NIKOLAS SINJI HARADA

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS COMPÓSITAS DE POLIURETANO PELO
PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO

São Paulo
2014

NIKOLAS SINJI HARADA

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS COMPÓSITAS DE POLIURETANO PELO
PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

São Paulo
2014

NIKOLAS SINJI HARADA

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS COMPÓSITAS DE POLIURETANO PELO
PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Área de Concentração:
Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Orientadora: Prof^a. Livre-Docente Wang
Shu Hui

São Paulo
2014

AGRADECIMENTOS

À professora Wang Shu Hui pela orientação e pelo constante estímulo durante todo o trabalho.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo pelo suporte durante a realização deste trabalho.

Ao Fernando José Costa Baratéla e à Prof^a Dr^a Olga Zazuco Higa, pela realização dos ensaios de citotoxicidade dos materiais analisados neste trabalho.

Aos amigos Bruno Geoffroy Scuracchio, Camila Pires Scuracchio, Cláudia Cristina de Souza Almeida e a todos que colaboraram direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de um novo material nanocompósito com propriedades biocidas, alta porosidade e alta permeabilidade ao ar, possibilitando sua aplicação na área biomédica. Neste trabalho, foram desenvolvidas membranas compósitas de poliuretano termoplástico (TPU) contendo prata (Ag) e óxido de zinco (ZnO), a partir da evaporação de soluções durante o processo de eletrofiação. Mediu-se as propriedades de viscosidade e de condutividade elétrica das soluções preparadas para eletrofiação. Avaliou-se a modificação da morfologia do material pelo uso de vários solventes em diferentes concentrações. Uma morfologia mais uniforme das membranas contendo fibras eletrofiadas foi obtida com o sistema de solventes tetra-hidrofurano (THF) e dimetilformamida (DMF), na proporção de 50:50. A avaliação da morfologia e da distribuição da fase dispersa inorgânica nas membranas foi efetuada utilizando-se microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), e a formação de fibras com diâmetros na faixa de 250 a 800 nanômetros foi observada. As fases dispersas apresentaram-se distribuídas na membrana, sem a presença de regiões de aglomeração. A presença de prata ou de óxido de zinco nas membranas eletrofiadas foi confirmada através da espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) e por difratometria de raios-X. As propriedades bactericidas das membranas compósitas de TPU/ZnO e TPU/Ag foram avaliadas e estabelecidas em testes com as bactérias *S. aureus* e *K. pneumoniae*. O teste de citotoxicidade das membranas de TPU foi executado e numa avaliação inicial foi observada a sua biocompatibilidade.

Palavras-chave: Eletrofiação. Óxido de zinco. Prata. Poliuretano. Biomateriais.

ABSTRACT

The aim of this study is to develop nanostructured polyurethane composite membranes which have antibacterial properties, high porosity and high air permeability, suitable for medical applications. Membranes of thermoplastic polyurethane (TPU) having silver and zinc oxide particles as additives were prepared by electrospinning. The impact of the solvents nature on the electrospinning process was studied. The best results were obtained using a mixture of tetrahydrofuran (THF) and dimethylformamide (DMF), at 50:50 ratio. Viscosity and electrical conductivity of the solutions were measured. Morphology of the membranes formed by the fibers was verified using optical microscopy and scanning electron microscopy, and fibers presenting diameters from 250 to 800 nanometers were observed. The presence of silver and zinc oxide particles in the membranes was confirmed using energy dispersive X-ray spectrometry and wide angle X-ray diffractometry. Antibacterial properties of the membranes were evaluated by testing its activity against suspensions of *S. aureus* and *K. pneumoniae*. Additionally, cytotoxicity tests were performed for initial evaluation of the biocompatibility of the TPU membranes having silver as additive.

Keywords: Electrospinning. Zinc Oxide. Silver. Polyurethane. Biomaterials.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ilustração esquemática da estrutura do TPU.	17
Figura 2: Grupo uretano.	17
Figura 3: Representação esquemática dos componentes da estrutura do TPU.	18
Figura 4: Formação do grupo uretano no TPU.	19
Figura 5: Representação esquemática do Cone de Taylor.	23
Figura 6: Sistema de eletrofiação.	24
Figura 7: Fluxograma de estratégia utilizada para eletrofiação de TPU (adaptado de “ <i>Electrospinning nanofiber flowchart</i> ” – Disponível em: electrospintech.com/espflowchart.html , acesso em 09/02/2014).	27
Figura 8: Número de publicações anuais sobre a eletrofiação, de acordo com levantamento feito no banco de dados Scopus (palavra-chave: “ <i>electrospinning</i> ”)...28	
Figura 9: Porcentagem de publicações por país, de acordo com levantamento feito no banco de dados Scopus (palavra-chave: “ <i>electrospinning</i> ”), no período do ano 2000 até 2013.	29
Figura 10: Diagrama esquemático do viscosímetro rotacional (31).	31
Figura 11: Diagrama esquemático do condutivímetro de eletrodos (32).	32
Figura 12: Representação esquemática do MEV (33).	34
Figura 13: Representação da Lei de Bragg: (a) Interferência construtiva; (b) Interferência destrutiva (34).	36
Figura 14: Representação esquemática do equipamento de difração de raios-X. T = Gerador de raios-X; S = amostra analisada; C = detector de raios-X; O = Eixo no qual a amostra e o detector giram (22).	37
Figura 15: Bomba de infusão de líquido.	41
Figura 16: Fonte de tensão	41
Figura 17: Placa coletora aterrada	42
Figura 18: Ponto de ejeção	42
Figura 19: Fluxograma da preparação das soluções de TPU.	43
Figura 20: Fluxograma do processo de eletrofiação das membranas de TPU.	45
Figura 21: Microscopia ótica do TPU eletrofiado com aumento de 1000x.	55

Figura 22: Microscopia ótica do TPU com 0,15% de prata eletrofiado com aumento de 1000x.....	56
Figura 23: Microscopia ótica do TPU com 0,35% de prata eletrofiado com aumento de 1000x.....	56
Figura 24: Microscopia ótica do TPU com 5% de óxido de zinco eletrofiado com aumento de 1000x.....	57
Figura 25: Microscopia ótica da folha de alumínio utilizada como superfície de deposição.....	58
Figura 26: Microfotografia do TPU eletrofiado, com aumento de 5.000x.	59
Figura 27: Microfotografia do TPU com 0,15% de prata, com aumento de 5.000x. ..	59
Figura 28: Microfotografia do TPU com 0,15% de prata, com aumento de 25.000x. 60	
Figura 29: Microfotografia do TPU com 0,35% de prata, com aumento de 5.000x. ..	61
Figura 30: Microfotografia do TPU com 0,35% de prata, com aumento de 25.000x. 61	
Figura 31: Microfotografia do TPU com 5% de óxido de zinco, com aumento de 5.000x.	62
Figura 32: Microfotografia do TPU com 5% de óxido de zinco, com aumento de 25.000x.	62
Figura 33: Pó de prata visualizado por MEV, com aumento de 500x.....	66
Figura 34: Pó de óxido de zinco visualizado por MEV, com aumento de 250x.	66
Figura 35: Espectro EDS do pó de prata.....	67
Figura 36: Espectro EDS do pó de óxido de zinco.	68
Figura 37: Espectro EDS do TPU/Ag 0,35%.	70
Figura 38: Espectro EDS do TPU/ZnO 5%.....	71
Figura 39: Difratoograma comparativo das membranas eletrofiadas.....	72
Figura 40: Curvas DSC do ciclo de aquecimento das membranas eletrofiadas.....	73
Figura 41: Curvas DSC na região da T _g dos segmentos flexíveis das membranas eletrofiadas.....	75
Figura 42: Curvas DSC na região da T _g dos segmentos rígidos das membranas eletrofiadas.....	75
Figura 43: Curvas DSC na região da T _m das membranas eletrofiadas.	77
Figura 44: Curvas DSC do ciclo de resfriamento das membranas eletrofiadas	78
Figura 45: Curvas TG do TPU, do TPU/Ag 0,15% e do TPU/Ag 0,35%.....	80
Figura 46: Curvas TG do TPU e do TPU/ZnO 5%.....	82
Figura 47: Curvas de avaliação de citotoxicidade do TPU e controles.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios de viscosidade das soluções utilizadas na eletrofiação...	52
Tabela 2: Resultados de condutividade elétrica das soluções preparadas com DMF:THF.....	53
Tabela 3: Soluções compósitas de poliuretano preparadas para o estudo.....	53
Tabela 4: Parâmetros utilizados durante o processo de eletrofiação.....	54
Tabela 5: Diâmetros das fibras eletrofiadas.....	63
Tabela 6: Faixa de diâmetros da fibras eletrofiadas.....	64
Tabela 7: Resultado dos testes da ação biocida utilizando bactéria <i>S.aureus</i>	83
Tabela 8: Resultado dos testes da ação biocida utilizando bactéria <i>K. pneumoniae</i> . 83	
Tabela A.1: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU.....	93
Tabela A.2: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU/Ag 0,15%.	93
Tabela A.3: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU/Ag 0,35%.	94
Tabela A.4: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU/ZnO 5%. 94	
Tabela A.5: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de Ticp (Controle Negativo).	95
Tabela A.6: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de Fenol (Controle Positivo).....	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AATCC	American Association of Textile Chemists and Colorists
Ag	Prata
ATCC	American Type Culture Collection Bank
CHO	Célula de Ovário de Hamster Chinês
DMF	Dimetilformamida
DSC	Calorímetro Diferencial Exploratório
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MO	Microscopia Ótica
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
TG	Termogravimetria
THF	Tetra-Hidrofurano
TPE	Elastômero Termoplástico
TPU	Poliuretano Termoplástico
UFC	Unidade Formadora de Colônia
ZnO	Óxido de Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. BIOMATERIAIS	14
2.2. BIOCOMPATIBILIDADE	15
2.3. POLIURETANO TERMOPLÁSTICO	16
2.4. PRATA	20
2.5. ÓXIDO DE ZINCO	21
2.6. PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO	22
2.7. VISCOSIMETRIA	29
2.8. CONDUTIVIMETRIA	32
2.9. SISTEMA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA / ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (MEV-EDS)	33
2.10. DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X	35
2.11. ANÁLISES TÉRMICAS	37
2.11.1. CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)	38
2.11.2. TERMOGRAVIMETRIA (TG)	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1. SOLVENTES E REAGENTES	40
3.2. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	40
3.3. MÉTODOS	42
3.3.1. Preparação das soluções de TPU	42
3.4. ENSAIO DE VISCOSIDADE	44
3.5. ENSAIO DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	44
3.6. ELETROFIAÇÃO	44
3.7. MICROSCOPIA ÓTICA (MO)	46
3.8. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	46
3.9. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	47
3.10. CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)	47
3.11. TERMOGRAVIMETRIA (TG)	47
3.12. ENSAIO DE AÇÃO BIOCIDA	48

3.13. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1. VISCOSIMETRIA.....	52
4.2. CONDUTIVIDADE ELÉTRICA.....	52
4.3. PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS	53
4.4. MICROSCOPIA ÓTICA (MO)	54
4.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	58
4.6. CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE PRATA E ÓXIDO DE ZINCO ..	65
4.7. ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS.....	69
4.8. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS	71
4.9. CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC).....	73
4.10. TERMOGRAVIMETRIA (TG).....	78
4.11. TESTES DE AÇÃO BIOCIDA	82
4.12. TESTE DE CITOTOXICIDADE	84
5. CONCLUSÕES	86
APÊNDICE A – RESULTADO DOS TESTES DE CITOTOXICIDADE.	93

1. INTRODUÇÃO

Os materiais compósitos são aqueles constituídos de fases diferentes que são separadas por uma interface, com propriedades químicas e/ou físicas distintas. O objetivo de se combinar materiais com estas características é, justamente, a obtenção de uma nova classe, que apresente uma mescla destas propriedades e que não seria possível encontrar em materiais convencionais. Normalmente, os materiais compósitos apresentam duas fases, sendo que elas podem ser classificadas como matriz, que é a fase contínua e que circunda o outro material, denominada fase dispersa (1).

A aplicação de nanotecnologia, associada aos materiais compósitos, permite o desenvolvimento de novos materiais com melhores propriedades em relação aos já existentes. Membranas contendo fibras em escala nanométrica possuem alto grau de porosidade, permitindo melhor transpiração da pele, aliado ao alto valor de área superficial por volume de material, que possibilita uma ação mais eficaz com menor quantidade de aditivo.

Nos últimos anos, diversos trabalhos sobre materiais compósitos nanométricos na área médica e esportiva foram produzidos. Um exemplo das aplicações na área médica é o recobrimento de feridas para acelerar o tempo de recuperação do tecido danificado, além de reduzir o risco de contaminação do local ferido e permitir que haja respiração do tecido (2). Na área esportiva, os materiais compósitos são aplicados nas vestimentas utilizadas por esportistas. Estes materiais aliam diversas características diferentes, associando melhor desempenho aerodinâmico com maior conforto, menor retenção da transpiração da pele, menor taxa de absorção e retenção do suor, redução do peso carregado pelo atleta, propriedades anti-alergênicas, dentre outros (3). Desta forma, observa-se que as características dos materiais utilizados na área médica e na área esportiva são similares, possibilitando o desenvolvimento de um mesmo material que atenda às necessidades de ambos os setores.

Considerando as classes de materiais compósitos, diversos tipos de matrizes podem ser utilizados, estando incluso neste grupo o poliuretano termoplástico (TPU). O TPU

possui características interessantes para o uso como recobrimento em feridas secas ou com baixa exsudação (4).

Para a aplicação na área médica ou esportiva, aditivos inorgânicos são adicionados como material disperso na matriz polimérica. Partículas de prata e de óxido de zinco são utilizadas devido às suas propriedades de atividade biocida, inibindo o crescimento de bactérias (5,6).

A eletrofiação é um dos processos utilizados para se unir as propriedades da matriz polimérica e dos aditivos inorgânicos. Através da eletrofiação, pode-se obter materiais com características muito particulares como nanofibras de material compósito de alta porosidade, em forma de filmes autossuportados ou depositados sobre outros materiais.

Atualmente há um grande interesse na utilização do processo de eletrofiação para obtenção de fibras nanométricas com diversos materiais biodegradáveis e biomateriais. A possibilidade de se obter produtos eletrofiados com complexos formatos bidimensionais e tridimensionais é alvo de estudo de inúmeros cientistas. Além disto, busca-se uma morfologia das membranas eletrofiadas com fibras orientadas para melhorar suas propriedades mecânicas. Para atingir este objetivo, modificações no sistema de eletrofiação estão sendo estudados. Estas modificações envolvem a utilização de corrente alternada na fonte de tensão, ao invés da tradicional corrente contínua, a utilização de diversos meios de coleta das fibras eletrofiadas, como banhos de água, superfícies rotativas e coletoras eletrocondutivas, e combinação da eletrofiação com outros métodos de processamento de polímeros como extrusão ou modelamento em impressora 3D (7).

