

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS – PPGCEM
MESTRADO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA ELETROFIADA ANTIBACTERIANA
DE POLICAPROLACTONA (PCL) E NANOPARTÍCULAS DE ZnO PARA
APLICAÇÃO EM REPARO TECIDUAL**

RONALDO BIANCHINI DA SILVEIRA

**Criciúma
2024**

RONALDO BIANCHINI DA SILVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA ELETROFIADA ANTIBACTERIANA
DE POLICAPROLACTONA (PCL) E NANOPARTÍCULAS DE ZnO PARA
APLICAÇÃO EM REPARO TECIDUAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof^(a). Dr^(a). Sabrina Arcaro
Coorientador: Prof. Dr. Thauan Gomes

Criciúma

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S587c Silveira, Ronaldo Bianchini da.

Desenvolvimento de membrana eletrofiada antibacteriana de policaprolactona (PCL) e nanopartículas de ZnO para aplicação em reparo tecidual / Ronaldo Bianchini da Silveira. - 2024.
109 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, 2024.
Orientação: Sabrina Arcaro.
Coorientação: Thauan Gomes.

1. Engenharia biomédica. 2. Engenharia tecidual. 3. Cicatrização de feridas. 4. Curativos. 5. Óxido de zinco. 6. Materiais nanoestruturados. I. Título.

CDD 23. ed. 610.28

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

RONALDO BIANCHINI DA SILVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA ELETROFIADA ANTIBACTERIANA
DE POLICAPROLACTONA (PCL) E NANOPARTÍCULAS DE ZnO PARA
APLICAÇÃO EM REPARO TECIDUAL**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PPGCEM (Área de concentração: Tecnologia de Materiais) da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente



ELIDIO ANGIOLETTO

Data: 25/02/2024 17:36:25-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Elidio Angioletto

Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente



MATHEUS VINICIUS GREGORY ZIMMERMANN

Data: 26/02/2024 08:48:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Matheus Vinicius Gregory Zimmermann

Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente



RACHEL PASSOS DE OLIVEIRA SANTOS

Data: 26/02/2024 11:48:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Rachel Passos de Oliveira Santos

Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

Dedico este trabalho a Maria Fernanda Ebs, Oraci da Silveira, Sirlei Bianchini da Silveira e Higor Bianchini da Silveira, as pessoas mais importantes em minha vida e essenciais para a realização de tudo que vivi nestes dois anos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo privilégio que sei que nem todos tem. Meus agradecimentos também a Capes, a UNESC e a todo PPGCEM, pela grande oportunidade que tive de crescer como profissional e me tornar um pesquisador: a realização de uma criança que sonhava em ser cientista. Um agradecimento a todo corpo do Certec, desde os professores, os doutorandos, meus colegas mestrandos e aos ICs, que sempre me fizeram sentir acolhido e deram todo apoio e confiança que precisei para realização do trabalho. Minha eterna gratidão à empresa Gávea Química do Brasil, por ter sempre incentivado que continuasse estudando e ter cedido o tempo que necessitava para realização deste trabalho de mestrado. Agradeço em especial a Maria Fernanda Ebs, Oraci Silveira, Sirlei Bianchini da Silveira e Higor Bianchini da Silveira: minha família, minha base e fortaleza que sempre deu apoio para que nunca me deixasse vencer pelas adversidades do caminho. Por fim agradeço a meu coorientador Dr. Thauan Gomes e a orientadora Dra. Sabrina Arcaro pela ajuda, conhecimento, conselhos, experiências passadas e sobretudo pela inspiração: sem o incentivo deles não estaria aqui.

RESUMO

A pele, vital para a defesa do corpo, pode sofrer ferimentos que exigem tratamento médico, especialmente em condições como diabetes ou infecções. Os curativos convencionais têm limitações, incluindo baixa capacidade de absorção de exsudatos, o que requer trocas frequentes e pode causar dor e atraso na recuperação. O uso de antibióticos para infecções também apresenta problemas ambientais, de saúde e criação de cepas resistentes de bactéria. Assim, o objetivo deste trabalho é a obtenção de uma membrana eletrofiada de PCL/PEO com adição de nanopartículas de ZnO com características físicas e morfológicas ideais e que possua atividade antimicrobiana, para utilização como curativo funcional no tratamento de feridas. Para isso foi conduzido um estudo da influência dos parâmetros de processo e adição de ZnONPs nas características da membrana, as amostras foram avaliadas quanto a hidrofiliabilidade, por meio do ângulo de contato, absorção de fluidos, FTIR, morfologia (MEV), degradação em SBF, liberação de zinco por ICP-OES, citotoxicidade e atividade antimicrobiana frente a bactéria *Staphylococcus aureus*. O PEO foi introduzido com sucesso na matriz de PCL, comprovado pela análise de FTIR. A membrana com composição PCL71PEO apresenta caráter hidrofílico, com um ângulo de contato de 30,22 ° após 3 s de contato, com uma absorção de fluidos de 246,7%. A morfologia das membranas foi controlada de forma a obter uma porosidade de $76,57 \pm 0,70\%$ e tamanho de poro de $21,46 \pm 8,49 \mu\text{m}$ com fibras apresentando um certo grau de alinhamento, o diâmetro porém ficou acima da faixa desejada de $1 \mu\text{m}$, com $2,93 \pm 2,05 \mu\text{m}$ para a membrana com adição de 5% de zinco. O material obtido apresentou liberação de zinco gerando ação antimicrobiana comprovada pela formação de um halo de inibição de $27,51 \pm 1,44 \text{ mm}$ com 5% de ZnO e é atóxico às células humanas. A membrana eletrofiada com adição de ZnONPs apresenta potencial para utilização como curativo funcional em feridas infeccionadas, com absorção de exsudatos dando possibilidade de vida útil maior, menos trocas de curativo e proteção antimicrobiana, representando uma boa alternativa aos tratamentos usuais.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas, curativos funcionais, nanopartículas, materiais antimicrobianos, ZnO.

ABSTRACT

The skin, vital for the body's defense, can suffer injuries that require medical treatment, especially in conditions such as diabetes or infections. Conventional dressings have limitations, including a low capacity to absorb exudates, which requires frequent changes and can cause pain and delayed recovery. The use of antibiotics for infections also presents environmental and health problems and the creation of resistant strains of bacteria. The aim of this study was therefore to obtain a PCL/PEO electrospun membrane with the addition of ZnO nanoparticles with ideal physical and morphological characteristics and which possesses antimicrobial activity, for use as a functional dressing in the treatment of wounds. To this end, a study was carried out into the influence of the process parameters and the addition of ZnONPs on the membrane's characteristics. The samples were evaluated for hydrophilicity, by means of contact angle, fluid absorption, FTIR, morphology (SEM), degradation in SBF, zinc release by ICP-OES, cytotoxicity and antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. PEO was successfully introduced into the PCL matrix, proven by FTIR analysis. The membrane with PCL71PEO composition has a hydrophilic character, with a contact angle of 30.22° after 3 s of contact, with a fluid absorption of 246.7%. The morphology of the membranes was controlled in order to obtain a porosity of $76,57 \pm 0,70\%$ and a pore size of $21,46 \pm 8.49 \mu\text{m}$ with fibers showing a certain degree of alignment, but the diameter was above the desired range, with $2.93 \pm 2.05 \mu\text{m}$ for the membrane with 5% zinc addition. The material obtained showed zinc release generating antimicrobial action proven by the formation of an inhibition halo of $27.51 \pm 1.44 \text{ mm}$ with 5 % ZnO and is non-toxic to human cells. The electrospun membrane with added ZnONPs has the potential to be used as a functional dressing for infected wounds, absorbing exudates and providing a longer service life, fewer dressing changes and antimicrobial protection, representing a good alternative to the usual treatments.

