelos de inflamação cutânea em camundongos. 2008. 120 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

ROSSI, L. F.; RAMOS, R. R.; KESTERING, D. M.; SOLDI, M. S.; JORGE BINSV VI, ELY D'ACAMPORA A. J. Tensile strength study of the abdominal wall

following laparotomy synthesis using three types of surgical wires in Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 69– 73, 2008.

SAITO, C. T. M. H.; Bernabé, P. F. E.; Okamoto, R.; Okamoto, T. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos aos fios de sutura poliglecaprone 25 (monocryl) e poliglactina 910 (vicryl). **Salusvita**, Bauru, v. 26, n. 2, p. 27-38, 2006.

SCHAUFFERT, M. D.; SIMOES, M. J.; NOVO, N. F.; GOMES, P. O.; ORTIZ, V. Estudo da ação dos fios de catgut cromado e de poliglecaprone 25, na ileocistoplastia em ratos, destacando-se a formação de cálculos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 23-26, 2000.

SCHMITT, Fernando. Regeneração e Cicatrização – Aula de Biopatologia, 16 de out. de 2006. 12 f. Notas de Aula.

SKINOVSKY, J. Influência da nicotina na cicatrização de anastomoses do intestino Delgado em ratos: angiogênese e miofibroblasto. Curitiba, 2005. Dissertação (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

SLATER, D. Manual de cirurgia de pequenos animais. 2.ed. São Paulo: **Manole**, 1998. v.1, c.52, p.898-902.

Ammirati CT. Advances in wound closure material. In: James WD, editor. *Advances in dermatology*, 18. St. Louis (MO): Mosby; 2002. p. 313–38.

VASCONCELOS, C. L., BEZERRIL, P. M., M. R. PEREIRA, M. F., FONSECA J. L. C. G, Viscosity–temperature behavior of chitin solutions using lithium chloride/DMA as solvent, *Carbohydrate Research*, v.346 (5), pp. 614–618, 2011.

CAPÍTULO IV
PERSPECTIVAS FUTURAS

4 PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho teve como principal objetivo o aproveitamento de resíduos alimentares, neste caso a casca de camarão, visando a partir desta, produzir a matérias-primas para o desenvolvimento de fibras, visando sua aplicação como um fio de sutura biodegradável, viabilizando a utilização destas fibras em dispositivos médicos devido à sua pureza de grau médico.

Com o objetivo realizado, e o reaproveitamento de resíduos da indústria pesqueira considera-se que as metodologias estabelecidas no trabalho acadêmico tiveram sucesso do ponto de vista da extração de quitina a partir da casca do camarão. Portanto, o estudo se justifica e se faz relevante.

É importante ressaltar a necessidade de se desenvolverem trabalhos sobre essa espécie *Litopenaeus vannamei*, para esta aplicação. O que por si já traduz o seu valor, tanto do ponto de vista acadêmico quanto para a área geográfica em questão, o Nordeste Brasileiro, que produz este resíduo em grande escala gerados pelo beneficiamento do camarão.

Acrescenta-se ainda a impossibilidade de realizar um estudo reológico sobre as soluções utilizadas. Tal estudo daria informações importantes a respeito do peso molecular da quitina obtida em laboratório, bem como informações sobre qual a concentração da formação de gel, sendo as concentrações abaixo deste ponto mais indicadas para o uso no presente trabalho. Sabe-se que solubilidade da quitina é dependente do peso molecular e aumenta com a diminuição do comprimento da cadeia. Baseado no fato de que alguns artigos estabelecem um range de solubilidade da quitina grande, torna-se necessário um estudo mais preciso a respeito do estado sol-gel das soluções de quitina + DMAc/LiCl.

Do ponto de vista de processamento alternativa viável seria estudar a secagem destas fibras em temperaturas elevadas. Mohammad *et al.*,2013 têm relatado que a secagem das fibras em temperaturas elevadas é uma alternativa, pois causam mudanças significativas na microestrutura, possivelmente um “recozimento” das fibras, iria melhorar as suas propriedades mecânicas, devido à rápida formação da microestrutura cristalina.