O trabalho apresenta tema de pesquisa de grande interesse científico e tecnológico e tem o objetivo de obter materiais compósitos que apresentem potencial para utilização em contato com o corpo humano com aplicação nas indústrias médica e farmacêutica, ou como material de fabricação de vestimentas esportivas que possuem propriedades que melhorem o conforto do atleta. O trabalho enfocou o processamento do poliuretano termoplástico (TPU) utilizando-se o processo de eletrofiação e a caracterização de membranas poliméricas para uso em aplicações que envolvessem ação biocida. Buscou-se a ação biocida do material através da utilização de aditivos como a prata e o óxido de zinco na solução polimérica. Avaliou-se as propriedades das soluções que influem diretamente no processo de eletrofiação. Observou-se as características morfológicas das membranas

eletrofiadas, além da confirmação da presença dos aditivos no material processado. Comparou-se a eficiência da ação biocida das membranas eletrofiadas através de ensaios de contato com bactérias e avaliou-se as propriedades de biocompatibilidade do material aditivado através de ensaios de citotoxicidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BIOMATERIAIS

Uma definição simples de biomateriais é a de que são materiais usados em contato com sistemas biológicos. Seu estudo envolve diversos aspectos de diferentes ciências como a medicina, a biologia, a química e a ciência dos materiais. Para melhor entendimento da ciência dos biomateriais, uma definição essencial é a de biocompatibilidade. A interação entre os sistemas biológicos e os materiais, a extensão da reação biológica e a eficiência de seu desempenho durante o uso definem o que chamamos de biocompatibilidade. A utilização dos biomateriais remete ao início da história da civilização humana. Os primeiros sinais de utilização de materiais em contato com o corpo humano foram observados na civilização egípcia, utilizando-se suturas para fechamento de grandes feridas. Com o passar dos séculos, outras aplicações foram desenvolvidas como a utilização de materiais metálicos em próteses dentárias, a fabricação de lentes de contato em vidro, próteses de joelho e até sistemas de circulação sanguínea extracorpórea. Porém, houve um grande salto no desenvolvimento dos biomateriais após a II Guerra Mundial, com a aplicação de diversos materiais de alto desempenho restritos à indústria bélica em outras áreas, inclusive a médica. Novamente, na década de 1960, verificou-se um grande salto na área dos biomateriais, desta vez, no desenvolvimento de materiais para uso específico como biomateriais, como o silicone, poliuretano, hidrogel, hidroxiapatita, titânio, etc (1). É uma área do desenvolvimento de materiais em que há multidisciplinaridade, sendo campo de atuação de engenheiros, biólogos, farmacêuticos, médicos, matemáticos, dentre outros profissionais das mais diversas áreas.

As membranas poliméricas são extensamente utilizadas como biomateriais. Suas aplicações vão desde pele artificial, ataduras para regeneração rápida de feridas, balões utilizados para armação de *stents* coronários, balão de angioplastia, fixação de catéteres de alimentação parenteral por gastrostomia, balões intra-gástricos,

bandas gástricas, etc. Os principais materiais utilizados para tais aplicações são: poliuretano, polipropileno, polimetacrilato de metila, dentre outros (4).

No campo de biomateriais, os materiais compósitos são os que apresentam maior versatilidade devido às propriedades que podem ser obtidas ao se aliar os diferentes tipos de materiais no desenvolvimento de produtos com melhores características de biocompatibilidade e de maior mimetismo das funções biológicas.

Como material em dispersão na matriz polimérica, a prata é vastamente utilizada nas mais diversas áreas devido às suas propriedades de ação biocida, mesmo em pequenas quantidades. É um material que inibe o crescimento de bactérias e também a sua proliferação quando depositado sobre uma colônia já formada (5). Recentemente, foram relatados diversos estudos mostrando a utilização de óxido de zinco com a mesma função biocida da prata (6).

2.2. BIOCOMPATIBILIDADE

A classificação de um material como biocompatível é determinada através de diversos testes, sendo a norma internacional ISO 10993 - *Biological evaluation of medical devices* - um dos guias existentes para realização destes ensaios. Os tipos de ensaio a serem realizados dependem do tempo de duração do contato do material com o corpo humano e também do tipo deste contato. Em relação ao tempo de contato, a classificação se divide em: materiais com tempo limitado de contato, isto é, o tempo máximo do material em contato com o corpo ou seus fluidos é inferior a 24 horas; materiais com tempo prolongado de contato, isto é, o tempo de contato varia entre 24 horas e 30 dias; e materiais com contato permanente com o corpo, isto é, o tempo de contato é superior a 30 dias. O tipo de contato do material com o corpo humano, direta ou indiretamente, leva à classificação dos materiais de acordo com a aplicação, em: dispositivos sem contato com o corpo; dispositivos que entram em contato com superfícies do corpo (pele, mucosas ou tecidos avariados); dispositivos com comunicação externa (sistemas de drenagem, circulador de sangue extra-corpóreo, laparoscópios, conjuntos intra-venosos, etc); e dispositivos

implantáveis (em contato com tecidos, ossos e sangue). A Tabela 1 da norma ISO 10993 parte 1 (ISO 10993 – 1:2003 - *Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing.*) apresenta de forma simplificada quais os testes a serem realizados para avaliação de biocompatibilidade, dependendo dos fatores citados, tempo de contato e tipo de contato. Um deles avalia a toxicidade celular, isto é, a citotoxicidade do material, tratada com maiores detalhes na parte 5 da ISO 10993 (ISO 10993-5: *Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*) (8).

2.3. POLIURETANO TERMOPLÁSTICO

A utilização de filmes poliméricos na área médica é muito ampla e variada. Uma das aplicações é no recobrimento de feridas para acelerar o tempo de recuperação do tecido danificado, além de reduzir o risco de contaminação do local ferido e permitir que haja respiração do tecido. Há uma gama muito grande de tipos de polímeros utilizados para esta aplicação. Dentro deste universo, um dos materiais que se destaca são os elastômeros termoplásticos (TPE). Este tipo de polímero sintético apresenta as propriedades elastoméricas combinadas com a processabilidade dos materiais termoplásticos. Estas características são obtidas através da copolimerização em bloco ou formação de uma blenda de uma fase elastomérica e uma fase mais resistente. A fase elastomérica é o segmento flexível do material e a fase polimérica resistente, o segmento rígido

Diferente dos elastômeros, os TPE's não apresentam ligações cruzadas entre cadeias, que não podem ser desfeitas sem a degradação do material. No caso dos TPE's, as ligações físicas entre cadeias elastoméricas (matriz do copolímero) são feitas pela fase polimérica rígida presente (fase com temperatura elevada de transição) (Figura 1). Esta propriedade garante ao material a possibilidade de desfazer-se das ligações físicas, utilizando-se de solventes específicos ou através do aumento da temperatura, permitindo o seu reproprocessamento (9, 10).

Figura 1: Ilustração esquemática da estrutura do TPU.

Os poliuretanos termoplásticos (TPU) são polímeros lineares formados por poliadição, que pertencem ao grupo de materiais que possuem fases poliméricas agregadas e elastoméricas dispersas. Os TPU's são assim chamados por envolverem o grupo uretano (Figura 2) na sua polimerização. O grupo uretano é constituído quimicamente por 1 átomo de hidrogênio, 1 átomo de carbono, 1 átomo de nitrogênio e 2 átomos de oxigênio. A estrutura química do TPU é formada a partir de três componentes básicos: um diol de cadeia longa, um diisocianato e um diol de cadeia curta (também chamado de extensor de cadeia).

Figura 2: Grupo uretano.

O diol de cadeia longa e o diol de cadeia curta reagem com o diisocianato para formarem, respectivamente, o segmento flexível e o segmento rígido do TPU (Figura 3).

Figura 3: Representação esquemática dos componentes da estrutura do TPU.

Os dióis são compostos químicos que apresentam grupamentos OH nas extremidades da cadeia. Dentre os tipos de diol de cadeia longa que podem ser utilizados na polimerização do TPU, duas classes se destacam: os ésteres, que formam o poliéster-poliuretano e os éteres, que forma o poliéter-poliuretano. O grupamento éster, devido à sua polaridade, faz com que o poliéster poliuretano tenha uma boa compatibilidade com outros polímeros polares e também resistência ao ataque de óleos. Porém, devido à presença deste grupamento, este material é mais suscetível à degradação microbiana e à hidrólise. Ao contrário dos TPU's de poliéster, os poliéteres-poliuretanos apresentam melhor resistência à degradação microbiana e à hidrólise.

Os diisocianatos são compostos que apresentam dois grupamentos NCO. Os isocianatos aromáticos mais comuns utilizados na síntese de TPU são o MDI (difenil metano diisocianato) e o TDI (tolueno diisocianato). Há também os isocianatos alifáticos como o HDI (hexametileno diisocianato), o IPDI (isoforona diisocianato), o HMDI (díciclohexilmetano diisocianato) e o TMXDI (meta-tetrametilxileno diisocianato). Devido às características dos grupos aromáticos, os TPU formados por isocianatos aromáticos apresentam um amarelamento em sua coloração com o passar do tempo. Esta mudança de cor não afeta suas propriedades mecânicas, mas, em aplicações onde o aspecto visual é importante, há preferência pela utilização de isocianatos alifáticos.

Os dióis de cadeia curta ou extensores de cadeia apresentam baixa massa molar. Podem ser utilizados, como extensores de cadeia, o etileno glicol, o propileno glicol e a glicerina. Os dióis de cadeia curta reagem com os diisocianatos para formação de segmentos rígidos de poliuretano, responsáveis pela fase rígida do TPU (11) (Figura 4). Estes segmentos rígidos interagem entre si através de ligações secundárias (pontes de hidrogênio), formando regiões de alta densidade de grupamentos uretano, com alta polaridade. Esta atração entre estes segmentos leva a uma elevada ordenação desta fase, originando regiões de elevada rigidez que agem como ligações cruzadas físicas.

Figura 4: Formação do grupo uretano no TPU.

O poliuretano termoplástico é um dos materiais poliméricos mais utilizados em feridas secas ou com baixa exsudação. Este material apresenta biocompatibilidade, boa permeabilidade a gases, a flexibilidade necessária para permitir distensão e contração dos tecidos epidérmicos sem que haja dificuldade imposta pelas propriedades mecânicas do filme e transparência que possibilite visualizar a recuperação do tecido danificado (2).

2.4. PRATA

Os compostos de prata são vastamente utilizados na área da saúde. Suas aplicações vão desde a fabricação de amálgamas de prata para obturações dentárias, no passado, ao uso tópico de pomadas contendo prata para evitar infecções em locais que sofreram queimaduras, bem como material para confecção de cartuchos de filtragem de água e aditivo na fabricação de catéteres e dispositivos médicos, dentre outras. Todas estas aplicações se dão devido à propriedade que a prata possui de ser um agente biocida e não apresentar um comportamento tóxico ao ser humano (12-14).

O mecanismo de ação da prata sobre as bactérias é entendido apenas parcialmente. Sabe-se que a prata metálica é ionizada pelas moléculas de água, liberando íons Ag^+ que agem sobre a parede celular das bactérias, através de ligações químicas com grupos doadores de elétrons contendo oxigênio, nitrogênio e enxofre das proteínas das bactérias. Estas ligações impedem que haja a respiração celular e provocam alterações nas paredes celulares e membranas nucleares, levando à sua morte (3,12-14,16). As paredes celulares são as responsáveis pela resistência das bactérias a ação dos antibióticos e a presença de íons de prata, por atacá-las, potencializa o efeito destes fármacos (16).

A prata utilizada nas aplicações médicas apresenta diversos formatos, sendo comum o uso de nitrato de prata. Outras formas utilizadas são a sulfadiazina de prata pura ou sua composição com outro componente como a clorexidina (13). Nos casos em que há formação de material compósito, a prata pode ser adicionada ao material da matriz em solução através de diversos processos. Um destes processos, utiliza-se da solução preparada por Walker e Lewis, baseado no processo Tollens (15). Este processo foi desenvolvido para preparo de tinta de prata reativa para desenhar trilhas condutoras de eletricidade em placas de circuito elétrico. A matéria-prima base é o acetato de prata, que é dissolvido em solução de hidróxido de amônio e ácido fórmico, formando-se uma solução de prata reativa que ao secar forma a prata metálica. Neste trabalho foi utilizada esta tinta de prata adicionada a uma solução polimérica, formando soluções estáveis que permitiram confeccionar membranas fibrosas compósitas através do processo de eletrofiação. Membranas a

base de TPU e prata foram anteriormente obtidas a partir de soluções contendo AgNO_3 (17,18).

2.5. ÓXIDO DE ZINCO

O óxido de zinco é comumente utilizado em formulações de produtos de saúde como um bloqueador de raios ultravioleta (UV), como nos casos de filtros solares para pele. Além desta função, outros fatores muito importantes para sua utilização são a sua não toxicidade, sua ação antimicrobiana e suas propriedades anti-estáticas, dentre outras (16,19).

A sua ação antimicrobiana ainda não é completamente compreendida. Há estudos (16,20) que relatam que a geração de defeitos microestruturais (pares elétron-lacuna) ativados pela luz visível e pela radiação ultravioleta causam a separação de moléculas de água em OH^- e H^+ , na superfície do óxido de zinco. As moléculas de oxigênio dissolvidas são transformadas em ânions de radical superóxido, que reagem com o H^+ , gerando ânions hidroperóxidos (HO_2^-). Novamente, após reação com íons de hidrogênio, há a formação de peróxido de hidrogênio, responsável pela destruição do microorganismo. Este mecanismo de ação é altamente dependente da área superficial do óxido de zinco.

As propriedades de bloqueio de raios ultravioleta do óxido de zinco também são decorrentes da geração de defeitos microestruturais. Quando os raios UV incidem sobre o óxido de zinco, os elétrons da banda de valência absorvem a energia dos fótons incidentes, passam para a banda de condução, criando assim um par de defeitos elétron-lacuna. Este par de defeitos interage com outros pares, fazendo-os retornar à banda de valência, emitindo energia. Desta forma, o óxido de zinco consegue bloquear parte da radiação UV (UV-A e UV-B) que o atinge (21).

Assim como a prata, o óxido de zinco possui ação antimicrobiana. Para se conseguir a mesma redução de concentração de bactérias, porém, a quantidade de óxido de zinco necessária em comparação com a prata é muito maior (6). Lee relata que a ação antimicrobiana de poliuretano eletrofiado com 5% em massa de óxido de zinco é similar à do poliuretano eletrofiado com 0,5% em massa de partículas de prata.

2.6. PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO

O processamento dos materiais poliméricos pode ser feito por diversos métodos diferentes, como injeção, extrusão, termoformagem, etc (22). Uma das formas não-usuais de processamento de polímeros é a eletrofiação. A eletrofiação é um processo para obtenção de fibras poliméricas, de diâmetros na ordem de micrômetros até nanômetros, a partir de polímeros em solução ou polímeros fundidos. Aplica-se uma elevada tensão elétrica no material fundido ou em solução. Esta tensão é aplicada entre um condutor metálico vasado, de cuja ponta sai a solução do material, e um anteparo sobre o qual se depositarão as fibras eletrofiadas. Nesta ponta do condutor metálico, a solução sob tensão elétrica deforma-se, adquirindo o formato do assim chamado cone de Taylor. Seu nome é uma homenagem a Sir Geoffrey Taylor. Taylor (1964) verificou que o potencial elétrico para formação de um jato de líquido saindo por um capilar obedece a função de Legendre de ordem $\frac{1}{2}$, conforme a eq. (1) (23).

$$V = V_0 + AR^{\frac{1}{2}}P_{\frac{1}{2}}(\cos \theta) \quad \text{eq. (1)}$$

onde:

$V = V_0$: Potencial do campo elétrico para o cone se manter em equilíbrio

A = Área superficial do cone

$P_{1/2}(\cos \theta)$ = função de Legendre de ordem $\frac{1}{2}$.