Keywords: Wound healing, functional dressings, nanoparticles, antimicrobial materials, ZnO.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura básica da pele humana.	20
Figura 2: Esquema das fases da cicatrização de uma ferida	22
Figura 3: Mecanismo antibacteriano das nanopartículas de ZnO.....	30
Figura 4: Estrutura do PCL	33
Figura 5: Estrutura do POE.	35
Figura 6: Esquema básico de um equipamento de eletrofiação com disposição horizontal e coletor rotativo.	37
Figura 7: Esquema geral da produção e caracterização dos materiais.	40
Figura 8: Esquema do procedimento de preparação das soluções para eletrofiação.....	44
Figura 9: Equipamento de eletrofiação utilizado.....	47
Figura 10: Difratoograma de raios x das nanopartículas comerciais utilizadas.	54
Figura 11: Análise morfológica das nanopartículas de Zinco.	55
Figura 12: Análise da concentração mínima inibitória das nanopartículas de ZnO em placa de 96 poços.	57
Figura 13: Ângulo de contato de gota medido na superfície de membranas de diferentes composições.....	59
Figura 14: Absorção de fluidos medida em % de fluidos absorvida em relação a massa de membrana.	60
Figura: 15: FTIR das membranas PCL e PCL31PEO.....	61
Figura 16: Micrografia das membranas eletrofiadas mostrando a variação na morfologia com a variação do parâmetro vazão. a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-0,07; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-0,07; c) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-0,12; d) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-0,12.	63
Figura 17: Micrografia das membranas eletrofiadas mostrando a variação na morfologia com a variação do parâmetro tensão de trabalho. a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-16kV; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-16kV; c) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO- 20kV; d) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-20kV.....	65

Figura 18: Micrografia das membranas eletrofiadas mostrando a variação na morfologia com a variação do parâmetro distância de trabalho....	67
Figura 19: Micrografia da membrana eletrofiada mostrando uma combinação dos fatores tensão e distância de trabalho. a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-20cm-20kV; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-20cm-20kV.....	68
Figura 20: Membranas obtidas pela variação da velocidade de translação da agulha.	70
Figura 21: Membranas obtidas pela variação da velocidade de translação da agulha.	72
Figura 22: Micrografia das membranas contendo diferentes quantidades de ZnO. a) PCL71PEO-Z1; b) Distribuição de diâmetro de fibra PCL71PEO-Z1; c) PCL71PEO-Z2,5; d) Distribuição de diâmetro de fibra PCL71PEO-Z2,5; e) PCL71PEO-Z5; b) Distribuição de diâmetro de fibra PCL71PEO-Z5.....	76
Figura 23: EDS das membranas contendo Zinco. (a – d) 1%; (b – e) 2,5%; (c – f) 5%.....	78
Figura 24: Ângulo de contato de gota medido na superfície de membranas com adição de Zinco em diferentes quantidades.	79
Figura 25: FTIR das membranas contendo Zinco.a) FTIR das membranas mostrando os picos característicos do polímero; b) No detalhe pico localizado na faixa dos 1720 cm ⁻¹	81
Figura 26: Degradação das membranas de diferentes composições ao longo do tempo em SBF.....	82
Figura 27: Micrografia das membranas degradadas em SBF por 11 semanas.....	83
Figura 28: Liberação de ZnO a partir da membrana contendo 5% de adição de ZnONPs.....	84
Figura 29: Halo de inibição formado pela ação antimicrobiana das membranas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . Membranas com adição de ZnONPs nas concentrações 1) Z1; 2) Z2,5; 3) Z5; 7) PCL71PEO (sem adição de Zinco)	86
Figura 30: Viabilidade celular avaliada pelo teste de MTT em linhagem celular NiH3T3.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Utilização do PCL em trabalhos de cicatrização de feridas.	34
Tabela 2: Identificação das amostras obtidas de acordo com os parâmetros de processo variados.	46
Tabela 3 Propriedades das membranas com variação do parâmetro vazão.	63
Tabela 4: Propriedades das membranas com variação do parâmetro tensão.	65
Tabela 5: Propriedades das membranas com variação do parâmetro distância de trabalho.	68
Tabela 6: Propriedades das membranas com variação do parâmetro velocidade de translação.	71
Tabela 7: Propriedades das membranas com variação do parâmetro velocidade de rotação do coletor.	73
Tabela 8: Propriedades das membranas com diferentes concentrações de ZnONPs.	78
Tabela 9: Halo de inibição formado pela ação das membranas contendo ZnONPs.	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- AgNPs – Nanopartículas de prata
- BET – Ensaio de Brunauer-Emmett-Teller
- BHI – meio de cultura *brain-heart-infusion*
- DMEM – *Modified Eagle Medium*
- DRX – Difração de raios X
- EDS – Espectroscopia de raios X por energia dispersiva
- EROs – Espécies reativas de oxigênio
- FTIR – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
- FU – Absorção de fluidos
- GO – óxido de grafeno
- ICP-OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado
- MEC – Matriz extracelular
- MET – Microscopia eletrônica de transmissão
- MEV – Espectroscopia eletrônica de varredura
- MBC – Concentração mínima bactericida, do inglês *minimal bactericidal concentration*
- MIC – Concentração mínima inibitória, do inglês *minimal inhibitory concentration*
- MTT – brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
- NPs – Nanopartículas
- PBS – *Phosphate-buffered saline*
- PCL – Poli(Caprolactona)
- PEG – Poli(etileno glicol)
- PEO – Poli(Óxido de Etileno)
- PGA – Poli(ácido glicólico)
- PLA – Poli(ácido láctico)
- PU – Poliuretano
- PVA – álcool poli vinílico
- PVC – Poli(cloreto de vinila)
- PVP – Poli vinil pirrolidona
- SBF – *Simulated body fluid*

UV – Luz ultravioleta

ZnONPs – Nanopartículas de óxido de zinc

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1 PELE	20
3.2 CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS (<i>WOUND HEALING</i>)	21
3.3 BIOMATERIAIS	26
3.4 <i>WOUND DRESSING</i> – CURATIVOS FUNCIONAIS	27
3.4.1 Óxido de Zinco	29
3.4.2 Polímeros biocompatíveis	32
3.4.2.1 Policaprolactona (PCL)	32
3.4.2.2 Polietileno glicol (PEG)	35
3.5 ELETROFIAÇÃO (<i>ELECTROSPINNING</i>)	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 MATERIAIS	40
4.1.2 Nanopartículas de Óxido de Zinco (ZnONPs)	41
4.1.2.1 Caracterização das nanopartículas de ZnO	41
4.2 MÉTODOS	43
4.2.1 Preparo das soluções poliméricas	44
4.2.2 Eletrofiação	45
4.2.3 Caracterização das membranas	47
4.2.3.1 Análise morfológica	47
4.2.3.2 Caracterizações Físicas	48
4.2.3.3 Absorção de fluidos	49
4.2.3.4 Análise de molhabilidade por ângulo de contato	49
4.2.3.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	49
4.2.3.6 Estudo da degradação das membranas	50
4.2.3.7 Análise da liberação de ZnO a partir da membrana	50
4.2.3.8 Ensaio Antimicrobiano	51
4.2.3.9 Teste de citotoxicidade, adesão e proliferação Celular	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ZNO	54
5.1.1 Análise estrutural: Difração de raios x	54
5.1.2 Análise Morfológica: Microscopia Eletrônica de Transmissão ..	55

5.1.3	Análise de área de superfície específica	55
5.1.4	Atividade antimicrobiana	56
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS.....	57
5.2.1	Influência da adição de PEO em matriz de PCL	57
5.2.2	Otimização dos Parâmetros de Processo de Eletrofição	62
5.2.2.1	Influência da Vazão na morfologia das membranas	62
5.2.2.2	Influência da Tensão na Morfologia das Membranas	64
5.2.2.3	Influência da Distância de Trabalho nas Membranas	66
5.2.2.4	Influência da combinação de fatores nas membranas	68
5.2.2.5	Influência da velocidade de translação da agulha nas membranas	69
5.2.2.6	Influência da velocidade de rotação do coletor nas membranas	72
5.2.3	Efeito da Adição de ZnO nas Membranas	75
5.2.4	Molhabilidade das membranas contendo ZnO.....	79
5.2.5	FTIR das membranas contendo Zinco	80
5.2.6	Análise da degradação das membranas eletrofiadas.....	81
5.2.7	Análise da Liberação de Zinco.	84
5.2.8	Atividade Antimicrobiana das membranas contendo ZnONPs ..	86
5.2.8	Citotoxicidade	88
CONCLUSÃO	90

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de pequenos ferimentos na pele é algo comum em nosso dia a dia. A cicatrização de tais ferimentos é um processo celular complexo, mas que normalmente pode ser feita sem a necessidade de assistência médica. Contudo, estas lesões ou ferimentos podem infeccionar por ação de bactérias, sofrer inflamações ou atrasos na recuperação da pele causados por condições como a diabetes ou má-nutrição (AHMED *et al.*, 2021; BEHERA *et al.*, 2017; ZHOU *et al.*, 2022). O atraso na cicatrização caracteriza um ferimento crônico, em que não há a progressão normal do processo de cicatrização, com um prolongamento que ocorre em geral na fase inflamatória; com essa fase se prolongando há um impedimento das fases seguintes do processo e a ferida acaba não cicatrizando (GOWDA *et al.*, 2023; WU *et al.*, 2023). Estes ferimentos críticos necessitam de uma atenção especial durante o processo de cura, que na maioria das vezes requerem o uso de antibióticos.

A utilização de antibióticos em excesso na sociedade é um assunto que gera preocupação na comunidade científica (BARLOW, 2018; OUYANG *et al.*, 2018, 2022). A utilização em larga escala de antibióticos pode gerar cepas cada vez mais resistentes que requerem dosagens crescentes de medicamento, um grupo de bactérias chamado de ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Enterobacter species*) está presente pelos hospitais no mundo todo demonstrando alta resistência à antibióticos. (ALY; AHMED, 2021; CHAVEZ-ESQUIVEL *et al.*, 2021).