Para que haja equilíbrio entre a tensão superficial do líquido e o gradiente de potencial elétrico em ação, a eq. (1) deve resultar em $V = V_0$. Esta condição só é alcançada para quando a função de Legendre de ordem $\frac{1}{2}$ possui valor igual a 0, isto é, quando o ângulo vale $49,3^\circ$ em relação ao eixo central do capilar. Neste estado de equilíbrio, há a liberação contínua de um jato de material na ponta do cone formado. Durante a aplicação da tensão elétrica, o ângulo do cone apresenta

oscilação dimensional decorrente da saída de material da superfície equipotencial, afetando as regiões vizinhas (23). Na ponta do cone de Taylor o material carregado eletricamente é atraído por uma placa aterrada, formando um jato de material. Na transição entre a ponta do conduto e a placa aterrada, há solidificação do material com a evaporação do solvente da solução, gerando a região onde há fluxo por convecção (Figura 5).

Figura 5: Representação esquemática do Cone de Taylor.

Ao se depositarem sobre a placa aterrada, as fibras atingem diâmetros de ordem micrométrica ou até nanométrica (24, 25). Para que haja formação de fibra é necessário um equilíbrio entre a força de atração do material eletrofiado pela placa aterrada, sua coesão molecular e a vazão do material no conduto metálico (25). O equipamento utilizado na eletrofiação, mostrado na Figura 6 é composto de: bomba de infusão de líquido; polímero em solução ou polímero fundido; fonte de tensão; placa coletora da fibra.

Figura 6: Sistema de eletrospiação.

O processo de eletrospiação é influenciado por diversos parâmetros, sendo eles referentes ao líquido (polímero em solução ou polímero fundido) utilizado, aos parâmetros do processo e influência do ambiente em que está ocorrendo. Todos estes parâmetros apresentam uma faixa ideal de trabalho, sendo variável para cada conjunto solvente – polímero (ou polímero fundido). Os problemas mais comuns, encontrados na formação de fibras nanométricas por eletrospiação, são a formação de grãos (*beads*) ao longo das fibras, a formação de gotas de material polimérico ao invés de fibras e a variação de diâmetro das diversas fibras do material (26-28).

As propriedades da solução que influenciam o processo são a sua viscosidade, a sua condutividade elétrica, a massa molar do polímero, a tensão superficial do material e a concentração do polímero no solvente. Levando-se em conta a faixa ideal de trabalho de cada uma destas propriedades, é descrito em literatura (28) que quanto menor a viscosidade da solução (dentro da faixa de trabalho ideal), maior a dificuldade de se conseguir formar fibras homogêneas e sem formação de grãos. Ao contrário, quanto maior a viscosidade, maior o diâmetro da fibra conseguida por eletrospiação, porém, há maior dificuldade no processo de formação da fibra, podendo haver formação de gotas de material. A viscosidade e a concentração da solução do polímero estão fortemente correlacionadas na sua influência sobre a eletrospiação.

Da mesma forma, a condutividade elétrica da solução afeta a formação de fibras homogêneas. Uma solução de condutividade elétrica maior que os valores da faixa de trabalho ideal faz com que haja a formação de fibras com diâmetros menores que o desejado, enquanto que uma condutividade elétrica menor que a faixa ideal provoca uma dificuldade de formação da fibra devido ao estiramento insuficiente do jato de material até a placa coletora. Outra característica da solução, importante para a eletrofiação, é a sua tensão superficial. Uma tensão superficial abaixo da faixa ideal de trabalho favorece a formação de fibras sem grãos enquanto que uma tensão superficial alta provoca instabilidade no jato entre ponto de ejeção e placa coletora da fibra, levando à formação de material com baixa uniformidade de diâmetros.

Os principais parâmetros de processo que influenciam o resultado na eletrofiação são a intensidade do campo elétrico que forma o jato de material polimérico, a distância percorrida pelo material entre o ponto de ejeção e a placa coletora da fibra, a vazão da solução no ponto de ejeção e o tipo de coletor utilizado no processo (25). Também, considerando que estes parâmetros possuem uma faixa ideal de trabalho para cada conjunto solvente – polímero (ou polímero fundido), o cuidado na variação de cada um deles é muito importante para otimizar os resultados obtidos.

O campo elétrico é o responsável por fazer com que o material em solução saia do ponto de ejeção e seja direcionado à placa coletora, a partir de forças de Coulomb que agem sobre a solução. Quanto maior o campo elétrico aplicado no sistema, maior a força exercida sobre a solução no ponto de ejeção para levá-la até a placa coletora. Geralmente, há uma redução no diâmetro da fibra conseguida, já que há uma maior força de distensão do material. Porém, há trabalhos em que este comportamento não é observado, obtendo-se fibras sem variação em seu diâmetro ou ainda com aumento do diâmetro com o aumento da tensão na fonte (7). Além disto, o valor do campo elétrico aplicado não pode ser menor que o valor de tensão superficial da solução no ponto de ejeção porque há a necessidade do campo ser forte o suficiente para vencer a tensão superficial da solução para formação do jato de material. A vazão da solução no ponto de ejeção e a distância entre o ponto de ejeção e a placa coletora afetam principalmente o tempo disponível para a evaporação do solvente, durante a formação da fibra. Para que haja formação da fibra, deve-se ter tempo suficiente para que este solvente evapore e permaneça apenas o polímero. Se a vazão da solução for muito alta ou se a distância até a

placa coletora for muito pequena, o solvente não terá tempo suficiente para evaporar, levando a não formação de fibras homogêneas. O tipo de placa coletora varia de acordo com as propriedades que se quer obter no material fabricado por eletrofiação. Existem diversos tipos de placas coletoras como placas planas, roletes giratórios, soluções, dentre outras.

Por fim, existe também a influência do ambiente sobre o material fabricado por eletrofiação. Os principais fatores são a temperatura e a umidade ambiente (28). A temperatura possui uma relação inversa com a viscosidade do material. A umidade é especialmente importante no caso em que solventes higroscópicos são utilizados na solução. Em alguns casos, a concentração de água na solução pode acarretar em suspensão do material polimérico no solvente, inviabilizando a sua eletrofiação.

O processo de obtenção de fibras eletrofiadas envolveu a manutenção da distância entre ponto de ejeção e placa e do tamanho do bico de ejeção para todas as amostras. As variáveis do processo neste trabalho se limitaram à tensão elétrica da fonte, à vazão da bomba de infusão de líquidos, ao solvente utilizado para obtenção da solução polimérica de TPU e à concentração da solução polimérica. Seguiu-se a estratégia ilustrada na Figura 7 para a obtenção de fibras contínuas e uniformes de ordem nanométrica.

Figura 8: Número de publicações anuais sobre a eletrofiação, de acordo com levantamento feito no banco de dados Scopus (palavra-chave: “*electrospinning*”).

Do total de publicações desde o ano 2000 até o ano de 2013, o país com maior contribuição foi a China, seguida dos Estados Unidos e Coréia do Sul. Na Figura 9 temos a porcentagem relativa de publicações em relação ao total publicado para os 8 países com maior contribuição para o assunto eletrofiação. O Brasil também está incluso neste levantamento, sendo responsável por 0,70% das publicações sobre eletrofiação neste período, isto é, 102 publicações envolvendo a palavra-chave “*electrospinning*”.

Figura 9: Porcentagem de publicações por país, de acordo com levantamento feito no banco de dados Scopus (palavra-chave: “*electrospinning*”), no período do ano 2000 até 2013.

O Laboratório de Macromoléculas do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica (EP) da Universidade de São Paulo (USP) possui um grupo de pesquisa na área de eletrofiação, sob orientação da Prof^a Livre-Docente Wang Shu Hui. Os polímeros biodegradáveis são os principais materiais sendo estudados pelo grupo, sendo alguns deles a blenda poli(L,L-lactídeo) (PLLA) / poli(L,L-lactídeo-co- ϵ -caprolactona) (PLCL) e a blenda poli(3-hidroxibutirato) (PHB) / poli(ϵ -caprolactona) (PCL). Os materiais em desenvolvimento podem ser utilizados em diversos campos, sendo os principais a engenharia de tecidos e aplicações biomédicas. Este trabalho, envolvendo a eletrofiação de poliuretano termoplástico, é pioneiro dentro deste grupo de pesquisa.

2.7. VISCOSIMETRIA

A viscosidade de um material é a sua resistência à alteração de sua forma, associada ao atrito interno existente entre as moléculas de um fluido. Quanto maior o valor desta resistência, maior é o valor da viscosidade do fluido. De acordo com a Lei de Newton da viscosidade, a viscosidade é dada pela relação entre a tensão de cisalhamento aplicada e a taxa de deformação do fluido devido a esta tensão. Newton considerou o modelo de fluido entre placas paralelas. Quando há movimentação de uma das placas e a outra permanece estática, o fluido apresenta gradiente de velocidades perpendicular às placas. Considera-se que há várias camadas de fluido que deslizam umas sobre as outras, sendo que na placa estática, a velocidade do fluido em contato com ela é nula e na placa em movimento, o fluido possui a mesma velocidade da placa. A movimentação entre estas camadas é chamada de cisalhamento (29).

Os fluidos podem ser classificados em fluidos Newtonianos e fluidos não-Newtonianos. Os fluidos Newtonianos são aqueles em que a tensão de cisalhamento é diretamente proporcional à taxa de deformação, isto é, a viscosidade é independente do gradiente de velocidades. No caso dos fluidos não-Newtonianos, esta relação não é diretamente proporcional. A viscosidade é dependente da taxa de deformação, sendo uma relação entre a taxa de deformação e a viscosidade aparente do fluido (30).

A medição da viscosidade de um fluido pode ser feita através de métodos que vão dos mais simples até os mais sofisticados. Os viscosímetros são classificados em primários e secundários. Os viscosímetros primários são aqueles que fazem a medição direta dos valores de tensão de cisalhamento e taxa de deformação, fornecendo o valor da viscosidade. Os viscosímetros rotacionais entram nesta categoria. Os viscosímetros secundários realizam a medição de forma indireta, como a medição da vazão do fluido através de capilar, chamado de viscosímetro de Oswald e a medição do tempo necessário para uma esfera percorrer um recipiente com o fluido, chamado de viscosímetro de Höppler (29).

Os viscosímetros rotacionais se baseiam no princípio de que a viscosidade é proporcional à tensão necessária para se rotacionar, à velocidade constante, um corpo imerso no fluido (Figura 10). Estes corpos possuem diversos formatos e tamanhos, variando de acordo com o tipo de fluido a ser analisado, e são chamados de “*spindles*” (31).

Figura 10: Diagrama esquemático do viscosímetro rotacional (31).

O *spindle* rotaciona juntamente com o eixo do equipamento, unidos por um sensor. O fluido exerce um torque sobre o *spindle* imerso durante sua rotação. Este torque provoca uma diferença de posicionamento entre o *spindle* e o eixo do equipamento, que é captada pelo sensor e relacionada com a viscosidade do fluido em teste, de acordo com a eq.(2) (30).

$$\mu = \left(\frac{T \times h}{4\pi \times \omega} \right) \times \left(\frac{R_2^2 - R_1^2}{R_2^2 \times R_1^2} \right) \quad (2)$$

onde:

μ = viscosidade do fluido

T = torque de rotação do spindle

h = altura do spindle imerso no fluido

ω = velocidade angular

R_1 = raio do spindle

R_2 = raio do recipiente que contém o fluido.

2.8. CONDUTIVIMETRIA

A condutividade elétrica possui um papel importante na eletrofiação de uma solução polimérica. Dependendo da capacidade de condução elétrica da solução, a tensão necessária para atrair o material para a placa coletora pode ser maior ou menor. A condutividade elétrica de uma solução depende dos íons condutores de cargas elétricas presentes, sem que haja distinção entre eles. Desta forma, quanto maior a concentração de íons em uma solução, maior será sua condutividade. Isto ocorre principalmente em soluções bastante diluídas, na ordem de $10 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, onde a interação íon-íon não é significativa. A condutividade elétrica também varia com a temperatura. Com o aumento da temperatura, há maior energia para movimentação dos íons, acarretando em maior condutividade elétrica. Assim, foi estabelecida a temperatura de 25°C como temperatura de referência (32).

Uma das formas de medição de condutividade elétrica é utilizando um condutivímetro de eletrodos. Este equipamento possui um sensor com 2 eletrodos, que ficam em contato com a solução a ser testada. Aplica-se uma tensão de corrente alternada nos eletrodos e a corrente elétrica que passa entre eles é medida e utilizada para determinação de sua condutância (Figura 11). A corrente alternada é utilizada para que não haja eletrólise dos componentes químicos da solução, o que poderia acarretar em alteração de suas propriedades (32).

Figura 11: Diagrama esquemático do condutivímetro de eletrodos (32).

A determinação da condutividade elétrica da solução leva em consideração, além da condutância do sensor, as características do sensor utilizado, isto é, sua constante de célula que depende das dimensões e geometria dos eletrodos, conforme eq. (3) (32).

$$k = G \times \frac{d}{S^2} \quad (3)$$

onde:

k = condutividade elétrica da solução [S.cm⁻¹]

G = condutância do sensor [S]

d = distância entre os eletrodos [cm]

S = área da seção transversal do eletrodo [cm⁻²]

2.9. SISTEMA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA / ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (MEV-EDS)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica que permite obter imagens superficiais com alta resolução e grande aumento (até 300.000x de aumento). A imagem produzida pelo equipamento é formada através da leitura e conversão da energia emitida pelos elétrons da amostra, após incidência de feixe de elétrons gerado pelo equipamento. Utiliza-se um filamento capilar de tungstênio para gerar o feixe de elétrons, aplicando-se uma diferença de potencial na ordem de 0,5 a 30 kV. Esta diferença de potencial pode ser ajustada para aumentar ou diminuir a aceleração do feixe de elétrons. Lentes condensadoras são utilizadas para alinhar o feixe de elétrons e há ajuste de foco através do uso de feixes defletores e uma objetiva. Quando o feixe de elétrons incide sobre a amostra a ser analisada, há interação entre os elétrons e os átomos do material (Figura 12). Esta interação gera 3 tipos de sinal: a emissão de elétrons secundários da amostra,

reflexão de elétrons do feixe incidente e transição de camada de valência dos átomos do material, com emissão de raios-X. Os elétrons secundários emitidos pela superfície da amostra são os mais comumente utilizados para formação de imagens pelo MEV. Eles são detectados por um sensor gerando a imagem através da conversão do valor de sua energia. A imagem é gerada varredura por varredura, continuamente (33).

Figura 12: Representação esquemática do MEV (33).

Os elétrons refletidos do feixe incidente também podem ser utilizados para formação de imagens pelo MEV. Como a reflexão varia de acordo com o peso atômico do átomo atingido, há a informação adicional das diferentes fases presentes na amostra. Porém, há menor resolução da imagem em comparação com a formada por elétrons secundários.