Vários trabalhos vêm buscando na utilização de nanopartículas (NPs) um meio para evitar o uso de antibióticos em ferimentos na pele que necessitam de um agente antibacteriano (JOHARI *et al.*, 2022; KANTIPUDI *et al.*, 2018; YADAV; YADAV; VERMA, 2021). As NPs podem ser usadas como agentes que encapsulam e liberam extratos, medicamentos ou íons controladamente ou então podem ser diretamente aplicadas NPs que possuem capacidade bactericida. Este é o caso de NPs metálicas como as de Ag, Au (MENDES *et al.*, 2020) ou Cu (MA *et al.*, 2022), ou cerâmicas como óxido de zinco (ZnO), óxido de grafeno (ALY; AHMED, 2021), TiO₂ (BEHERA *et al.*, 2017), entre outras.

A aplicação de curativos especiais baseados em nanotecnologia para aplicação em feridas vem crescendo e sendo estudada com interesse pela área da saúde e

biomateriais (BORGES *et al.*, 2022; GAO *et al.*, 2017; HARANDI *et al.*, 2022; HOSSEINI *et al.*, 2022; HUANG *et al.*, 2023; KARUPPANNAN *et al.*, 2021; NASERINOSAR *et al.*, 2017; SHAHVERDI *et al.*, 2022). As características buscadas pelos pesquisadores são a biocompatibilidade, resistência mecânica semelhante à da pele, baixa citotoxicidade, alta adesão celular, morfologia porosa - que permite as trocas gasosas, e caráter hidrofílico ou alta molhabilidade que permita a entrada de água e a retenção de líquidos exsudatos mantendo o ferimento em uma umidade adequada e o tratamento adequado da infecção, que juntas possibilitem uma recuperação acelerada (AFSHARIAN; RAHIMNEJAD, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2021; ZHOU *et al.*, 2022).

Curativos funcionais contendo materiais compósitos nanoestruturados que imitam a estrutura da matriz extracelular (MEC) tem demonstrado capacidade superior de regenerar os tecidos da pele quando comparados a curativos convencionais (ZHOU *et al.*, 2022). Tais nanocompósitos quando apresentados na forma de membranas fibrosas favorecem ainda uma alta adesão celular e aceleram os processos de reparo tecidual. Busca-se nesses compósitos fibras de diâmetros entre 300 e 1000 nm, porosidade controlável entre 60 e 90% e tamanho de poro na faixa entre 20 até 125 μm , que é ideal para a reparação da pele de mamíferos em geral (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; YANG *et al.*, 2001). (REZVANI GHOMI *et al.*, 2022)

A poli(caprolactona) PCL tem sido usada constantemente na elaboração de nanocompósitos aplicados em engenharia tecidual. Apresenta boas características de biocompatibilidade, propriedades mecânicas e biodegradabilidade lenta. Sua baixa molhabilidade, decorrente de um alto caráter hidrofóbico, limita a utilização como polímero puro na aplicação em curativos para regeneração da pele (AHMED *et al.*, 2021), mas seu uso tem sido empregado em conjunto com outros polímeros biocompatíveis como quitosana (EKAMBARAM *et al.*, 2022), acetato de celulose (AHMED; MENAZEA; ABDELGHANY, 2020), alginato (HU; LIN, 2022) e álcool polivinílico (AGARWAL *et al.*, 2021) e Poli(óxido de etileno) (PEO).

Os nanocompósitos aplicados nas áreas biomédicas tem frequentemente utilizado nanopartículas de prata como agente bactericida. Entretanto a prata em sua forma metálica não é facilmente dispersa na matriz e pode sofrer aglomeração, o que causa uma redução no potencial antibacteriano (FAN *et al.*, 2016). O estudo de Reithofer *et al.* (2014) indica que o tamanho ideal para as nanopartículas de prata (AgNPs) é de 25 nm (REITHOFER *et al.*, 2014). A nanopartícula metálica de prata

pode sofrer oxidação, o que prejudica as propriedades do compósito (AHMED *et al.*, 2021), além disso as AgNPs apresentam uma toxicidade maior para células de mamíferos quando comparado com nanopartículas de óxidos como TiO₂ e ZnO em testes *in vitro* em altas doses, as AgNPs podem ainda causar efeitos de toxicidade crônica de longo prazo, já que a prata permanece no organismo por longo tempo e pode acumular (BONDARENKO *et al.*, 2013; KAWATA; OSAWA; OKABE, 2009).

O óxido de zinco (ZnO) vem sendo empregado em alguns trabalhos em curativos para a pele na forma de nanopartículas, apresentando boas propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e aumentando a eficiência da cicatrização. Como vantagem o zinco possui uma baixa toxicidade para células de mamíferos e é reconhecidamente seguro para aplicações dérmicas (LIU *et al.*, 2023; YADAV; YADAV; VERMA, 2021).

Por essa razão, há um grande interesse pela pesquisa em novas alternativas de materiais que desempenhem bem a função de curativos para tratamento de ferimentos na pele, em especial de ferimentos agudos ou crônicos. O ZnO já é frequentemente utilizado em produtos farmacêuticos e cosméticos como protetores solares, pomadas cicatrizantes, pomadas para assaduras, tratamento de acne, entre outras, devido às suas propriedades benéficas para a pele (LANSDOWN *et al.*, 2007; MOHAMMED *et al.*, 2019; SCHWARTZ; MARSH; DRAELOS, 2005).

Recentemente estudos têm sido conduzidos utilizando-se de nanofibras carregadas de nanopartículas cerâmicas para aplicações em reparo tecidual, porém não são reportados estudos que utilizem membranas compostas por nanofibras de PCL/PEO carregadas com nanopartículas de ZnO para atuar como curativos funcionais com ação antimicrobiana. Diante disto, o objetivo deste trabalho é a produção de uma membrana com as características desejadas para aplicação como curativo no tratamento de ferimentos na pele. A membrana será desenvolvida por meio da técnica de eletrofiação, utilizando um coletor rotatório não estático, gerando um nanocompósito que une nanopartículas de ZnO com atividade antimicrobiana e nanofibras de PCL/PEO. As membranas obtidas serão testadas quanto à morfologia, molhabilidade, perfil de degradação, perfil de liberação de zinco, atividade antimicrobiana e citotoxicidade. Isto determinará a potencial utilização dos nanocompósitos obtidos como curativos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver membranas eletrofiadas PCL/PEO carregadas com nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs), que demonstrem propriedades antimicrobianas e atuem no reparo tecidual.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência das variáveis do processo (vazão, distância agulha - coletor, rotação, tensão) nas propriedades físicas (diâmetro da fibra, porosidade, tamanho de poro) de membranas eletrofiadas.
- Estudar a influência da adição de PEO na molhabilidade das membranas.
- Verificar a influência da quantidade de ZnO na atividade antimicrobiana das membranas.
- Avaliar a citotoxicidade das membranas com ação antimicrobiana constatada.
- Avaliar o perfil de liberação das nanopartículas de ZnO.

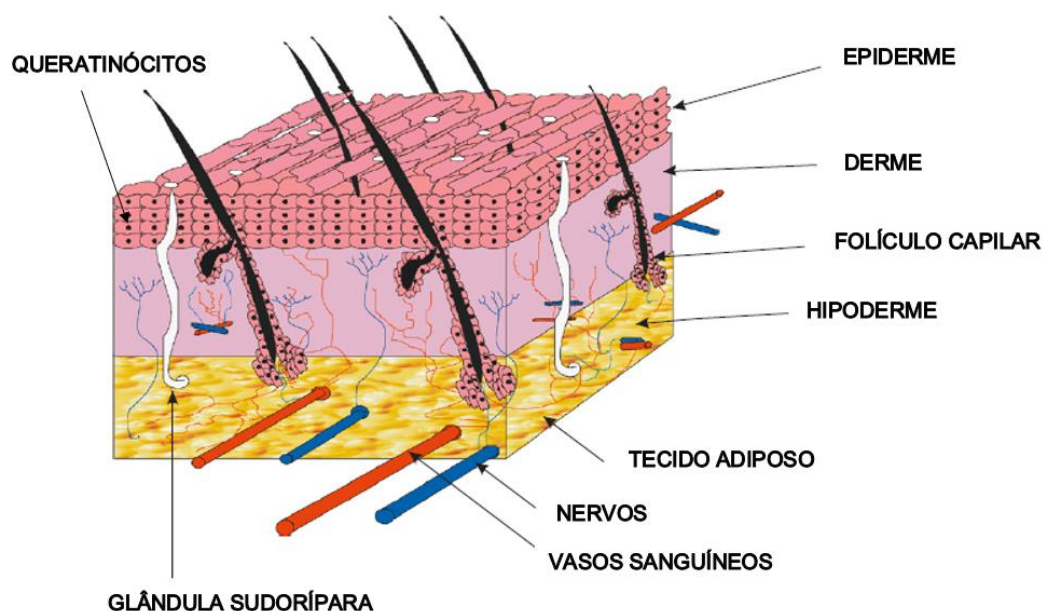
3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PELE

A pele é o maior órgão do corpo em organismos vertebrados e desempenha uma série de funções, protege os órgãos internos de danos externos, forma uma barreira contra microrganismos, calor, agentes químicos, danos físicos e radiação. Outras funções importantes da pele incluem a detecção sensorial, a regulação de temperatura, produção de vitamina D e serve como um suporte para uma série de apêndices como folículos, glândulas sebáceas e sudoríparas (HAZRATI; DAVARAN; OMIDI, 2022; ZHONG; ZHANG; LIM, 2010).

A pele é composta por 3 camadas distintas e altamente complexas, cada uma composta por um arranjo celular diferente, sendo elas a epiderme, a derme e a hipoderme. Em seu funcionamento normal a pele tem uma capacidade de auto renovação elevada, de forma que a cada período de 2 a 3 semanas uma nova camada de pele é sobreposta (YILDIRIMER; THANH; SEIFALIAN, 2012).

Figura 1: Estrutura básica da pele humana.



Fonte: Adaptado de (YILDIRIMER; THANH; SEIFALIAN, 2012).

A camada mais externa é a epiderme, é uma camada fina e composta em sua maioria por células, é nossa barreira natural responsável pelo controle da perda de

água e proteção contra danos externos. As células mais presentes na epiderme são os queratinócitos que são organizados em camadas e são frequentemente renovados, localizam-se na parte mais externa, próximo à camada mais inferior ficam os melanócitos, que são encarregados pela pigmentação da pele (METCALFE; FERGUSON, 2007; ZHONG; ZHANG; LIM, 2010).

A derme é separada de epiderme por uma membrana e é a camada mais grossa da pele nos mamíferos, é a camada responsável por proporcionar resistência e flexibilidade ao tecido e suporta uma alta vascularização, o sistema linfático e os feixes do sistema nervoso. É uma camada relativamente ausente de células, composta em sua maior parte pela matriz extracelular (MEC) formada por colágeno, elastina e glicosaminoglicanos (METCALFE; FERGUSON, 2007; ZHONG; ZHANG; LIM, 2010). As células mais presentes nessa camada são os fibroblastos, estes são células mesenquimais responsáveis pela produção de enzimas como proteases e collagenases, além de depositar colágeno e fibras elásticas da MEC (DRISKELL; WATT, 2015; METCALFE; FERGUSON, 2007; MORETTI et al., 2022).

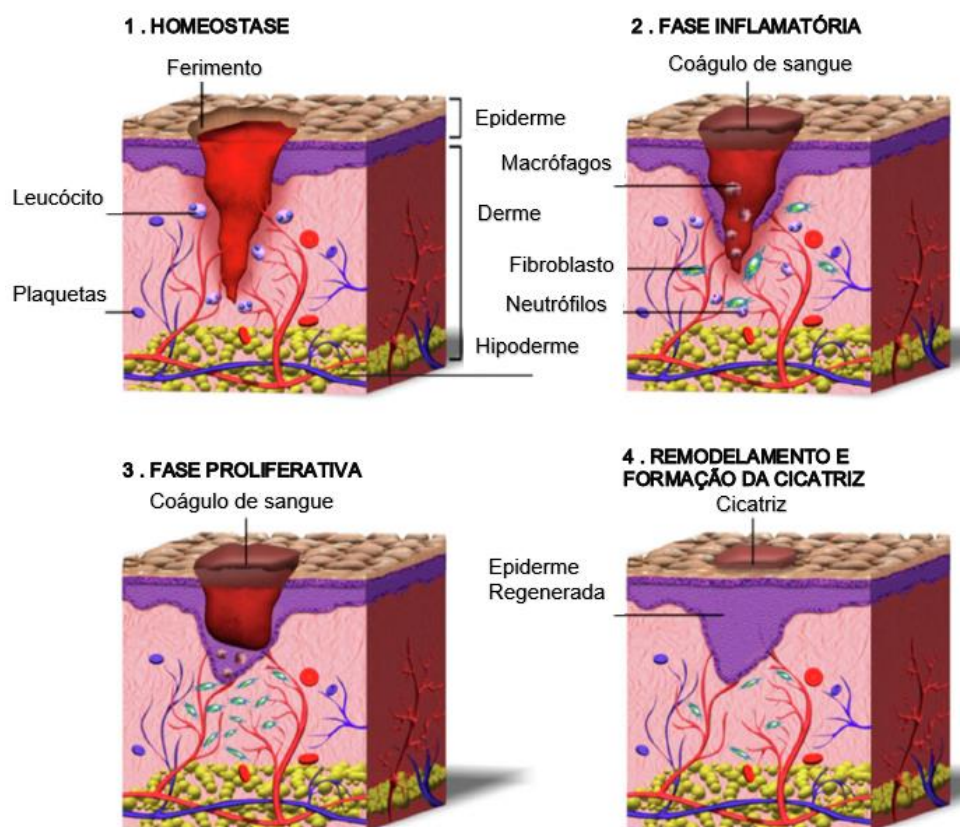
A terceira camada e a mais interna é a hipoderme, composta principalmente por gordura, colágeno e tecido conjuntivo solto; é uma camada altamente vascularizada e é responsável pela regulação térmica, além de desempenhar funções de proteção mecânica (HAZRATI; DAVARAN; OMIDI, 2022; HUANG *et al.*, 2022; METCALFE; FERGUSON, 2007)

3.2 CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS (*WOUND HEALING*)

Por ser nosso órgão mais exposto às condições externas, quando a pele é danificada uma série de fenômenos complexos é desencadeado, visando limitar a dor, controlar infecções e acelerar a cura (YILDIRIMER; THANH; SEIFALIAN, 2012). Agentes químicos, biológicos, ou traumas mecânicos são os que frequentemente causam danos à pele, podendo comprometer a função de defesa desempenhada pelo órgão (WANG *et al.*, 2023).

O *wound healing*, termo que pode ser traduzido para português como cicatrização de feridas, é um processo biológico autorregulado e é normalmente dividido em 4 fases, sendo elas (i) homeostase, (ii) inflamação, (iii) proliferação de células e (iv) maturação/remodelamento da ferida e formação de cicatriz (GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022; GANTWERKER; HOM, 2012; WANG *et al.*, 2023).

Figura 2: Esquema das fases da cicatrização de uma ferida



Fonte: Adaptado de (NASERI; AHMADI, 2022)

Logo após o ferimento ocorre a homeostase, o processo no qual o sangramento é interrompido, processo que pode levar algumas h para ser completado. Na homeostase os vasos sanguíneos danificados sofrem constrição, ocorre a coagulação do sangue, as plaquetas são recrutadas e auxiliam na formação de uma casca inicial de fibrina que sofre polimerização e gera um scaffold para migração de células que serão importantes nos estágios seguintes da cicatrização. Essas plaquetas sofrem degranulação e liberam várias substâncias que são fatores de crescimento, além de liberar um sinal que recruta o sistema imunológico. (GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022; GANTWERKER; HOM, 2012; HUANG *et al.*, 2022)

A fase inflamatória é iniciada pela migração de células inflamatórias que ocorre ao final da homeostase. Na primeira onda de células estão os neutrófilos que chegam na zona da injúria em massa nas primeiras 24 h, esses são logo seguidos pelos macrófagos, que chegam normalmente após 48 h e permanecem até o final do processo de cura (GANTWERKER; HOM, 2012). Os macrófagos, juntamente com os neutrófilos são os principais responsáveis pela limpeza de células degradadas e

combate às bactérias no local, além disso liberam citocinas e fatores de crescimento importantes para as próximas fases. As citocinas liberadas ajudam a regular a inflamação, promovendo a cicatrização acelerada (GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022). A fase inflamatória é essencial para a cicatrização correta, o uso desnecessário de anti-inflamatórios pode levar a uma cicatrização deficiente, entretanto uma fase inflamatória prolongada (superior a 3 semanas) também pode resultar em uma cicatrização prejudicada ou ferida crônica. Essa inflamação pode persistir devido a uma contaminação bacteriana muito grande, presença de um corpo estranho na ferida ou um trauma recorrente (GANTWERKER; HOM, 2012).