A emissão de raios-X pode ser utilizada para obtenção de informações qualitativas e quantitativas referentes aos elementos químicos presentes na amostra. Como cada elemento químico possui um comprimento de onda característico de raios-X, a

espectroscopia de raios-X (EDS) coleta estas informações para gerar um espectro da distribuição de elementos químicos presentes na amostra.

Para amostras não-condutoras ou com baixa condutividade elétrica, é necessário um pré-tratamento para que seja possível sua visualização no MEV. Isto é feito utilizando-se um recobrimento muito fino com material condutor, geralmente ouro, grafite, platina ou outros. Este recobrimento impede o acúmulo de cargas estáticas no material, ocasionado pela sua baixa condutividade elétrica. Este acúmulo altera a trajetória de emissão dos elétrons secundários da amostra, gerando distorções na formação da imagem (33).

2.10. DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X

A difratometria de raios-X é uma técnica que permite a verificação das porções cristalinas do material analisado através do uso de raios-X. Utilizam-se raios-X monocromáticos devido ao seu comprimento de onda de valor definido. Estes raios-X interagem com os elétrons dos átomos do material e quando há determinada distância e ângulo de incidência, ocorre sua difração (interferência construtiva) (Figura 13). Fora destes parâmetros, ocorre a interferência destrutiva. A difração dos raios-X obedece a Lei de Bragg, que é expressa pela eq. (4):

$$n\lambda = 2.d.\text{sen}\theta \quad (4)$$

onde:

n = é um número inteiro

λ = comprimento de onda dos raios-X [Å]

d = distância interplanar do reticulado cristalino

θ = ângulo de difração [°]

Figura 13: Representação da Lei de Bragg: (a) Interferência construtiva; (b) Interferência destrutiva (34).

Os difratômetros de raios-X mais comuns incidem os raios-X sobre a amostra e um detector é posicionado para identificar os raios-X que foram difratados pela porção cristalina presente no material analisado. O feixe incidente de raios-X é movimentado, gerando variações no ângulo de difração θ (Figura 14). Estas informações são coletadas e transcritas em forma de gráfico, contendo a intensidade da difração em função do ângulo de difração. A partir do difratograma é possível identificar as porções cristalinas presentes no material através do seu ângulo de difração e pela intensidade do pico formado. Obtém-se informações referentes ao elemento químico presente e ao plano cristalino ao qual o pico de intensidade se refere através de comparação com um banco de dados de difratogramas de materiais catalogados (34).

Figura 14: Representação esquemática do equipamento de difração de raios-X. T = Gerador de raios-X; S = amostra analisada; C = detector de raios-X; O = Eixo no qual a amostra e o detector giram (22).

2.11. ANÁLISES TÉRMICAS

As fibras poliméricas possuem propriedades interessantes que podem afetar diretamente os resultados das análises térmicas do material. Dentre as principais, podem ser citadas a anisotropia das suas propriedades, uma vez que o comprimento da fibra é muitas vezes maior que o seu diâmetro, e a tendência à orientação das cadeias poliméricas no sentido do comprimento da fibra, possibilitando a formação de regiões cristalinas com maior facilidade.

Os polímeros eletrofiados, apesar de conhecidos a algumas décadas, somente começaram a ser profundamente estudados recentemente. As técnicas de análise térmica e calorimetria mais utilizadas para testar polímeros eletrofiados buscam avaliar o impacto de suas características físicas nas suas propriedades térmica e mecânica, comparativamente em relação ao polímero base, normalmente em formato de membrana. Também há um grande interesse no estudo do impacto da

inclusão de outros componentes nos polímeros eletrofiados, formando assim materiais compósitos. Para tal finalidade, os equipamentos mais frequentemente utilizados são o analisador térmico diferencial (DTA), o calorímetro exploratório diferencial (DSC) e o equipamento de análise termogravimétrica (TG).

2.11.1. CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

A calorimetria diferencial exploratória é uma técnica em que se fornece calor a uma taxa pré-determinada e mede-se a diferença de calor fornecido entre o material a ser analisado e um material de referência, geralmente inerte dentro da faixa de temperatura utilizada no ensaio, decorrente de reações, mudanças de fase ou transformações, através de termopar diferencial instalado nos cadinhos onde estão as amostras. No momento em que ocorre uma transformação de fase e, conseqüentemente, uma variação na temperatura da amostra, há uma variação no calor fornecido entre amostra e referência para que os dois permaneçam na mesma temperatura. Esta diferença entre os calores fornecidos é considerada proporcional à variação de temperatura, permitindo assim a verificação de eventos endotérmicos e exotérmicos, além da sua cinética e sua termodinâmica (35).

A temperatura de transição vítrea (T_g) dos materiais poliméricos é identificada nas curvas DSC pela região onde há mudança da linha base. Seu valor é calculado pelo ponto de encontro das retas tangentes à curva no patamar inicial e na transição entre patamares. A temperatura de fusão (T_m) dos materiais poliméricos é identificada nas curvas DSC pela região onde há inflexão. Este é um processo endotérmico. Seu valor é encontrado no ponto onde há um pico (ou vale, dependendo da forma em que o gráfico representa o processo endotérmico) de energia (36).

2.11.2. TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A termogravimetria é uma técnica que permite a avaliação da variação de massa de um material decorrente de transformações ocorridas em função da temperatura. Usualmente utiliza-se um sistema que aplica calor ao material a uma taxa constante de aquecimento e sua massa é monitorada ao longo do processo, com o auxílio de balança de alta precisão. Permite quantificar as diferentes fases presentes no material através da variação do peso ao longo do processo de aquecimento do material. Os resultados da análise termogravimétrica são plotados em um gráfico de massa residual da amostra (percentual) em função da temperatura (curva TG). Normalmente este gráfico também é plotado com a curva da derivada numérica da variação de massa (curva dTG), que representa a variação instantânea da massa da amostra. A curva dTG apresenta picos que são os pontos onde há o máximo de perda de massa da amostra na dada transformação, sendo importante para facilitar a identificação de transformações difíceis de visualizar na curva TG. Também é possível utilizar equipamentos que trabalham combinando as técnicas de DTA e TG. Uma diferença importante entre as duas técnicas é que, no caso da TG, o processo de perda ou ganho de massa é irreversível (35).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. SOLVENTES E REAGENTES

Foram utilizados filmes laminados TPUAuto 2 de poliuretano termoplástico (TPU) a base de poliéter aromático, de espessura de 50 μm e densidade de 1,08 g.cm^{-3} (ADFilme), tetra-hidrofurano (THF) (Labsynth), dimetilformamida (DMF) (Casa Americana), hidróxido de amônio (Labsynth), ácido fórmico (Labsynth), acetato de prata (Caal) e acetato de zinco diidratado (Caal). Todos estes materiais e reagentes foram utilizados como recebidos.

3.2. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

O sistema para eletrofição foi montado dentro de uma capela no Laboratório de Processamento de Polímeros do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica – USP, utilizando-se cinco componentes principais: bomba de infusão de líquido (Nikkiso - PSK-01) (Figura 15); fonte de tensão (Testtech) (Figura 16); placa coletora da fibra (Figura 17); e ponto de ejeção do polímero (Figura 18).

O polímero em solução ou fundido é armazenado em uma seringa e posicionado na bomba de infusão. A vazão de líquido é ajustada no equipamento, que permite variações a partir de 0,1 ml.h^{-1} até 300 ml.h^{-1} . A saída da seringa é conectada ao ponto de ejeção através de uma tubulação de polietileno.

O ponto de ejeção é constituído de uma agulha hipodérmica metálica e uma base móvel que possui diferentes posições de altura para a agulha. A agulha hipodérmica é usinada para que sua ponta fique reta. O ponto de ejeção é posicionado a uma

distância definida da placa coletora de fibra, com a agulha em posição perpendicular ao plano da placa.

A tensão elétrica para a ocorrência do processo de eletrofiação é gerada na fonte de tensão. Pode trabalhar até a tensão máxima de 25 kV, possuindo dois terminais, um deles positivo e o outro de terra. O terminal positivo é conectado à agulha do ponto de ejeção e o terminal de terra é ligado à placa coletora.

A placa coletora da fibra é uma placa vertical revestida de folha de alumínio. O polímero em solução, eletricamente carregado, é atraído pela folha de alumínio, aterrada pelo terminal de terra da fonte de tensão.

Figura 15: Bomba de infusão de líquido.

Figura 16: Fonte de tensão

Figura 17: Placa coletora aterrada

Figura 18: Ponto de ejeção

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Preparação das soluções de TPU

A solução de prata foi preparada a partir de acetato de prata P.A., utilizando o processo desenvolvido por Walker e Lewis, baseado no processo Tollens (15). A concentração final da solução foi de 11% em massa de prata (Ag).

O filme de poliuretano termoplástico foi fornecido pela empresa ADFilme, com espessura de 50 μm . O material foi fornecido em bobinas de 1.300 mm de largura.

Inicialmente, foi utilizado o solvente DMF para preparar a solução de poliuretano com 15% em massa de TPU. O filme de TPU foi fragmentado e pesado, e o DMF foi adicionado lentamente, sob agitação constante. A agitação foi mantida até a solubilização total do TPU, formando uma solução com alta viscosidade. A prata preparada pelo método de Walker e Lewis foi adicionada utilizando-se uma pipeta volumétrica, após a completa dissolução do TPU em DMF. Foi preparada inicialmente uma solução contendo 0,15% de prata em massa.

Posteriormente, foram preparadas novas soluções, desta vez utilizando uma mistura de DMF e THF. O filme de PU foi dissolvido lentamente em DMF, sob agitação constante. Após o término da solubilização, foi adicionado o THF lentamente, também sob agitação constante, na proporção de 50:50 em massa. A adição de prata seguiu as mesmas etapas da solução preparada apenas com DMF. Foram preparadas soluções contendo 0,15% e 0,35% em massa de prata para fins de comparação de propriedades biocidas. O mesmo processo foi realizado para preparação de solução com óxido de zinco, utilizando-se o acetato de zinco em forma de pó, na proporção de 5% em massa (Figura 19). A utilização de acetato de zinco diidratado para se obter óxido de zinco através de processos simples de dissolução em DMF seguiu procedimento relatado em literatura (37).

Figura 19: Fluxograma da preparação das soluções de TPU.

3.4. ENSAIO DE VISCOSIDADE

Foram feitos ensaios de viscosidade das soluções preparadas para eletrofiação com mistura de solventes DMF:THF. Utilizou-se o viscosímetro Brookfield DV-II+ Pro e o “*spindle*” do tipo UL (Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica – USP). No equipamento, fechou-se a câmara tubular com uma tampa plástica e introduziu-se 16 ml da solução a ser testada. Acoplou-se o “*spindle*” do tipo UL no equipamento para realização dos testes. Este parâmetro foi analisado por apresentar grande importância no processo de eletrofiação. As dimensões das fibras obtidas são influenciadas por este parâmetro.

3.5. ENSAIO DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

Foram feitos ensaios de condutividade elétrica das soluções preparadas para eletrofiação com mistura de solventes DMF:THF. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Macromoléculas do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica – USP. Utilizou-se o medidor de condutividade elétrica Instrutherm, modelo CD-880. Uma alíquota das soluções foi separada em tubos de ensaio, em quantidade suficiente para submersão do sensor do equipamento. Após leve agitação do sensor para homogeneização da solução, aguarda-se a leitura do equipamento. Os testes foram feitos em triplicata. Este parâmetro, da mesma forma que a viscosidade, apresenta grande influência sobre as dimensões das fibras obtidas por eletrofiação.

3.6. ELETROFIAÇÃO

O equipamento de eletrofiação foi montado e ajustado para este desenvolvimento de fibras nanocompósitas, sendo este constituído de 5 componentes principais: a

bomba de infusão, a fonte de tensão, o reservatório de solução polimérica, o ponto de ejeção e a placa coletora. O fluxo, necessário para o processo de eletrofiação, foi controlado utilizando-se uma seringa de vidro de 20 ml com ponta do tipo Luer Lock, como reservatório das soluções polimérica e compósita, montada em uma bomba de infusão (Nikkiso - PSK-01), ajustada para a vazão de $0,2 \text{ ml.h}^{-1}$. O período de trabalho para a preparação de cada membrana foi de uma hora de eletrofiação. Foi utilizada, como ponto de ejeção, uma agulha sem ponta com diâmetro de 22 G para todas as amostras, além de uma folha de alumínio como placa coletora. A distância entre o ponto de ejeção e a placa coletora foi mantida em 15 cm, com o ponto de ejeção posicionado a uma altura de 15 cm (Figura 20).

Figura 20: Fluxograma do processo de eletrofiação das membranas de TPU.

Para cada uma das membranas, foi utilizado um ajuste diferente na fonte de tensão, sendo o único parâmetro de processo que foi variável. Esta abordagem foi escolhida para alcançar o melhor resultado de formação de fibras e maior facilidade de comparação dos resultados das amostras, devido ao menor número de variáveis de processo. As membranas eletrofiadas de TPU foram submetidas à secagem em estufa a vácuo (Binder) a 50°C , com pressão reduzida de 0,05 MPa por um período de 12 horas.

3.7. MICROSCOPIA ÓTICA (MO)

As membranas eletrofiadas, ainda depositadas sobre a folha de alumínio, foram analisadas por microscopia ótica (Olympus BX60M - Depto. de Engenharia Metalúrgica e de Materiais – Escola Politécnica - USP). Foi feita uma verificação inicial da formação de fibras. Foram comparadas as características físicas das membranas eletrofiadas utilizando-se DMF e a mistura DMF:THF como solventes.

3.8. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Após análise do material eletrofiado por microscopia ótica, as membranas com melhores características (solução em mistura de DMF:THF) foram avaliadas, utilizando-se microscopia eletrônica de varredura (Leo-440i-SEM – Instituto de Geociências - USP e Philips XL-30 – Depto. de Engenharia Metalúrgica e de Materiais – Escola Politécnica - USP). As amostras obtidas por eletrofiação foram recobertas com ouro para permitir a análise por MEV. Observou-se, então, a morfologia das fibras e a distribuição da fase dispersa, além da presença de poros. Foram feitas análises de espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) das membranas eletrofiadas para verificação dos constituintes químicos presentes nos materiais.

Adicionalmente, foi feita a análise por MEV / EDS dos sólidos resíduos da evaporação da tinta de prata preparada e da solução precursora de óxido de zinco preparada, isto é, as soluções adicionadas ao TPU. Foram feitas deposições das soluções em placas de vidros (15 cm x 15 cm) em quantidade suficiente para ocupar metade de sua área total. As placas foram mantidas em capela a temperatura ambiente até a evaporação total dos solventes. Após evaporação, as placas foram colocadas em estufa a 80°C por um período de 24 horas, para eliminação total de solvente. O produto final foi um filme quebradiço, retirado da placa em forma de pó por raspagem com uma espátula de aço inoxidável. As amostras em pó foram analisadas por MEV sem utilização de recobrimento.