A fase proliferativa é complexa e envolve a ativação de fibroblastos, macrófagos, queratinócitos e células endoteliais e a fase é marcada pela formação de MEC e formação de novos capilares que preenchem os defeitos deixados pelas células danificadas (GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022; GANTWERKER; HOM, 2012). Nesta fase os fibroblastos exercem um papel fundamental produzindo colágeno, elastina e outros compostos essenciais para a formação de tecido granuloso, geram e depositam uma MEC provisória que serve de suporte. O tecido de granulação é formado por fibroblastos, pelo colágeno depositado e por vasos sanguíneos recém gerados. As células endoteliais durante esse processo são responsáveis pela angiogênese, a formação de novos vasos sanguíneos por meio de divisão celular. Durante essa etapa uma camada de exsudatos permanece sobre a ferida, sendo responsável por um ambiente úmido benéfico para o processo de cicatrização (GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022; WANG *et al.*, 2023).

A fase mais longa da cicatrização é o remodelamento, nela ocorre a substituição do colágeno tipo III presente na MEC provisória por colágeno do tipo I com um aumento da resistência. Nessa fase os vasos sanguíneos não essenciais são reduzidos, fibras elásticas da pele são reconstruídas pela elastina e o tecido de granulação é remodelado em tecido normal da pele, processo que pode demorar de semanas até meses para ser completado (GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022; GANTWERKER; HOM, 2012; HUANG *et al.*, 2022).

Quando o *wound healing* não ocorre normalmente, com uma ou mais etapas se prolongando por um tempo anormal (nas fases homeostática, inflamatória, proliferativa ou de remodelamento) há a formação de feridas crônicas. As feridas crônicas apresentam visivelmente uma área lesada maior do que aquela da ferida original, em que há dano ao tecido e um fornecimento de sangue deficiente. Nessas

feridas crônicas os fluídos exsudados podem inibir o crescimento de fibroblastos e queratinócitos, levando a uma menor quantidade de fatores de crescimento secretados. Com o crescimento da epiderme comprometido há um desequilíbrio e a morte celular supera esse crescimento, impedindo a cicatrização. Uma série de condições patológicas podem favorecer um processo de *wound healing* disfuncional como diabetes, desnutrição, estresse e infecções (GOWDA *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2023).

Nas infecções crônicas o processo inflamatório é estendido e causa uma cicatrização mais lenta. Com uma quantidade abundante de macrófagos e neutrófilos migrando para a zona periférica da ferida há um aumento das citocinas que aumentam a inflamação, atividade de protease aumentada e cria-se também uma zona rica em espécies reativas de oxigênio (EROs) que tornam o ambiente fortemente oxidativo, danificando as membranas celulares e a MEC (WU *et al.*, 2023). Espécies reativas de oxigênio (EROs) é um termo utilizado para englobar radicais livres e moléculas que contém ao menos um átomo de oxigênio e são mais reativos do que a molécula de O₂ como os radicais hidroxila (OH⁻), ânion hipoclorito (OCl⁻) e superóxido (O₂⁻) ou moléculas como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), dentre esses o H₂O₂ é o mais presente nas células eucariontes (HERB; SCHRAMM, 2021; MAGNANI; MATTEVI, 2019). A angiogênese também é um fator importante em feridas crônicas, um desequilíbrio entre os fatores de crescimento pró e anti-angiogênese faz com que haja uma diminuição do número de novos vasos, resultando em um fornecimento de nutrientes e troca de material deficientes. Como resultante da alta atividade de protease acontece uma disfunção dos queratinócitos que falham em migrar e fechar a ferida, atrasando a cicatrização (WU *et al.*, 2023).

Fatores que podem causar uma deficiência no processo de cicatrização da pele e causar feridas crônicas incluem hiperglicemia, lesões repetidas, inflamação prolongada ou excessiva e infecção persistente. Nos pacientes diabéticos, por exemplo, uma resposta imune deficiente, aliada com um fornecimento insuficiente de oxigênio fazem com que as lesões se tornem feridas crônicas. Nos pacientes diabéticos a hiperglicemia conduz à um alto nível de EROs, superior ao limite antioxidante do tecido, causando danos e tornando a fase inflamatória crônica. O fornecimento de insuficiente de oxigênio também pode ser explicado pela hiperglicemia, que gera no diabético um estreitamento e fechamento dos capilares sanguíneos próximos da lesão, levando à falta de nutrientes e oxigênio (ZHANG *et al.*,

2023). Um desequilíbrio nos fatores de crescimento responsáveis pela angiogênese, produção mais lenta de colágeno e uma resistência mecânica menor no tecido da ferida faz com que ocorra uma maior taxa de reincidência nos ferimentos (GANTWERKER; HOM, 2012; GOWDA *et al.*, 2023).

A infecção é a complicação mais comum que ocorre em uma pele comprometida durante o processo de cicatrização de uma ferida e, controlar ou prevenir a sua ocorrência é de máxima prioridade (NASERI; AHMADI, 2022). Quando a carga de bactéria no local do ferimento aberto na pele supera um valor de 10^5 indivíduos por grama de tecido diz que há um atraso no processo de *wound healing* (FONDER *et al.*, 2008; GANTWERKER; HOM, 2012). É natural que bactérias estejam presentes em qualquer ferimento aberto, quando as defesas do organismo mantêm um equilíbrio entre a morte e o crescimento dessas bactérias é dito que há uma colonização da região, porém quando as defesas do organismo são superadas e a população passa o valor crítico a ferida ganha o status de infectada. Uma ferida infectada apresenta um aumento de dor, vermelhidão, exsudatos e pode apresentar mau odor (FONDER *et al.*, 2008). O mecanismo pelo qual a infecção causa um atraso na recuperação não é entendido por completo até o momento, porém há teorias de que a presença contínua das bactérias leva a um alongamento da fase inflamatória, o que atrasa e impede as fases proliferativa e de remodelamento de ocorrerem normalmente, além disso as bactérias produzem colagenase, uma enzima que destrói o colágeno presente na reparação tecidual; esses fatores levam à formação de uma ferida crônica (BEYENE; DERRYBERRY; BARBUL, 2020).

Os tratamentos mais convencionais para feridas crônicas são realizados em etapas que incluem o desbridamento da ferida, isso é, a limpeza e remoção de tecido necrosado e danificado, bem como biofilmes e substâncias liberadas por bactérias, a aplicação de antissépticos ou antibióticos tópicos ou sistêmicos que visam diminuir a população total de microrganismos no caso dos antissépticos ou uma população específica alvo no caso dos antibióticos, e aplicação de curativos para proteção da ferida e absorção de exsudatos. Entretanto a habilidade das gazes convencionais de absorver a umidade da ferida e proteger contra infecções é limitada, além disso a troca dos curativos precisa acontecer com frequência e isso pode causar dor no paciente. Atualmente uma promissora alternativa à esses tratamentos convencionais se destaca na forma dos biomateriais que podem ser de origem natural ou sintética, na aplicação como curativos funcionais eles podem se apresentar como hidrocoloides, filmes de

poliuretano, espumas especiais e curativos e tem uma maior eficiência do que as gazes tradicionais (BOWLER, 2002; FRYKBERG; BANKS, 2015; KAISER; WÄCHTER; WINDBERGS, 2021).

3.3 BIOMATERIAIS

O tratamento eficaz de feridas representa um desafio contínuo na área da saúde, com a busca constante por abordagens inovadoras para otimizar a cicatrização e minimizar complicações. Nesse contexto, a aplicação de biomateriais pode ser usada como uma estratégia promissora, oferecendo soluções versáteis e personalizadas para promover a regeneração tecidual. A definição mais recente de biomaterial é dada na conferência de biomateriais de 2019 “Biomaterial é um material projetado para assumir uma forma que pode direcionar, por meio de interações com sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico” (XINGDONG ZHANG; DAVID WILLIAMS, 2019). Os materiais empregados como biomateriais precisam cumprir uma série de requisitos, manifestando boas propriedades mecânicas, físico-químicas e biológicas para que desempenhem sua função no diagnóstico, prevenção ou tratamento dentro ou em contato com o corpo.

Os biomateriais utilizados na medicina se enquadram nas 4 grandes classes de materiais, polímeros, metais, cerâmicas e compósitos, mas também são classificados quanto à resposta do organismo hospedeiro. Para a aplicação como biomaterial a característica mais importante é a biocompatibilidade, um material biocompatível pode ser descrito como um material capaz de desempenhar uma função específica com uma resposta adequada do hospedeiro, a biocompatibilidade é determinada por testes de viabilidade celular *in vitro* e *in vivo*, geralmente quanto maior a biocompatibilidade menor a resposta inflamatória do organismo frente à um implante por exemplo, a biocompatibilidade de um material evita também respostas alérgicas, imunológicas ou efeitos crônicos adversos (AJMAL; ATHAR HASHMI; IMRAN, 2022; PAUL, 2019).

A classificação quanto à resposta do organismo frente a esses materiais se divide em 3 grupos, os biotoleráveis/bioinertes, biorreabsorvíveis e os bioativos. Um material biotolerável é geralmente um metal ou um polímero sintético ao qual o corpo cria uma membrana fibrosa em resposta à liberação de íons, quanto maior a liberação de íons mais espessa a camada envoltória do material. Materiais bioativos são

aqueles que formam ligações químicas com o corpo, a partir da liberação de íons gera uma resposta positiva à um tratamento, geralmente são cerâmicos ou biovidros aplicados na regeneração óssea que liberam íons de sílica, cálcio e potássio, gerando como resposta do corpo uma produção de hidroxiapatita que funciona como uma interface entre corpo e material (DASH; MOHANTY; NAYAK, 2023). Um material bioabsorvível é um material que apresenta uma desintegração e absorção controlada pelo organismo geralmente mediada por hidrólise e processos de degradação enzimática, gerando subprodutos não tóxicos e sem danificar os tecidos vizinhos. Essa classe é representada por alguns metais, cerâmicos e principalmente polímeros que podem ser de origem natural ou sintética. Os polímeros absorvíveis sintéticos são representados pelo poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), e poli(caprolactona) (PCL), para esses polímeros o tempo de degradação é influenciado pela hidrofiliabilidade do material, quanto maior o caráter hidrofílico mais rápido se dá a degradação (CHATTERJEE *et al.*, 2019; PAUL, 2019).

Na medicina moderna os biomateriais apresentam um amplo espectro de aplicações, sendo importantes desde o diagnóstico de doenças, e principalmente nos diversos tipos de tratamento, sendo utilizados como Implantes ósseos, carreadores de fármacos e curativos funcionais, entre outras aplicações. (Dash 2023; Shahal 2019; PLA KAISER; 2021)

3.4 WOUND DRESSING – CURATIVOS FUNCIONAIS

O *wound dressing* é um termo em inglês que pode ser traduzido como curativo de feridas e tem algumas características desejadas. O curativo ideal é capaz de manter um ambiente úmido, absorver o excesso de exsudatos, aderir à pele irregular, fornecer proteção mecânica, permitir as trocas gasosas, ser biocompatível e prevenir ou controlar infecções e promover a cicatrização (MULHOLLAND, 2020; SUN; SIPRASHVILI; KHAVARI, 2014; ZHOU *et al.*, 2022). Os curativos secos tradicionais feitos com materiais como gaze, algodão ou bandagens não conseguem satisfazer essas características ideais (WANG; UMMARTYOTIN; NARAIN, 2023).

Curativos tradicionais tem a vantagem do baixo custo, mas tem limitações em sua funcionalidade, tendo baixa efetividade em ferimentos mais complexos e promovendo uma cicatrização lenta (CHEN *et al.*, 2022). Os curativos tradicionais mais utilizados são as gazes esterilizadas que apresentam limitações em alguns tipos

de feridas, falhando em promover a cura de feridas úmidas. Cremes, pomadas e antibióticos tópicos são utilizados em conjunto com o curativo para promover um ambiente propício para a cicatrização, combatendo infecções bacterianas e mantendo um ambiente úmido, com a desvantagem de necessitarem de trocas e limpezas periódicas (NASERI; AHMADI, 2022). Estes curativos tradicionais apresentam ainda outros dois problemas, a troca periódica pode causar dor e mais danos à pele quando o curativo fica aderido à pele, isto ocorre devido à tendência de crescimento do tecido de granulação entre as malhas do curativo (CHEN *et al.*, 2022; PENG *et al.*, 2022), o outro problema associado é a perda da capacidade protetiva do curativo após a absorção de líquidos exsudados pelo ferimento, permitindo mais facilmente infecções bacterianas advindas do ambiente (PENG *et al.*, 2022).

Várias tecnologias emergem como substitutos para os curativos tradicionais, cada um com suas vantagens e desvantagens, buscando alcançar as características ideais já listadas. No desenvolvimento da engenharia tecidual surgem algumas técnicas como hidrogéis, espumas, esponjas, filmes, e membranas de nanofibras eletrofiadas ganham destaque com pesquisas promissoras, essas técnicas podem ser empregadas com materiais sintéticos ou de origem natural e podem ser chamados de curativos funcionais. (CHEN *et al.*, 2022; LIANG *et al.*, 2022).

A técnica de eletrofiação de nanofibras é uma das mais promissoras na engenharia tecidual, é uma técnica versátil que possibilita a obtenção de fibras que variam de nanômetros até alguns micrometros e permite um ótimo controle das propriedades ao variar os parâmetros de processo, incluindo ainda uma grande gama de polímeros naturais e sintéticos que podem ser eletrofiados (LIANG *et al.*, 2022). A morfologia das redes de fibra da membrana eletrofiada possui uma elevada porosidade, alta área superficial e diâmetro nanométrico o que permite as trocas gasosas com o meio externo, ao mesmo tempo em que leva à uma alta capacidade de absorção dos líquidos exsudados, garantindo um ambiente com a umidade ideal. O tamanho de poros pequeno dificulta a entrada de microrganismos no local da ferida, ajudando a prevenir infecções. A morfologia porosa das membranas eletrofiadas é também ideal para a função de *scaffold*, permitindo a ancoragem de fatores de crescimento e células da derme e epiderme, além de aumentar a taxa de angiogênese e facilitar o transporte de nutrientes, por fim, a capacidade de imitar a MEC aumenta a eficiência da adesão celular e da capacidade de regeneração do tecido, para isso busca-se uma porosidade controlada que fica na faixa entre 60 e 90%, um diâmetro

de fibra entre 100 e 500 nm e um tamanho de poro que fica entre 20 e 125 μm (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; CHEN *et al.*, 2022; LIANG *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2001).

3.4.1 Óxido de Zinco

Nanomateriais inorgânicos vêm sendo empregados em aplicações biomédicas, incluindo tratamento de feridas na pele. Os nanomateriais são definidos como aqueles que possuem tamanhos inferiores a 100 nm, em pelo menos uma das suas dimensões. Esses materiais apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas únicas e diferentes das propriedades dos mesmos materiais em escalas macroscópicas. (LIU *et al.*, 2023).

Tais nanomateriais podem ser utilizadas no tratamento de feridas de duas formas: como agentes antibacterianos por si próprias ou carregando ativos bactericidas até o local da ferida (GOWDA *et al.*, 2023). Nanopartículas atuando como bactericidas intrínsecos possuem uma grande vantagem frente ao crescente problema de resistência bacteriana na medicina. Nanopartículas metálicas como Au e Ag e de óxidos de metais como ZnO, TiO₂ e Cu possuem mecanismos complexos, não se ligam em receptores específicos nas células bacterianas, isso permite com que essas nanopartículas sejam usados contra bactérias resistentes a múltiplas drogas e dificulta a formação de resistência bacteriana, além de que possuem por esse motivo ação contra um amplo espectro de microrganismos (CHEN *et al.*, 2022; XU *et al.*, 2020). Os principais mecanismos de atuação incluem destruição da membrana celular, danos ao DNA e estruturas celulares causados por estresse oxidativo relacionado a íons liberados e produção de EROs e perturbação da atividade enzimática da bactéria (LIU *et al.*, 2023; XU *et al.*, 2020).

A fácil incorporação de nanopartículas em diferentes tipos de curativo fez com que as nanopartículas se tornassem uma importante alternativa no tratamento de feridas, podendo formar nanocompósitos com as nanofibras produzidas pelo sistema de eletrofiação (KALVA *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2020).

Nanopartículas de prata (AgNps) vêm sendo usadas em aplicações medicinais há muito tempo, possuem uma ação bactericida forte contra bactérias *gram positivas* e *gram negativas*, porém sua utilização é limitada pela facilidade de oxidação e agregação das nanopartículas, que pode reduzir a eficiência na aplicação, além disso,

atuação importante como micronutriente, é um elemento de traço essencial, com grande relevância para diversos processos celulares, atua na decodificação de até 10% das proteínas presentes no corpo, está envolvida no processo enzimático de mais de 300 enzimas catalíticas que desempenham papel na síntese das proteínas e de ácidos nucleicos, dessa forma o Zn participa da reparação do DNA e ainda age na construção da MEC (GOWDA *et al.*, 2023; JOHARI *et al.*, 2022; KHAN *et al.*, 2021; SHU *et al.*, 2023). A atividade das ZnONPs já demonstraram capacidade de aumentar a adesão, o crescimento e a diferenciação de algumas linhas de células; dentre essas células estão células epiteliais e endoteliais, à isso podemos associar um efeito que as NPs de óxido de zinco apresentam de melhora no crescimento de fibroblastos e migração de queratinócitos, aumento da síntese de colágeno e à uma melhor re-epitelização da pele no local do ferimento, melhorando o reparo do tecido e a cicatrização (GOWDA *et al.*, 2023; JOHARI *et al.*, 2022; KANTIPUDI *et al.*, 2018; LIANG *et al.*, 2022; YADAV; YADAV; VERMA, 2021).