3.9. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

As difratometrias de raios-X das membranas de TPU eletrofiadas foram efetuadas para caracterizar a presença dos aditivos, prata e óxido de zinco. O ensaio foi realizado em um equipamento Philips X'Pert (Laboratório de Caracterização Tecnológica - Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo da Escola Politécnica – USP), com tubo de raios-X de cobre ($\text{Cu } k\alpha$, $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$ e potência de 2,2 kW). A varredura foi feita do ângulo 2θ de 2° até 70° , com passo de $0,02^\circ$. Através dos difratogramas de raios-X levantados, comparou-se os resultados obtidos dos materiais aditivados em relação ao material da matriz. Foram utilizadas amostras das membranas eletrofiadas com dimensões de $(2 \times 2) \text{ cm}$. Foram observados os ângulos em que há picos diferenciados, numa tentativa de identificar os materiais adicionados, uma vez que cada substância possui um conjunto de picos único que permite sua identificação.

3.10. CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

Para a realização da calorimetria diferencial exploratória foram separadas amostras das membranas eletrofiadas. Os cadinhos de alumínio para análise de DSC foram preenchidos com cerca de 5 mg de cada membrana a ser analisada. Foi utilizado o equipamento Netzsch DSC 200F3 (Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica – USP), e as amostras foram analisadas na faixa de temperatura entre -100°C até 200°C , com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$.

3.11. TERMOGRAVIMETRIA (TG)

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando-se amostras das membranas eletrofiadas. Os cadinhos para análise de TG foram preenchidos com cerca de 2 mg de cada membrana a ser analisada. As análises foram feitas na empresa Nanomed e foi utilizado o equipamento TA Instruments SDT Q600. As amostras foram analisadas a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, na faixa de temperatura entre 25°C até 650°C , em atmosfera de nitrogênio a um fluxo de $50\text{ mL}.\text{min}^{-1}$.

3.12. ENSAIO DE AÇÃO BIOCIDA

Após verificação da morfologia, composição química e propriedades físicas dos materiais, foram realizados testes de ação biocida do material eletrofiado utilizando o método estabelecido pela norma AATCC 100:2012 (Avaliação de acabamentos antibacterianos em materiais têxteis) da American Association of Textile Chemists and Colorists. Esta norma é utilizada para analisar de forma quantitativa o grau de atividade antibacteriana em materiais têxteis e foi realizado pelo laboratório Controlbio (São Paulo – SP). O teste consistiu na exposição das amostras em análise a dois micro-organismos representativos, que foram o *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) ATCC nº 6538 e a *Klebsiella pneumoniae* (Gram-negativa) ATCC nº 4352. A avaliação da ação dos aditivos foi efetuada pela contagem das unidades formadoras de colônia (UFC).

As amostras com aditivos e sem aditivo foram inoculadas no tempo zero com 1 ml das suspensões bacterianas, numa concentração de 10^5 . Apenas a amostra sem aditivo foi lavada com diluente, no tempo zero, e logo após este diluente foi semeado em placas de Petri contendo meio nutritivo ágar e incubado. As amostras com aditivos e uma amostra sem aditivo foram incubadas em estufa úmida por 18-24 h. Após este período foram realizadas as lavagens de todas as amostras com diluente, e estes diluentes foram plaqueados nas placas de Petri e incubadas por 48h a 37°C . Após a incubação foram realizadas as contagens das unidades formadoras de colônia (UFC) e a redução das UFC foi calculada porcentualmente, comparando a

quantidade de UFC recuperadas após 24 h de contato com a quantidade de UFC no tempo zero, de acordo com a eq. (5).

$$R = 100(B-A)/B \quad (5)$$

onde:

R = Redução percentual de UFC [%]

A = Número de UFC recuperadas após 24 horas de incubação

B = Número de UFC recuperadas no tempo zero

3.13. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

Os testes de citotoxicidade *in vitro* podem ser separados em três categorias: testes de extrato, testes de contato direto e testes de contato indireto. A definição do tipo de teste depende do tipo de amostra a ser testada, da forma do uso final do material e dos locais em que o produto final será utilizado. Independente do tipo de teste realizado, a avaliação é feita baseada no grau de dano celular em relação à sua morfologia e à sua mensuração, na medição da taxa de crescimento celular e avaliação de suas diferenças em relação a células que não entraram em contato com o material em teste, e a verificação de aspectos específicos do metabolismo celular. Neste ensaio, as condições de extração devem ser definidas para as amostras em teste e também para os controles negativo e positivo. A avaliação da viabilidade celular do extrato do material pode ser feita utilizando-se um corante vital e um leitor espectrofotométrico de microplacas (38).

A análise da quantidade de células viáveis foi realizada por metodologia colorimétrica, pela incorporação de corante supravital e um agente acoplador de elétrons (MTS/PMS) e posterior leitura em espectrofotômetro a 490nm (39). A quantidade de corante incorporada pela população celular é diretamente proporcional ao número de células viáveis em cultura. Sua ação é baseada na

capacidade das células viáveis de reduzir os compostos de tetrazólio em formazam com coloração intensa. Este produto pode ser detectado com a utilização de espectrofotômetro, pela variação de sua absorbância. A produção de formazam é diretamente proporcional à quantidade de células viáveis, uma vez que as células mortas perdem a capacidade de reduzir o tetrazólio. Desta forma, quanto maior a taxa de células mortas devido ao contato com o extrato do material, menor o valor da absorbância do teste no leitor. A relação entre a concentração do extrato e a quantidade de células viáveis resultou em uma curva dose-resposta e o $CI_{50\%}$ é um parâmetro utilizado para avaliação da citotoxicidade. A Concentração Inibitória 50% ($CI_{50\%}$) é a concentração do extrato que mata 50% das células expostas no teste (40).

Para o ensaio de citotoxicidade *in vitro*, foram utilizadas membranas de poliuretano termoplástico (TPU) sem aditivos, membranas com 0,15% e 0,35% em massa de prata e membranas com 5% em massa de óxido de zinco. Foi utilizada uma amostra de 3 cm² de área por ml de líquido extrator. Além do extrato do material em teste, foi preparado um controle negativo de citotoxicidade de titânio comercial puro (Ticp) e um controle positivo de citotoxicidade de solução de fenol a 0,3%. A preparação dos extratos foi feita de acordo com a norma ISO 10993 - 12 - Preparação de amostras e materiais de referência. O ensaio de citotoxicidade foi realizado no Centro de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) por Fernando José Costa Baratéla, sob coordenação da Prof^a. Dr^a. Olga Zazuco Higa.

A extração dos materiais e dos controles negativo e positivo foi realizada em banho térmico com meio de cultura RPMI 1640 (Gibco®) contendo soro fetal bovino, a 37°C por um período de 24 horas. Os extratos foram filtrados (100%) e diluídos com RPMI 1640 com soro nas concentrações de 50%, 25%, 12,5% e 6,25%.

A linhagem celular escolhida para a realização do teste foi a CHO-K1 (ATCC) derivado de ovário de hamster chinês. A suspensão celular com concentração de 10⁵ células/mL foi distribuída em microplacas de cultura celular de 96 poços, com 100 µL/poço. As microplacas foram incubadas em estufa (37°C) com atmosfera contendo 5% CO₂ por 24 horas, para a adesão das células. Após a incubação, 100 µL dos extratos de cada material foram adicionados aos poços das microplacas nas concentrações preparadas (100%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25%). O mesmo procedimento foi efetuado com os extratos dos controles negativo e positivo. Também foi preparado um branco do ensaio contendo somente o meio de cultura.

As microplacas com os extratos e os controles foram incubadas em estufa (37°C) com atmosfera contendo 5% CO₂ por 24 horas. A viabilidade celular foi visualizada com a adição em cada poço de 100 µL da solução de MTS/PMS (corante supravital de composto tetrazólico / agente acoplador de elétrons) na proporção de 20:1. Após incubação em estufa de CO₂ a 37°C por 2 horas, as densidades óticas das placas foram determinadas no leitor de microplacas com filtro de 490 nm e os valores coletados em tabelas. Os valores tabelados foram utilizados para levantamento de uma curva de viabilidade celular (%) em função da concentração de extrato (%), de acordo com a eq. (6).

$$VC = (DOD/DOC) \times 100 \quad (6)$$

onde:

VC = viabilidade celular [%]

DOD = densidade ótica média da diluição

DOC = densidade ótica média do controle de crescimento total das células

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. VISCOSIMETRIA

Com as soluções preparadas com a mistura DMF:THF, foram feitos testes de viscosimetria, que apresentaram os resultados mostrados na Tabela 1:

Tabela 1: Valores médios de viscosidade das soluções utilizadas na eletrografiação.

Item	Material	Viscosidade (cP)
01	TPU	600,9
02	TPU/Ag 0,15%	599,7
03	TPU/Ag 0,35%	582,3
04	TPU/ZnO 5%	450,6

Observa-se que quanto maior a quantidade de aditivo adicionado à matriz de TPU, menor é o valor da viscosidade do compósito. Este comportamento pode ser explicado pela ação lubrificante das partículas de Ag e de ZnO, reduzindo o atrito da solução de material em ensaio e, conseqüentemente, reduzindo a viscosidade do compósito.

4.2. CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

As soluções preparadas com a mistura DMF:THF foram também submetidas a medidas de condutividade elétrica, cujos resultados são apresentados na Tabela 2:

Tabela 2: Resultados de condutividade elétrica das soluções preparadas com DMF:THF.

Medição	TPU [mS.cm^{-1}]	TPU/Ag 0,15% [mS.cm^{-1}]	TPU/Ag 0,35% [mS.cm^{-1}]	TPU/ZnO 5% [mS.cm^{-1}]
1	0,00	0,01	0,02	0,11
2	0,00	0,01	0,02	0,11
3	0,00	0,01	0,02	0,11
Valor médio	0,00	0,01	0,02	0,11

Observa-se que os valores de condutividade elétrica aumentam com a quantidade de aditivos adicionados ao TPU. O resultado é esperado, uma vez que os compostos adicionados são sais e apresentam condutividade maior que o TPU.

4.3. PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS

As soluções de TPU com aditivos foram preparadas de acordo com as informações descritas na Tabela 3:

Tabela 3: Soluções compósitas de poliuretano preparadas para o estudo.

Item	Denominação	Matriz	Solvente (Proporção)	Aditivo (% em massa)
1	TPU/Ag 0,15% DMF	TPU	DMF	Prata (0,15%)
2	TPU/Ag 0,15%	TPU	DMF:THF (50:50)	Prata (0,15%)
3	TPU/Ag 0,35%	TPU	DMF:THF (50:50)	Prata (0,35%)
4	TPU/ZnO 5%	TPU	DMF:THF (50:50)	Óxido de Zinco (5,0%)
5	TPU	TPU	DMF:THF (50:50)	-

Foram preparadas soluções com diferentes quantidades de prata para verificar se a ação biocida da membrana está diretamente ligada à quantidade de prata existente no compósito. A quantidade de óxido de zinco foi selecionada devido a estudos

prévios de outros autores (6, 20), indicando que 5% de óxido de zinco possuem propriedades biocidas da mesma forma que a prata.

As soluções preparadas foram, então, utilizadas para a obtenção das membranas por eletrofiação. Todas as variáveis de processo foram mantidas constantes para os materiais em análise, com exceção da tensão da fonte. Foram feitas membranas utilizando vazão da bomba em 2 ml.h^{-1} , distância entre ponto de ejeção e placa coletora de 15 cm, bico de ejeção com tamanho de 22 G, folha de alumínio como superfície de coleta de material e seringa de 20 ml para armazenamento da solução a ser eletrofiada. Foi utilizado um período de 60 minutos para a eletrofiação de cada uma das membranas preparadas. Durante a execução da eletrofiação, buscou-se manter a tensão no valor mínimo necessário para a ejeção da solução para a placa de coleta, sem que houvesse formações de gotículas ou que houvesse interrupção nas fibras. Desta forma, os valores utilizados para cada material na Tabela 4 são valores experimentais que mostraram formação contínua de fibras por eletrofiação.

Tabela 4: Parâmetros utilizados durante o processo de eletrofiação.

Item	Material	Tensão (kV)	Vazão (ml.h^{-1})	Bico de ejeção
1	TPU/Ag 0,15% DMF	$18,0 \pm 0,2$	2,0	22 G
2	TPU/Ag 0,15%	$17,4 \pm 0,2$	2,0	22 G
3	TPU/Ag 0,35%	$14,0 \pm 0,2$	2,0	22 G
4	TPU/ZnO 5%	$20,0 \pm 0,2$	2,0	22 G
5	TPU	$14,7 \pm 0,2$	2,0	22 G

As membranas eletrofiadas foram colocadas em estufa a vácuo para retirar todo o solvente residual a 50°C sob pressão reduzida de 0,05 MPa por um período de 12 horas.

4.4. MICROSCOPIA ÓTICA (MO)

Foram feitas análises do material eletrofiado utilizando microscopia ótica, com aumento de 1000 vezes. Buscou-se a visualização das regiões periféricas do material eletrofiado com o objetivo de verificar a formação de fibras contínuas e sem presença de pontos de aglomeração de solução. Regiões com maior densidade de nanofibras são difíceis de serem observadas por MO em decorrência da dificuldade de se conseguir foco da imagem, uma vez que as fibras encontram-se depositadas umas sobre as outras, em diferentes profundidades.

A membrana eletrofiada com o composto TPU/Ag 0,15% DMF (Figura 21) apresentou fibras com maior diâmetro que as demais membranas. Também apresentaram fusão entre as mesmas, formando uma rede de fibras.

Figura 21: Microscopia ótica do TPU eletrofiado com aumento de 1000x.

Esta morfologia pode ser explicada pela presença de solvente na fibra no momento em que ocorre a sua deposição sobre a placa coletora, o que ocasionou esta junção das fibras. Este fenômeno ocorre quando não há tempo suficiente para o solvente evaporar do material durante o trajeto entre ponto de ejeção e placa coletora. Desta forma, uma maneira de se evitar sua ocorrência seria aumentar a distância entre o ponto e a placa, para dar mais tempo para o solvente evaporar. Uma outra solução,

que foi a selecionada para este estudo, foi a mistura de solventes (DMF mais THF), cuja volatilidade é maior que àquela do DMF. Desta forma, foram obtidas fibras mais uniformes e sem apresentar fusão entre si (Figuras 22, 23 e 24).

Figura 22: Microscopia ótica do TPU com 0,15% de prata eletrofiado com aumento de 1000x.

Figura 23: Microscopia ótica do TPU com 0,35% de prata eletrofiado com aumento de 1000x.

Figura 24: Microscopia ótica do TPU com 5% de óxido de zinco eletrofiado com aumento de 1000x.

Nas micrografias, há diversos pontos escuros distribuídos por toda a área da imagem. Estes pontos são da folha de alumínio utilizada como superfície de deposição das nanofibras (Figura 25), devido às irregularidades superficiais dos cilindros de laminação utilizados na sua fabricação.

Figura 25: Microscopia ótica da folha de alumínio utilizada como superfície de deposição.

4.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para avaliação dimensional das fibras formadas por eletrofiação, a formação de aglomerados de material depositado, a verificação da porosidade das membranas eletrofiadas e a continuidade das fibras eletrofiadas. Verificou-se a formação de fibras contínuas sem pontos de aglomeração de material. As fibras do TPU e do TPU com 0,15% de prata possuem diâmetros que variam de 300 nanômetros até 800 nanômetros (Figuras 26, 27 e 28). As medições foram realizadas em 8 regiões diferentes das micrografias com aumento de 25.000 vezes, dividindo-a em 2 linhas e 4 colunas. Mediu-se o diâmetro da fibra no centro de cada célula.