Uma das chaves para o funcionamento das ZnONPs é a sua capacidade de geração de EROs. O ZnO libera íons Zn^{+2} no meio que reagem com óxidos removendo elétrons e, em presença de água tem a capacidade de formar H_2O_2 que atua como ERO e tem um papel importante na angiogênese. O H_2O_2 tem a capacidade de ativar fatores de crescimento, regula processos de crescimento, proliferação e migração celular das células endoteliais, está presente em sinalizações importantes e na formação de tubos, dessa forma a presença do ZnO estimula a vascularização e acelera a cicatrização de feridas. Augustine *et al.* (2014) utilizaram em sua investigação uma membrana de PCL combinada com nanopartículas de ZnO, testando concentrações variáveis de ZnONPs de 0, 0,5, 1, 2, 4 e 6%, avaliando a angiogênese em um estudo *in vitro* em uma membrana corialantóica de embrião de galinha em estudo *in vivo* em porquinho da índia, encontrando como resultado uma membrana que favoreceu a angiogênese e conseqüentemente a cicatrização de ferimento na pele com 1% em peso de ZnONPs (AUGUSTINE *et al.*, 2014a).

Johari *et al.* (2022) testaram *scaffolds* para reparo tecidual a base de poli(caprolactona) contendo ZnONPs, variando as concentrações em 0, 5, 10 e 15% de peso de nanopartículas. Como resultados encontraram uma boa viabilidade e adesão celular de fibroblastos para todas as concentrações, com a concentração de 5% se destacando pelos valores obtidos em resistência mecânica, procurados pela

integridade do *scaffold*, em que com o aumento da concentração de ZnONPs a partir de 5% ocorreu uma diminuição na propriedade (JOHARI *et al.*, 2022).

3.4.2 Polímeros biocompatíveis

Para aplicação em *wound dressing* há algumas características desejadas no material a ser utilizado como base: Uma boa biocompatibilidade, biodegradabilidade, molhabilidade e resistência mecânica, além disso o material precisa fornecer uma certa permeabilidade para as trocas gasosas, ser capaz de absorver exsudatos e manter um ambiente úmido (AFSHARIAN; RAHIMNEJAD, 2021; NASERI; AHMADI, 2022).

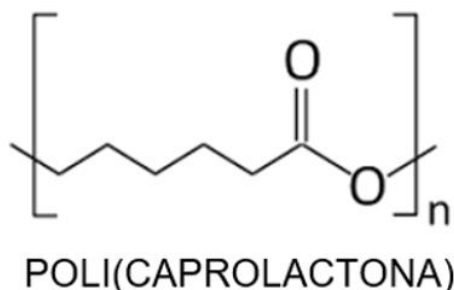
A aplicação em curativos permite a utilização de inúmeros polímeros de diferentes naturezas; são empregados polímeros naturais como quitosana, celulose, alginato, colágeno, ácido hialurônico, queratina entre outros. Dentre os polímeros sintéticos utilizados pode-se destacar o álcool poli vinílico (PVA), a poli vinil pirrolidona (PVP), poli ácido lático (PLA), poliuretano (PU), poli etileno glicol (PEG) e a policaprolactona (PCL) (KAI CHEN *et al.*, 2022). Usualmente polímeros de fontes naturais demonstram uma maior biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de curar a ferida, mas como desvantagem são mais facilmente contaminados por microorganismos e possuem propriedades mecânicas inferiores; polímeros sintéticos tem propriedades mecânicas excelentes, estabilidade térmica, perfil de degradação mais facilmente ajustável e são mais fáceis de processar, mas usualmente tem pior biocompatibilidade (LIU *et al.*, 2021; MIGUEL *et al.*, 2018; SAVENCU *et al.*, 2021).

3.4.2.1 Policaprolactona (PCL)

Dentre os polímeros sintéticos é possível destacar o PCL: trata-se de um poliéster alifático obtido da reação de abertura da ϵ -lactona, de estrutura parcialmente cristalina com ponto de amolecimento próximo aos 60 °C, seu grau de cristalinidade tende a diminuir com um aumento do peso molecular que normalmente varia entre 3000 até 80000 g/mol; apresenta boas propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, por isso tem sido utilizado como material para curativos assim como pode ser também um material implantável, é aprovado como seguro pela FDA

(JOHARI *et al.*, 2022; SAVENCU *et al.*, 2021). A estrutura da molécula do PCL é mostrada na Figura 4.

Figura 4: Estrutura do PCL



Fonte: do autor.

Foi muito utilizado durante os anos 70 e 80 devido a uma tendência de procura por polímeros reabsorvíveis, sendo usado principalmente na produção de suturas absorvíveis, porém devido ao surgimento de polímeros como PLA, PGA e seus copolímeros que apresentam taxas de degradação mais rápidas o PCL teve seu uso diminuído por muito tempo (DWIVEDI *et al.*, 2020; WOODRUFF; HUTMACHER, 2010). Próximo aos anos 2000 seu uso retornou devido à suas excelentes propriedades reológicas, viscoelásticas e facilidade de processamento, que permitiram uma excelente aplicabilidade na produção de scaffolds. O PCL possui excelente solubilidade, podendo ser completamente dissolvido em clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono, benzeno, tolueno, ciclohexanona e 2-nitropropano em temperatura ambiente, também pode ser parcialmente dissolvido por dimetilformamida, acetona, acetato de etila, 2-butanona, e acetonitrila, sendo insolúvel em álcoois e água. Tem ainda uma alta capacidade de formar blendas com outros polímeros, o que aumenta muito o leque de aplicações em biomateriais, pode ser misturado com poli(cloreto de vinila), poli(estireno-acrilonitrila), poli(acrilonitrila-butadieno-estireno), poli(ácido lático) e poli(ácido lático-co-glicólico) (LABET; THIELEMANS, 2009; WOODRUFF; HUTMACHER, 2010).

A degradação do PCL na natureza ocorre por ação enzimática de microrganismos, no corpo humano essas enzimas capazes de quebrar o PCL não estão presentes, dessa forma a degradação do polímero ocorre em um processo em duas etapas, em que inicialmente há uma hidrólise do polímero, causando quebra aleatória das ligações éster, com aumento do grau de cristalinidade e diminuição do

peso molecular subsequente, quando o peso molecular está abaixo de 3000 g/mol uma segunda fase de degradação ocorre, com consumo do PCL por via intracelular ou por microrganismos (LABET; THIELEMANS, 2009; WOODRUFF; HUTMACHER, 2010). O ritmo de degradação depende do peso molecular, grau de cristalinidade, e das condições ambientais como o fluxo de fluido corporal; a reação de degradação pode ser catalisada pela liberação de ácidos carboxílicos produzidos pelo processo de hidrólise, porém como a taxa de degradação e liberação desses ácidos ocorre de forma lenta não há uma grande mudança de pH, o que torna o PCL vantajoso em relação aos outros polímeros da mesma família como o PLA e o PGA (BARTNIKOWSKI *et al.*, 2019; LABET; THIELEMANS, 2009).

Para a aplicação na eletrofiação apresenta relativa facilidade de processamento e boas propriedades mecânicas após processado como resistência e flexibilidade. Como desvantagem apresenta o caráter hidrofóbico, o que leva à uma baixa molhabilidade, por isso é frequentemente empregado em blendas com outros polímeros (KHAN *et al.*, 2021; RATHINAVEL *et al.*, 2021). A Tabela 1 mostra alguns trabalhos que empregam o PCL em curativos funcionais para cicatrização de feridas.

Tabela 1: Utilização do PCL em trabalhos de cicatrização de feridas.

Polímero utilizado	Agentes ativos utilizados	Principal resultado	Referência
PCL + quitosana	ZnO	Atividade antimicrobiana demonstrada <i>in vitro</i> e combate à inflamação e boa re-epitelização <i>in vivo</i> .	(ZHOU <i>et al.</i> , 2022)
PCL + acetato de celulose combinado com quitosana + PEO	-	Baixos níveis de citotoxicidade em fibroblastos e promoção de boa proliferação celular	(TRINCA <i>et al.</i> , 2017)
PCL + alginato de sódio	PDGF-B	Aceleração do processo de fechamento da ferida e formação de colágeno.	(HU; LIN, 2022)
PCL	AgNPs	Boa viabilidade em contato com células melanócitos e atividade antimicrobiana frente a <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	(AHMED <i>et al.</i> , 2021)
PCL	ZnONPs	Aumento da proliferação de fibroblastos dérmicos e	(AUGUSTINE <i>et al.</i> , 2014a)

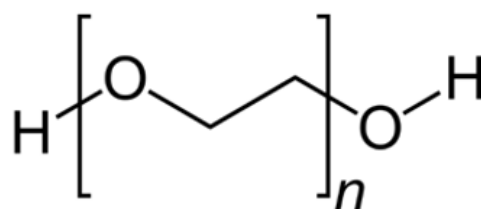
atividade antimicrobiana
comprovada

Fonte: Do autor, 2024.