Figura 26: Microfotografia do TPU eletrofiado, com aumento de 5.000x.

Figura 27: Microfotografia do TPU com 0,15% de prata, com aumento de 5.000x.

Figura 28: Microfotografia do TPU com 0,15% de prata, com aumento de 25.000x.

Para o material com 0,35% de prata, as dimensões variaram entre 250 e 400 nanômetros (Figuras 29 e 30). Esta diferença dimensional entre o TPU com 0,15% de prata e o TPU com 0,35% de prata é decorrente do ajuste de tensão na fonte e também da presença de maior concentração de material condutor na solução. Não foi observada relação direta entre aumento de tensão e aumento dos diâmetros das fibras eletrofiadas, para membranas dos diferentes tipos de material.

Figura 29: Microfotografia do TPU com 0,35% de prata, com aumento de 5.000x.

Figura 30: Microfotografia do TPU com 0,35% de prata, com aumento de 25.000x.

Para o material com 5,0% de óxido de zinco, as dimensões variam entre 250 a 400 nanômetros (Figuras 31 e 32), igual ao material obtido com 0,35% de prata.

Figura 31: Microfotografia do TPU com 5% de óxido de zinco, com aumento de 5.000x.

Figura 32: Microfotografia do TPU com 5% de óxido de zinco, com aumento de 25.000x.

Os valores de diâmetro das fibras foram tabelados (Tabela 5) e analisados estatisticamente utilizando-se o teste t-Student. Considerando o teste bicaudal com

amostras independentes e com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), temos que o valor crítico de t é $t_{crit} = 2,145$.

Foram calculados os valores de t para os diâmetros do TPU e do TPU/Ag 0,15% ($t_1 = 0,014$), do TPU/Ag 0,15% e do TPU/Ag 0,35% ($t_2 = 2,532$) e, por fim, do TPU/Ag 0,35% e do TPU/ZnO 5% ($t_3 = 1,65$). Comparando os valores calculados de t com o valor de t_{crit} , pode-se concluir que para as amostras analisadas, os diâmetros do par TPU e TPU/Ag 0,15%, assim como os do par TPU/Ag 0,35% e TPU/ZnO 5% não apresentam diferença significativa entre si (cada par), dentro do nível de significância do teste. Por outro lado, a média dos diâmetros das fibras do TPU/Ag 0,15% é maior e significativa em relação àquela obtida para TPU/Ag 0,35%.

Tabela 5: Diâmetros das fibras eletrofiadas.

Medição	Diâmetro (nm) TPU	Diâmetro (nm) TPU/Ag 0,15%	Diâmetro (nm) TPU/Ag 0,35%	Diâmetro (nm) TPU/ZnO 5%
1	293,33	757,60	226,41	301,88
2	821,33	606,08	301,88	377,35
3	293,33	454,56	264,15	415,09
4	469,33	378,80	339,62	301,88
5	352,00	363,65	286,79	301,88
6	381,33	757,60	377,35	301,88
7	733,33	303,04	324,52	377,35
8	645,33	378,80	301,88	264,15
Média	498,67	500,02	302,82	330,18
Desvio Padrão	207,42	182,36	46,25	52,40

Nas micrografias, é possível visualizar a existência de grandes poros entre as fibras, decorrente do direcionamento aleatório da deposição do material sobre a placa coletora. Estes grandes poros facilitam a passagem de gases pela membrana, permitindo a respiração da pele caso estiver em contato com a mesma.

As membranas confeccionadas apresentam fibras com diâmetros na ordem de micrômetro até nanômetro (Tabela 6). Além disso, foram obtidas com aditivos uniformemente dispersos na matriz polimérica.

Tabela 6: Faixa de diâmetros da fibras eletrofiadas.

Item	Material	Tensão (kV)	Faixa de diâmetros (nm)
01	TPU	$14,7 \pm 0,2$	300 a 800
02	TPU/Ag 0,15%	$17,4 \pm 0,2$	300 a 800
03	TPU/Ag 0,35%	$14,0 \pm 0,2$	250 a 400
04	TPU/ZnO 5%	$20,0 \pm 0,2$	250 a 400

Existem inúmeros parâmetros de processo na eletrofiação e todos impactam nos resultados obtidos. Dentre os parâmetros estudados, estão a vazão da bomba de infusão do polímero, a distância entre bico de ejeção e placa coletora, o diâmetro do bico ejetor, a tensão utilizada na fonte, a viscosidade e a condutividade elétrica da solução polimérica, a volatilidade do solvente utilizado na solubilização do polímero e a presença ou não de aditivos na solução polimérica.

O impacto da volatilidade do solvente foi verificado com a eletrofiação de duas soluções diferentes: uma solução de TPU diluída em 100% de DMF e outra solução de TPU diluída em DMF e THF, na proporção de 50% em volume de cada solvente. Fibras distintas e sobrepostas foram obtidas apenas utilizando a solução de DMF/THF. Esta solução permitiu a obtenção de uma membrana com fibras na ordem de centenas de nanômetros de diâmetro não fundidas entre si. Utilizando-se apenas DMF, não houve a evaporação completa do solvente no trajeto do bico de ejeção até a placa coletora. Como houve sobreposição parcial, as fibras depositadas umas sobre as outras com solvente residual apresentaram junção, formando uma rede de fibras interconectadas. Estas fibras não apresentaram formato cilíndrico, mas formato achatado de fita estreita.

Os parâmetros de eletrofiação, relacionados a possíveis ajustes dos equipamentos, com exceção da tensão aplicada pela fonte, foram mantidos constantes para facilitar a comparação entre as membranas eletrofiadas. A tensão foi ajustada para o valor

mínimo necessário para formação do cone de Taylor e início da fiação das fibras poliméricas sem a formação de gotas ou entupimento do bico ejetor.

A variação entre os valores de tensão utilizados para cada solução eletrofiada está relacionada com o equilíbrio entre as propriedades físico-químicas da solução, os parâmetros do processo e as condições ambientais do local. Assim, observando os parâmetros utilizados e os resultados obtidos na eletrofiação das membranas de diferentes soluções, não foi possível relacionar diretamente a tensão na fonte com o diâmetro das fibras. Ainda não há um consenso desta relação entre os pesquisadores, havendo trabalhos relatando uma diminuição do diâmetro das fibras com o aumento da tensão, ao mesmo tempo que outros trabalhos citam a manutenção ou aumento no diâmetro das fibras (7). Um estudo mais aprofundado da questão encontra-se fora do escopo do presente trabalho.

4.6. CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE PRATA E ÓXIDO DE ZINCO

Para caracterizar a presença de prata e óxido de zinco nas membranas eletrofiadas, inicialmente foi feita a análise da tinta de prata e da solução de óxido de zinco preparada. Esta análise foi realizada para confirmação da formação de prata e de óxido de zinco nas soluções misturadas ao TPU solubilizado para realização de eletrofiação.

O pó de prata e o de óxido de zinco foram analisados através de MEV (Figuras 33 e 34, respectivamente).

Figura 33: Pó de prata visualizado por MEV, com aumento de 500x.

Figura 34: Pó de óxido de zinco visualizado por MEV, com aumento de 250x.

Apesar do mesmo processo de obtenção dos pós, isto é, através do uso de precursores solúveis, observa-se que a prata apresenta um agregado mais fino (entre 10 e 80 μm) que o pó de óxido de zinco (entre 100 e 200 μm).

Para a avaliação dos elementos químicos presentes nos particulados, originados da secagem e transformação das soluções de precursores, foi utilizada a Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS). Os espectros obtidos por EDS para os produtos em pó resultantes, indicaram a presença de prata e óxido de zinco, como esperado (Figuras 35 e 36, respectivamente).

O espectro do material correspondente ao pó de prata apresenta, além da prata, um pequeno pico de magnésio e outro de carbono, provavelmente contaminantes. O espectro do material correspondente ao pó de óxido de zinco também apresenta o pico de carbono, porém, o de magnésio fica mascarado pelo do zinco.

Figura 35: Espectro EDS do pó de prata.

Figura 36: Espectro EDS do pó de óxido de zinco.

Pelo EDS foi possível quantificar cada elemento químico presente nas amostras, mesmo que de maneira pontual. Conforme esperado, no espectro EDS do pó de prata, foi encontrado 98,51% em massa de prata, isto é, quase a totalidade do material analisado era prata. No espectro EDS do pó de óxido de zinco, foi quantificado a presença de 76,53% em massa de zinco e 23,47% em massa de oxigênio. Considerando que a matéria-prima utilizada para obtenção de óxido de zinco foi o acetato de zinco diidratado ($C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$), pela proporção presente de zinco e oxigênio no espectro EDS é possível verificar que a transformação ocorreu. Considerando a composição em massa de ZnO , temos que o zinco representa 80,35% da massa total e o oxigênio, 19,66%. Comparando-se com os resultados obtidos, verifica-se que há uma boa aderência de valores, com diferença de 3,81%. Este excesso de oxigênio pode ser explicado pela presença de acetato de zinco não-convertido ou por impurezas que foram depositadas no material durante sua fixação no porta-amostras do equipamento.

4.7. ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS

Sabendo-se que as soluções utilizadas no processo de eletrofiação apresentavam as substâncias desejadas, no caso a prata e o óxido de zinco, os ensaios de EDS foram aplicados às membranas eletrofiadas de TPU.

Observa-se que o espectro EDS das membranas com aditivo de prata não apresenta o pico referente à prata, conforme mostrado na Figura 37. Foram analisadas tanto as membranas com 0,15% de prata quanto as de 0,35% de prata e em nenhum dos casos foi observada a presença de picos referentes ao elemento químico. A presença de pico de alumínio em grande intensidade deve-se ao fato da membrana eletrofiada ter sido analisada por EDS ainda depositada sobre a folha de alumínio. O pico de ouro refere-se ao recobrimento da membrana com o material condutor para visualização no equipamento. Como a concentração de prata é muito baixa, não foi possível a sua detecção pelo equipamento. Foram feitas análises das membranas retirando-as da folha de alumínio, mas não houve sucesso na detecção do pico da prata.

Figura 37: Espectro EDS do TPU/Ag 0,35%.

Por outro lado, as membranas de TPU/ZnO 5% foram também analisadas por EDS e observa-se a presença dos picos referentes ao zinco presente no material (Figura 38). Também há o pico do oxigênio. O pico de ouro refere-se ao recobrimento da membrana com o material condutor para visualização no equipamento.

Figura 38: Espectro EDS do TPU/ZnO 5%.

A utilização de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) para avaliação da presença de aditivos nas membranas eletrofiadas foi eficiente somente para identificação do óxido de zinco, não conseguindo detectar a prata. Pelos gráficos de EDS levantados, observa-se que a concentração de prata nas duas soluções preparadas com este aditivo é muito baixa, não sendo possível sua detecção por estar mascarado no ruído do espectro. Buscou-se analisar outras regiões na própria fibra e também numa área maior da membrana, mas em nenhum dos casos obteve-se um espectro com picos de prata visível. Como o óxido de zinco apresentava concentração bem mais elevada, foi possível observar seus picos nos espectros das membranas eletrofiadas.

4.8. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS

Para a caracterização da presença de prata e de óxido de zinco nas membranas eletrofiadas, além da utilização do EDS, também foi realizado o ensaio de difração de raios-X, que permite uma identificação mais exata das substâncias. Foram

obtidos um difratograma para a membrana eletrofiada de TPU, um para a membrana de TPU/Ag 0,35% e outro para a membrana de TPU/ZnO 5%. Para facilidade de comparação, os três difratogramas foram agrupados na mesma Figura 39.

Figura 39: Difratograma comparativo das membranas eletrofiadas.

Observa-se que o TPU apresenta-se amorfo, caracterizado pela banda a 2θ igual a 19° . O pico com ângulo 2θ igual a 29° pode ser explicado pelo agrupamento da fase rígida do material formando uma estrutura ordenada (42, 43).

Barakat et al. (2008) observaram que a presença de pico no difratograma da prata, com ângulo 2θ de 38° , corresponde a fase cristalina da prata, plano cristalino (111) (JCPDS, cartão nº 04-078). Este mesmo pico é observado no difratograma do TPU/Ag 0,35%. Segundo Padmavathy e Vijayaraghavan (2008) e Akhtar et al. (2012), nanopartículas de óxido de zinco apresentam pico no difratograma com ângulo 2θ de 32° , que corresponde ao plano cristalino (100), indicando estrutura policristalina de wurtzita (JCPDS, cartão nº 5-0664). Este é o pico observado no difratograma do TPU/ZnO 5%.

Apesar de possibilitar a identificação dos elementos químicos, a técnica não permite a quantificação de cada um deles.

4.9. CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

Através da calorimetria diferencial exploratória, foi analisado o impacto da inclusão de aditivos nas propriedades térmicas do TPU. As curvas completas do ciclo de aquecimento dos materiais ensaiados encontram-se na Figura 40.

Figura 40: Curvas DSC do ciclo de aquecimento das membranas eletrofiadas.

Na Figura 40, observa-se duas regiões com maior detalhamento: a região onde há mudanças de linha de base das curvas (capacidade calorífica), que representa a

temperatura de transição vítrea (T_g) dos segmentos flexíveis do material; e a região onde há picos largos endotérmicos, que representa a temperatura de fusão dos segmentos rígidos do material (T_m).

A região onde há mudança de patamar das curvas DSC encontra-se no intervalo de -80°C a 50°C , conforme detalhamento nas Figuras 41 e 42. A Figura 41 apresenta o intervalo de temperaturas no qual ocorre a transição vítrea dos segmentos flexíveis do TPU. Observando-se a Figura 41, verifica-se que o material sem aditivos apresenta T_g em $-47,5^{\circ}\text{C}$. A adição de 0,15% de prata resultou em uma $T_g = -47^{\circ}\text{C}$, a adição de 0,35% de prata resultou em $T_g = -45^{\circ}\text{C}$ e a de 5% de óxido de zinco para também $T_g = -45^{\circ}\text{C}$. A Figura 42 apresenta o intervalo de temperaturas no qual ocorre a transição vítrea dos segmentos rígidos do TPU. Observando-se a Figura 42, verifica-se que o material sem aditivos apresenta T_g em 32°C . A adição de 0,15% de prata resultou em uma $T_g = 37,5^{\circ}\text{C}$, a adição de 0,35% de prata resultou em $T_g = 32,5^{\circ}\text{C}$ e a de 5% de óxido de zinco, $T_g = 35,5^{\circ}\text{C}$. Os valores da temperatura de transição vítrea foram obtidos através do método das tangentes. Embora a variação seja pequena, a elevação da T_g pode ser explicada pelo enrijecimento da matriz decorrente da adição crescente de um segundo componente mais rígido e que também pode interagir com a matriz borrachosa através de ligações dipolares secundárias.

Figura 41: Curvas DSC na região da Tg dos segmentos flexíveis das membranas eletrofiadas.

Figura 42: Curvas DSC na região da Tg dos segmentos rígidos das membranas eletrofiadas.

A região das curvas DSC onde ocorrem transições endotérmicas está na faixa de 105°C até 200°C, conforme a Figura 43. Verifica-se que as curvas do TPU, do TPU/Ag 0,15% e do TPU/Ag 0,35% apresentam uma primeira transição endotérmica a 105°C, a segunda, a 160°C e a terceira, a 183°C.

Na temperatura de 105°C, ocorre o desarranjo dos segmentos rígidos que possuem ordenação limitada de curto alcance. Na temperatura de 160°C, ocorre a dissociação dos segmentos rígidos com ordenação de longo-alcance do TPU. Na temperatura de 183°C, ocorre a fusão das estruturas microcristalinas formadas pelo segmento rígido do TPU. Em cada uma das transições endotérmicas ocorre a fusão do segmento rígido específico e sua mistura com a fase formada pelos segmentos flexíveis (46 – 48).

O TPU/ZnO 5%, por sua vez, apresentou apenas duas transições endotérmicas, a primeira a 105°C e a segunda a 193°C. A presença de óxido de zinco na matriz de poliuretano altera o mecanismo de ordenação dos segmentos rígidos, sendo pontos de nucleação para formação de regiões semicristalinas (49). Assim, a primeira transição endotérmica a 105°C ocorre tanto no caso do TPU puro quanto para o TPU com aditivos de prata e óxido de zinco. Porém, a segunda e a terceira transições térmicas existentes para o TPU puro e o TPU com aditivos de prata acabam se mesclando em uma única etapa para o TPU com óxido de zinco, a uma temperatura de 193°C.

Figura 43: Curvas DSC na região da T_m das membranas eletrofiadas.

Durante o resfriamento, são observadas duas regiões de transição exotérmica, uma a temperatura mais elevada, 190°C, e a segunda, a 160 °C para TPU, TPU/Ag 0,15% e TPU/Ag 0,35%. Devido à baixa concentração de aditivos de prata nos TPU, estas três amostras apresentam curvas DSC de ciclo de resfriamento semelhantes. O TPU/ZnO 5%, por sua vez, apresentou as regiões de transição exotérmica a 190 °C e a 170 °C, conforme se verifica na Figura 44.

A 190°C, supõe-se que ocorre a formação de aglomeração de segmentos rígidos do TPU, regiões com maior densidade e porções cristalinas. Em temperatura mais baixa, a 160°C (170°C para o TPU/ZnO 5%), supõe-se que estruturas com menor grau de cristalinidade, formadas pela mistura de segmentos rígidos e flexíveis do TPU, aparecem (50).

Estes resultados indicam que a presença do ZnO, em concentração mais elevada, alterou a morfologia e organização dos segmentos rígidos do TPU. Por ser um possível sítio de nucleação de regiões cristalinas, sua presença pode explicar o

aumento da temperatura da segunda transição exotérmica, de 160°C, no TPU, para 170°C, no TPU/ZnO 5%.

Figura 44: Curvas DSC do ciclo de resfriamento das membranas eletrofiadas

4.10. TERMOGRAVIMETRIA (TG)

O impacto da inclusão de aditivos no TPU em relação à estabilidade térmica foi analisado através da análise termogravimétrica. A estabilidade térmica dos poliuretanos está relacionada com os tipos de segmentos rígidos, aos segmentos flexíveis e aos extensores de cadeia presentes na estrutura do material. Alterações nas curvas de perda de massa em função da temperatura, degradação térmica, do TPU são resultantes das modificações das interações associadas a estas três

estruturas. As curvas TG e DTG das membranas de TPU's eletrofiados encontram-se nas Figuras 45 e 46.

A decomposição térmica do poliuretano inicia-se pelo segmento rígido da estrutura química. Em temperaturas elevadas ocorre quebra das cadeias poliméricas e a consequente decomposição do TPU, gerando grupos diisocianato e polioliol, ou aminas, olefinas e dióxido de carbono (45, 51). Esta decomposição inicia-se a 250°C e prossegue até a temperatura de 350°C (Figuras 45 e 46).

A interação entre os segmentos rígidos do TPU afeta a estabilidade térmica do material. Nestas regiões onde há fortes interações intra e intermolecular, pode haver ordenação das cadeias, formando uma estrutura semicristalina (45).

Uma segunda etapa na decomposição térmica do TPU está relacionada com a decomposição dos seus segmentos flexíveis. Esta decomposição inicia-se a 350°C e prossegue até 450°C. Nesta etapa ocorre a decomposição dos segmentos flexíveis do TPU com a formação de monóxido de carbono, dióxido de carbono e estruturas como aldeídos, olefinas, cetonas, dentre outras (51).

As curvas TG e DTG da decomposição térmica das membranas de TPU's eletrofiados contendo aditivos de prata encontram-se na Figura 45. A presença de prata na matriz de TPU alterou a curva TG em relação ao material puro. Houve um pequeno aumento na temperatura inicial de degradação térmica dos segmentos rígidos do TPU, passando de 250°C (TPU) para 280°C (TPU com aditivos de prata). Também houve aumento na temperatura inicial de degradação dos segmentos flexíveis, passando de 360°C (TPU) para 365°C (TPU/Ag 0,15%) e 400°C (TPU/Ag 0,35%).

Chou et al. (2006) relacionam o aumento das temperaturas de degradação do TPU com um aumento na dificuldade de movimentação das cadeias poliméricas devido a presença da prata. Também citam a possibilidade da prata servir como ponto de nucleação para formação de regiões semicristalinas de TPU, impactando também na morfologia do material.

Figura 45: Curvas TG do TPU, do TPU/Ag 0,15% e do TPU/Ag 0,35%.

Com a adição de óxido de zinco na matriz de TPU, verificou-se que o impacto em sua curva TG foi diferente do observado em relação à adição de prata. As curvas de decomposição termogravimétrica das membranas dos TPU's eletrofiados contendo óxido de zinco encontram-se na Figura 46. Esperava-se que ocorreria um aumento das duas temperaturas de início de degradação térmica do TPU/ZnO 5% devido as suas propriedades de isolamento térmico e por sua capacidade de dificultar a movimentação das cadeias poliméricas pelo aumento da energia térmica. Porém, observou-se que ocorre redução da temperatura de início de degradação do TPU com aditivos de ZnO. Para os segmentos rígidos, a temperatura de início de degradação foi reduzida de 250°C para 200°C, e para os segmentos flexíveis, de 360°C para 310°C. No caso dos segmentos rígidos, há ainda o aparecimento de uma etapa adicional de degradação do material, com início em 280°C.

Ma e Zhang (2009) relacionam esta redução da temperatura de degradação dos segmentos rígidos ao fato do óxido de zinco ser um semiconductor intrínseco do tipo

n. O ZnO pode apresentar oxigênio livre e lacunas de oxigênio em sua estrutura, induzidas por calor. Este oxigênio livre pode promover a formação de radicais peróxido e danificar as cadeias poliméricas.

Desta forma, pode-se entender que a primeira etapa de degradação do TPU com óxido de zinco (a 200°C) corresponderia à degradação do material devido à ação dos radicais peróxido formado pelo óxido de zinco. A segunda etapa, com temperatura de início de 280°C, estaria relacionada à degradação térmica dos segmentos rígidos do TPU, gerando grupos diisocianato, poliálcool, ou aminas, olefinas e dióxido de carbono, entre outros.

Chattopadhyay e Webster (2008) descrevem que, no caso do poliéter-poliuretano, a ligação CH do grupo metileno adjacente ao oxigênio é sensível à oxidação. Em presença de O₂, pode haver quebras nas ligações C-O e, conseqüentemente, cisão das cadeias do poliéter, acelerando a degradação dos segmentos flexíveis do TPU, reduzindo sua temperatura inicial de degradação de 360°C para 310°C.

As curvas TG também mostram que há 30% de material residual para TPU/ZnO 5%. Ambrožič et al. (2013) verificaram que a presença de óxido de zinco provoca um aumento significativo na massa residual ao final da degradação, o que indicaria estabilização do TPU pela presença do óxido de zinco, já que esta massa residual é significativamente maior que a concentração de óxido de zinco no compósito.

Figura 46: Curvas TG do TPU e do TPU/ZnO 5%.

4.11. TESTES DE AÇÃO BIOCIDA

Os testes de ação biocida dos materiais eletrofiados foram realizados pelo laboratório Controlbio, conforme método quantitativo estabelecido pela AATCC – American Association of Textile Chemists and Colorists (AATCC 100:2012 – Avaliação de acabamentos antibacterianos em materiais têxteis). Nos ensaios, foram utilizadas as bactérias Gram-positiva *S. aureus* (ATCC nº 6538) e Gram-negativa *K. pneumoniae* (ATCC nº 4352), e os resultados estão listados na Tabela 7 e 8, respectivamente.

Tabela 7: Resultado dos testes da ação biocida utilizando bactéria *S. aureus*.

Material	Nº UFC (tempo zero)	Nº UFC (após 24 h de contato)	% de Redução de microorganismos
TPU	$3,8.10^5$	$2,6.10^5$	31,57%
TPU/Ag 0,15%	$3,8.10^5$	$2,1.10^3$	99,47%
TPU/Ag 0,35%	$3,8.10^5$	$1,7.10^3$	99,55%
TPU/ZnO 5%	$3,8.10^5$	8,5.10	99,98%

Tabela 8: Resultado dos testes da ação biocida utilizando bactéria *K. pneumoniae*.

Material	Nº UFC (tempo zero)	Nº UFC (após 24 h de contato)	% de Redução de microorganismos
TPU	$1,7.10^5$	$1,1.10^5$	35,30%
TPU/Ag 0,15%	$1,7.10^5$	$2,2.10^3$	98,70%
TPU/Ag 0,35%	$1,7.10^5$	4,5.10	99,97%
TPU/ZnO 5%	$1,7.10^5$	1,8.10	99,99%

Os resultados obtidos para os materiais com aditivos indicam que as amostras testadas apresentaram atividade antimicrobiana após 24 horas de contato com as bactérias *S. aureus* e *K. pneumoniae*. O TPU sem aditivos foi utilizado como amostra de referência e não apresentou atividade biocida relevante, conforme resultados das Tabelas 7 e 8, enquanto que a redução no número de bactérias após contato com os compósitos aditivados foi superior a 98 %.

As bactérias Gram-positivas normalmente possuem uma parede celular composta de membrana citoplasmática e uma membrana composta de múltiplas camadas de peptidoglicano. As bactérias Gram-negativas, por outro lado, possuem uma parede celular com estrutura mais complexa, com uma camada de peptidoglicano entre as membranas citoplasmática e a membrana externa. A morte das bactérias ocorre devido a danos ocasionados na sua parede celular. (53, 54).

Os resultados indicam que os aditivos apresentaram ação biocida com eficiência semelhante para as bactérias Gram-positiva e Gram-negativa, mesmo para concentrações baixas de prata (material com 0,15% em massa de prata).

Observa-se que o óxido de zinco na concentração em estudo possui propriedades biocidas muito semelhantes à da prata.

4.12. TESTE DE CITOTOXICIDADE

Os testes de citotoxicidade foram realizados para o TPU, o TPU com aditivos de prata (0,15% e 0,35% em massa) e o TPU com aditivos de óxido de zinco (5% em massa).

Os resultados encontrados após análise das placas no leitor de microplacas encontram-se no Apêndice A.

Para validar as análises efetuadas, o titânio comercial puro (Ticp) foi utilizado como controle negativo, isto é, não introduz alteração no crescimento celular, enquanto a solução de fenol foi utilizada como controle positivo, ou seja, é citotóxica.

Os testes foram realizados em quintuplicata, porém, os valores que divergiam demasiadamente dos demais foram desconsiderados, uma vez que pode haver variações na pipetagem dos meios de cultura nos poços. Os valores desconsiderados foram marcados com a cor cinza nas tabelas (Apêndice A).

Os resultados de viabilidade celular, VC (%), nos cinco sistemas foram plotados em função da concentração do extrato (%) (Figura 47).

Figura 47: Curvas de avaliação de citotoxicidade do TPU e controles.

Observa-se que a curva de viabilidade celular dos materiais em teste acompanhou a curva do controle negativo (Ticp), não apresentando a queda de viabilidade celular como a curva do controle positivo (solução de fenol 0,3%), indicando que as membranas de TPU não apresentam efeito citotóxico segundo este ensaio.

Nenhuma das membranas de TPU, seja pura ou com aditivos, mostrou Concentração Inibitória 50% ($CI_{50\%}$), que corresponde à concentração do extrato que mata 50% das células expostas no teste. Somente materiais que provocam redução de viabilidade celular abaixo de 70% são considerados citotóxicos, segundo a ISO 10993-5.

CONCLUSÕES

O processo de eletrofiação permitiu a obtenção de membranas, formadas por fibras nanométricas de materiais poliméricos e de compósitos, com propriedades muito interessantes, tais como, a elevada razão entre sua área superficial e seu volume, a presença de grande quantidade de poros, além da possibilidade de se adicionar características úteis de materiais diferentes.

Os parâmetros de processo afetaram diretamente a dimensão das fibras obtidas, sendo necessários os devidos ajustes para se obter os diâmetros desejados, submicrométricos. No estudo apresentado, a única variável de processo foi a tensão gerada pela fonte. Apesar de ser a única variável, obtiveram-se fibras nanométricas com diferentes diâmetros, mas na mesma ordem de grandeza, 200 a 800 nm de diâmetro.

Da mesma forma, os parâmetros das soluções também podem afetar a dimensão das fibras obtidas. Dependendo da condutividade elétrica da solução, da sua viscosidade e da sua tensão superficial, a tensão necessária aplicada pela fonte, entre a agulha e a placa coletora, pode ser maior ou menor, afetando, assim, o diâmetro final da fibra obtida. As condutividades das soluções estudadas variaram de $0,01 \text{ mS cm}^{-1}$ a $0,11 \text{ mS cm}^{-1}$. Nesta série de experimentos não foi observada uma correlação direta entre o valor da tensão aplicada e os diâmetros das fibras nas membranas eletrofiadas.

Como os aditivos ficaram solubilizados na solução polimérica, a sua dispersão nas fibras eletrofiadas foi bastante homogênea e não ocorreu a formação de aglomerados ou regiões de maior concentração de aditivos dentro da matriz, o que foi comprovado pela textura uniforme das fibras observada por MEV. Os poros formados entre as fibras eletrofiadas mostraram-se também grandes, o que permitiria uma boa permeabilidade ao ar das membranas, adequada, por exemplo, para aplicação que exigisse a respiração da pele em contato com a mesma.

As curvas de difração de raios-X das membranas formadas por fibras eletrofiadas permitiu caracterizar a presença dos aditivos de prata e óxido de zinco nas mesmas. Apesar de possibilitar a identificação dos elementos químicos, não foi possível a quantificação de cada um deles utilizando a técnica EDS.

A adição de ZnO à matriz de TPU alterou as características térmicas conforme verificado nos ensaios de DSC. Houve um aumento na temperatura de transição vítrea (T_g) dos segmentos flexíveis, de $-47,5^\circ\text{C}$ (TPU) para -45°C (TPU/ZnO 5%) e dos segmentos rígidos, de 32°C (TPU) para $35,5^\circ\text{C}$ (TPU/ZnO 5%). Houve também alteração do comportamento do material aditivado com ZnO na faixa de temperatura em que ocorre a fusão do TPU. O ZnO alterou a morfologia e a organização dos segmentos rígidos do TPU aumentando a temperatura da segunda transição endotérmica, de 183°C do TPU para 193°C no TPU/ZnO 5%.

Os resultados dos ensaios de termogravimetria mostraram que a adição de prata na matriz de TPU elevou ligeiramente a temperatura de início de degradação do material. A prata dificulta a movimentação das cadeias poliméricas e também atua como ponto de nucleação para formação de regiões semicristalinas de TPU. Maior impacto foi observado na adição de óxido de zinco na matriz de TPU. Houve redução na temperatura da primeira etapa de degradação do material, ocorrendo a 200°C , ocasionada pela degradação do material devido à ação dos radicais peróxido formados pelo óxido de zinco. A redução da temperatura da segunda etapa de degradação, com início a 280°C , está relacionada à aceleração da degradação dos segmentos flexíveis do TPU, devido à oxidação das ligações da cadeia do poliéter. A oxidação ocorre pela presença de oxigênio livre formado pelo ZnO.

A utilização de prata e óxido de zinco como aditivos tornaram o poliuretano termoplástico um material bactericida, reduzindo a quantidade de colônias de bactérias por contato, tanto para bactérias Gram-positivas (*S. aureus*), quanto para bactérias Gram-negativas (*K. pneumoniae*). A elevada área superficial disponível para atuar como superfície bactericida é muito maior do que em fibras de maiores diâmetros, considerando-se o mesmo volume de material, maximizando, assim, a ação bactericida.

O óxido de zinco apresentou propriedades bactericidas comparáveis à da prata, sendo uma alternativa na aplicação de materiais com estas finalidades, embora a concentração utilizada seja bem maior, 5 % comparado com 0,15 e 0,35 % de Ag. Entretanto, a obtenção de óxido de zinco é mais rápida e prática que a preparação de prata e, da mesma forma, a sua utilização no compósito com o poliuretano termoplástico é facilitada, dependendo apenas da dissolução de acetato de zinco em dimetilformamida.

O extrato dos materiais em cultura celular permitiu a avaliação da citotoxicidade dos mesmos, através da análise da interação entre o material e a linhagem de células CHO usada no estudo. O poliuretano termoplástico, aditivado ou não, mostrou possuir um comportamento semelhante ao do titânio comercial puro, considerado um material não citotóxico. O ensaio de citotoxicidade permitiu verificar que o contato dos extratos dos materiais não levou à morte as células e concluir que as amostras testadas de TPU, aditivadas ou não, com ação bactericida não são citotóxicas, indicando potencial de utilização como biomaterial.

REFERÊNCIAS

- (1) RATNER, B. D et al. (Ed). **Biomaterials Science** – An Introduction to Materials in Medicine – 2nd. Ed. London: Elsevier Academic Press, 2004. 851 p.
- (2) KHIL, M.-S. et al. Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 67B, n. 2, p. 675-679, 2003.
- (3) SUBIC, A (Ed). **Materials in Sports Equipment, Volume 2**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007. 347 p.
- (4) PARK, J. B.; BRONZINO, J. D. (Ed). **Biomaterials** – Principles and Applications, Boca Raton: CRC Press, 2003. 251 p.
- (5) XU, X. et al. Biodegradable electrospun poly(L-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles. **European Polymer Journal**, v. 42, p. 2081-2087, 2006.
- (6) LEE, S. Multifunctionality of layered fabric systems based on electrospun polyurethane / zinc oxide nanocomposite fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 114, p. 3652-3658, 2009.
- (7) DUMITRIU, S. (Ed.); POPA, V. (Ed.). **Polymeric Biomaterials: Structure and Function, Volume 1**. Boca Raton: CRC Press, 2013. 920 p.
- (8) INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 10993 – 1** – Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing. Genève, 2009. 32 p.
- (9) VISAKH, P. M. et al. (Ed.). **Advances in Elastomers I** – Blends and Interpenetrating Networks. Berlin: Springer Berlin Heidelber, 2013. 494p.
- (10) EL-SONBATI, A. Z. (Ed.). **Thermoplastic Elastomers**. New York: InTech, 2012. 416 p.
- (11) OZKAYNAK, M. U. et al. Polyurethane films for wound dressing applications. **Macromolecular Symposia**, v. 228, i. 1, p. 177-184, 2005.
- (12) SILVER, S. Bacterial Silver Resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. **FEM Microbiology Reviews**, v. 27, p. 341-353, 2003.
- (13) ATIYEH, B. S. et al. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature. **BURNS**, v. 33, p. 139-148, 2007.
- (14) LALA, N. L. et al. Fabrication of nanofibers with antimicrobial functionality used as filters: Protection against bacterial contaminants. **Biotechnology and bioengineering**, v. 97, n. 6, p. 1357 – 1365, 2007.

- (15) WALKER, S. B.; LEWIS, J. A. Reactive silver inks for patterning high-conductivity features at mild temperatures. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, p. 1419-1421, 2012.
- (16) MUÑOZ-BONILLA, A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Polymeric materials with antimicrobial activity – Review article. **Progress in Polymer Science**, v. 37, i. 2, p. 281-339, 2012.
- (17) SHEIKH, F. A. et al. Self synthesis of silver nanoparticles in/on polyurethane nanofibers: Nano-biotechnological approach. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, i. 6, p. 3189-3198, 2010.
- (18) CHO, J. W.; SO, J. H. Polyurethane-silver fibers prepared by infiltration and reduction of silver nitrate. **Materials Letters**, v. 60, i. 21-22, p. 2653-2656, 2006.
- (19) ENGEL, E.; et al. Nanotechnology in regenerative medicine: the materials side. **Trends in Biotechnology**, v. 26, i. 1, p. 39-47, 2007.
- (20) PADMAVATHY, N.; VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles – an antimicrobial study. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 9, 035004 (7pp), 2008.
- (21) YANG, H.; ZHU, S.; PAN, N. Studying the mechanisms of titanium dioxide as ultraviolet-blocking additive for films and fabrics by an improved scheme. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 92, p. 3201-3210, 2004.
- (22) CALLISTER W. D. **Materials science and engineering**: an introduction – 7th edition. New York: John Wiley & Sons, 2007. 832 p.
- (23) TAYLOR, G. Disintegration of Water Drops in an Electric Field. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences**, v. 280, p. 383-397, 1964.
- (24) AGARWAL, S.; WENDORFF, J. H.; GREINER, A., Use of electrospinning technique for biomedical applications. **Polymer**, v. 49, p. 5603-5621, 2008.
- (25) SILL, T. J.; VON RECUM, H. A., Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. **Biomaterials**, v. 29, p. 1989-2006, 2008.
- (26) FANG, J. et al. Applications of electrospun nanofibers. **Chinese Science Bulletin**, v. 53, i. 15, p. 2265-2286, 2008.
- (27) DEMIR, M. M. et al. Electrospinning of polyurethane fibers. **Polymer**, v. 43, p. 3303-3309, 2002.
- (28) BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 325-347, 2010.
- (29) FOX, R. W.; McDONALD, A. T.; PRITCHARD, P. J. **Introduction to Fluid Mechanics** – Sixth edition. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. 787 p.

- (30) BOYES, W. (Ed). **Instrumentation Reference Book** - 3rd. edition. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2002. 1062 p.
- (31) BRADLEY, D. A.; DAHLAN, K. Z.; ROY, S. C. Measurement of the viscosity of irradiated silicone using a differential viscometer. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 53, p. 921-928, 2000.
- (32) DOWN, R. D.; LEHR, J. H. (Ed.). **Environmental Instrumentation and Analysis Handbook**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. 1080 p.
- (33) AUSTRALIAN MICROSCOPY & MICROANALYSIS RESEARCH FACILITY. Australia. MyScope – training for advanced research – Scanning Electron Microscopy. Disponível em <<http://www.ammrf.org.au/myscope/sem/introduction/>>. Acesso em: 23 jun. 2013.
- (34) AUSTRALIAN MICROSCOPY & MICROANALYSIS RESEARCH FACILITY. Australia. MyScope – training for advanced research – X-ray Diffraction. Disponível em <<http://www.ammrf.org.au/myscope/xrd/introduction/>>. Acessor em: 23 jun. 2013.
- (35) SPEYER, R. F. **Thermal Analysis of Materials**. New York: Marcel Dekker, 1994. 285 p.
- (36) BERNAL, C. et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.
- (37) RODRÍGUEZ-GATTORNO, G. et al. Novel synthesis pathway of ZnO nanoparticles from the spontaneous hydrolysis of zinc carboxylate salts. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 46, p. 12597-12604, 2003.
- (38) INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 10993 – 5** – Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity. Genève, 2009. 46 p.
- (39) CORY, A. H. et al. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. **Cancer Communications**, v. 3, n. 7, p. 207-212, 1991.
- (40) RISS, T. L.; MORAVEC, R. A. Cell proliferation assays: Improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. In: Celis J. E. (Ed.) **Cell Biology: a Laboratory Handbook**, San Diego, Academic Press, 2006. v.1, p. 25-31.
- (41) RAGHAVAN, P. et al. Electrospun polymer nanofibers: The booming cutting edge technology. **Reactive & Funcional Polymers**, v. 72, p. 915-930, 2012.
- (42) CHEN, J. et al. Blends of thermoplastic polyurethane and polyether-polyimide: preparation and properties. **Polymer**, v. 42, p. 1493-1500, 2001.

- (43) JAYAKUMAR, R.; NANJUNDAN, S.; PRABAHARAN, M. Metal-containing polyurethanes, poly (urethane-urea)s and poly (urethane-ether)s: A review. **Reactive & Functional Polymers**, v. 66, i. 3, p. 299-314, 2006.
- (44) BARAKAT, N. A. M. et al. Surface plasmon resonances, optical properties, and electrical conductivity thermal hysteresis of silver nanofibers produced by the electrospinning technique. **Langmuir**, v. 24, p. 11982-11987, 2008.
- (45) CHATTOPADHYAY, D. K.; WEBSTER, D. C. Thermal stability and flame retardancy of polyurethanes. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 1068-1133, 2009.
- (46) SEYMOUR, R. W.; COOPER, S. L. Thermal analysis of polyurethane block polymers. **Macromolecules**, v. 6, n° 1, p. 48-53, 1973.
- (47) KOBERSTEIN, J. T.; GALAMBOS, A. F. Multiple melting in segmented polyurethane block copolymers. **Macromolecules**, v. 25, n° 21, p. 5618-5624, 1992.
- (48) LAMBA, N. M. K.; WOODHOUSE, K. A., COOPER, S. L. **Polyurethanes in Biomedical Applications**. Boca Raton: CRC Press, 1997. 288 p.
- (49) PAVLIČEVIĆ et al. The influence of ZnO nanoparticles on thermal and mechanical behavior of polycarbonate-based polyurethane composites. **Composites: Part B**, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compositesb.2014.01.016>. Acesso em: 23 jan. 2014.
- (50) ECEIZA, A. et al. Structure-property relationships of thermoplastic polyurethane elastomers based on polycarbonate diols. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 108, p. 3092-3103, 2008.
- (51) SHUFEN, L. et al. Studies on the thermal behavior of polyurethanes. **Polymer – Plastics Technology and Engineering**, v. 45, p. 95-108, 2006.
- (52) CHOU, C. et al. Enhanced thermal and mechanical properties and biostability of polyurethane containing silver nanoparticles. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, p. 1017-1024, 2006.
- (53) MA, X.; ZHANG, W. Effects of flower-like ZnO nanowhiskers on the mechanical, thermal and antibacterial properties of waterborne polyurethane. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1103-1109, 2009.
- (54) AMBROŽIČ, G. et al. An antibacterial macroporous polyurethane hybrid material with a high content of zinc ions: A template to uniform ZnO nanoparticles. **Materials Research Bulletin**, v.48, p. 1428-1434, 2013.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Resultado dos testes de citotoxicidade.

Os valores que divergiam demasiadamente dos demais foram desconsiderados, uma vez que pode haver variações na pipetagem da suspensão celular nos poços. Os valores desconsiderados foram marcados com a cor cinza nas Tabelas A.1 a A.6.

Tabela A.1: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU.

Amostra	Concentração do Extrato (%)				
	6,25	12,5	25	50	100
1	104,18	102,11	94,98	103,63	104,62
2	97,90	96,97	98,50	100,57	100,33
3	99,69	99,86	102,14	99,88	98,27
4	95,14	98,23	96,24	97,56	98,65
5	98,59	101,71	100,53	101,20	99,72
Média	99,10	99,78	98,48	100,57	100,32
Desvio Padrão	3,30	2,21	2,95	2,20	2,54

Tabela A.2: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU/Ag 0,15%.

Amostra	Concentração do Extrato (%)				
	6,25	12,5	25	50	100
1	104,68	99,04	93,96	97,69	102,37
2	95,30	94,64	101,10	98,09	90,38
3	97,67	90,26	92,75	89,29	95,28
4	91,31	91,91	92,96	87,48	80,70
5	98,60	102,04	101,23	98,87	110,89
Média	97,51	95,58	96,40	94,29	95,92
Desvio Padrão	4,89	4,91	4,37	5,44	11,49

Tabela A.3: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU/Ag 0,35%.

Amostra	Concentração do Extrato (%)				
	6,25	12,5	25	50	100
1	103,46	99,85	107,53		105,10
2	88,62	98,00	95,75	84,64	94,75
3	110,82	93,27	98,40	92,47	95,87
4	96,26	97,98	99,13	97,06	94,50
5	100,29	101,38	96,22	94,77	93,18
Média	99,89	98,09	99,41	92,24	96,68
Desvio Padrão	8,26	3,05	4,76	5,40	4,80

Tabela A.4: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de TPU/ZnO 5%.

Amostra	Concentração do Extrato (%)				
	6,25	12,5	25	50	100
1	100,99	107,57	99,74	104,62	96,60
2	101,27	100,46	97,89	98,97	98,56
3	102,18	100,50	98,51	100,97	101,56
4	104,05	102,58	96,99	99,47	92,83
5	97,08	104,32	103,37	102,44	100,24
Média	101,11	103,09	99,30	101,29	97,96
Desvio Padrão	2,55	2,98	2,48	2,30	3,42

Tabela A.5: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de Ticp (Controle Negativo).

Amostra	Concentração do Extrato (%)				
	6,25	12,5	25	50	100
1	104,74	101,02	99,73	101,50	
2	98,93	98,92	99,46	96,45	98,14
3	100,83	99,83	101,45	100,21	97,62
4	98,40	98,48	97,30		
5	99,61	101,37	94,35	100,09	103,54
Média	100,50	99,92	98,46	99,56	99,77
Desvio Padrão	2,54	1,27	2,73	2,17	3,28

Tabela A.6: Resultados de viabilidade celular (%) para as amostras de Fenol (Controle Positivo).

Amostra	Concentração do Extrato (%)				
	6,25	12,5	25	50	100
1		102,84	95,42	63,92	3,14
2	98,59	94,53		48,93	0,09
3	99,17	89,97	86,85	59,69	0,48
4	96,81	93,00	86,93	55,81	0,99
5	98,48	98,24	93,41	68,16	1,71
Média	98,26	95,72	90,65	59,30	1,28
Desvio Padrão	1,02	4,97	4,42	7,41	1,20