3.4.2.2 Polietileno glicol (PEG)

O polietileno glicol (PEG) ou poli(óxido de etileno) (POE) é um polímero do óxido de etileno que é usualmente chamado de PEG quando possui massa molecular inferior a 20000 g/mol ou de POE quando sua massa molecular supera esse valor; suas características interessantes para as aplicações em curativos são a alta flexibilidade, não toxicidade, alto caráter hidrofílico, além de capacidade de retenção de água e fácil dissolução em solventes orgânicos. Essas características levam à uma mistura benéfica entre o PEG e o PCL, a estrutura da molécula do POE é mostrada na Figura 5. Polímeros hidrofóbicos como o PCL usualmente carecem de afinidade com células, enquanto polímeros hidrofílicos como o PEG por si só possui uma baixa resistência mecânica, com a formação de uma mistura entre eles é observado uma melhora nas propriedades mecânicas, bem como na adesão e proliferação de células (LIU *et al.*, 2021; SAVENCU *et al.*, 2021).

Figura 5: Estrutura do POE.



POLI (ÓXIDO DE ETILENO)

Fonte: do autor.

3.5 ELETROFIAÇÃO (*ELECTROSPINNING*)

O processo de eletrofiação utiliza-se de uma fonte de alta tensão para carregar eletricamente uma solução polimérica na ponta de um capilar para obtenção de fibras poliméricas ultrafinas que são expelidas e coletadas em um coletor metálico de carga oposta. Trata-se de um processo cuja origem não é bem definida, há uma menção sobre a obtenção de fibras a partir de um líquido por força eletrostática de 1887,

porém, as primeiras patentes surgiram com Cooley e Morton apenas em 1900 e 1902, com isso a técnica foi desenvolvida e aprimorada para aplicações têxteis. (SHEPA; MUDRA; DUSZA, 2021)

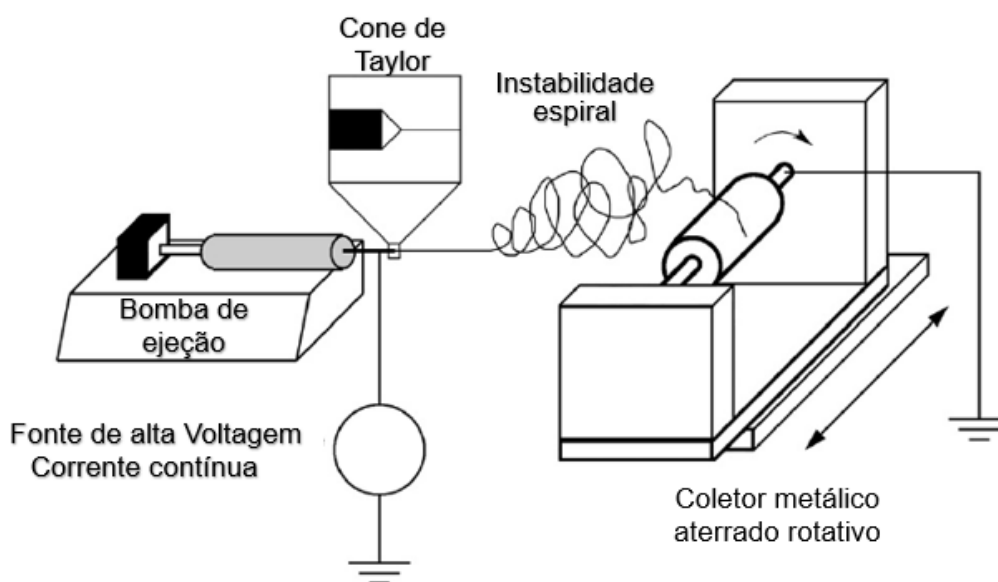
Apesar de antiga a técnica passou muitas décadas sem despertar um grande interesse da comunidade científica, sendo redescoberta por Doshi e Reneker que em um artigo de 1995 investigaram a eletrofiação e os parâmetros que afetam o processo (DOSHI; RENEKER, 1995). A partir de então da redescoberta da técnica e com o avanço da nanotecnologia um grande interesse se deu sobre a eletrofiação devido a capacidade de produção de fibras ultrafinas com diâmetros que vão de poucos microns até nanômetros. Como aplicações estão as áreas: médica, farmacêutica, química, de tratamento de água e resíduos, de geração e armazenamento de energia, entre outras. (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; SHEPA; MUDRA; DUSZA, 2021)

O conjunto de equipamentos usados para a eletrofiação é simples e composto por 4 componentes básicos: uma fonte de alta tensão, um capilar e um reservatório (normalmente utiliza-se para isso uma seringa hipodérmica) e um coletor metálico de carga oposta, no qual as fibras produzidas serão dispostas (MERCANTE *et al.*, 2021; XUE *et al.*, 2017). Há equipamentos com diferentes disposições, podendo ser vertical ou horizontal, de coletor estático ou rotativo; nos dispositivos horizontais geralmente a agulha está ligada à uma bomba de ejeção de líquido, enquanto nos sistemas verticais o fluido escoar por meio da ação gravitacional. Um esquema básico do equipamento é mostrado na Figura 6 para uma configuração horizontal e com coletor rotativo (MERCANTE *et al.*, 2021).

A técnica pode ser descrita como um processo eletrohidrodinâmico resultante da movimentação de um líquido pela força eletrostática. O líquido presente no reservatório é impelido pelo capilar por força da gravidade em sistemas verticais ou por um sistema de propulsão em sistemas horizontais; ao chegar na extremidade do capilar uma gota se forma devido as tensões superficiais (MERCANTE *et al.*, 2021). Devido a carga eletrostática aplicada no líquido a gota sofre deformação e ao atingir um valor de carga crítico ocorre a formação de um Cone de Taylor que em seguida gera um jato contínuo de material expelido pelo capilar. Assim que deixa o capilar, o jato de material formado tem seu diâmetro reduzido e a densidade de carga aumentada na fibra, gerando repulsão e um movimento instável espiral como o de um chicote (SILL; VON RECUM, 2008; XUE *et al.*, 2019). A partir do jato expelido, há evaporação do solvente durante o percurso até o coletor aterrado formando fibras dispostas na

forma de uma membrana sólida não tecida. (MERCANTE *et al.*, 2021; XUE *et al.*, 2019)

Figura 6: Esquema básico de um equipamento de eletrofiação com disposição horizontal e coletor rotativo.



Fonte: Adaptado de (SILL; VON RECUM, 2008)

A qualidade e as características finais das fibras e da membrana obtida como um todo são altamente dependentes das propriedades da solução, das condições ambientais e dos parâmetros de processo utilizados na produção das membranas. São parâmetros importantes a distância entre o capilar e o coletor, a voltagem aplicada e o fluxo de material por meio do capilar (XUE *et al.*, 2019). O controle desses parâmetros permite a obtenção de fibras com diferentes características, ditando assim a área para qual cada membrana será aplicada (MERCANTE *et al.*, 2021). Além disso a disposição do coletor tem influência sobre a natureza das fibras, geralmente um coletor estático produz uma membrana de fibras aleatoriamente distribuídas, enquanto um coletor rotatório produz uma membrana com fibras alinhadas em graus diferentes a depender dos parâmetros de processo (SILL; VON RECUM, 2008)

Os principais parâmetros da solução que influenciam no processo de eletrofiação são a massa molecular do polímero, a viscosidade da solução, a condutividade elétrica e a tensão superficial da solução. Uma massa molecular maior

favorece em geral a formação de fibras mais homogêneas enquanto massas moleculares muito pequenas não geram o emaranhamento de cadeias necessário para formar o jato contínuo. A viscosidade da solução é fator da massa molecular do polímero aliado à diluição e ao solvente utilizado. Viscosidades baixas na solução favorecem fibras mais finas e homogêneas, porém viscosidades baixas em excesso como em soluções muito diluídas não formam jato contínuo, enquanto que viscosidades muito altas podem acarretar em entupimento do capilar. A condutividade elétrica mais elevada representa um aumento na densidade de cargas do líquido, gerando assim fibras mais homogêneas, com menos defeitos e mais finas. A tensão superficial é importante para a solução na medida em que para a formação do cone de Taylor é necessário que se supere essa tensão, assim uma redução na tensão superficial está associada a jatos mais estáveis de solução polimérica (MERCANTE *et al.*, 2021).

Condições ambientais são também fatores importantes para a morfologia das fibras. A elevação da temperatura acarreta a diminuição da viscosidade da solução em um aumento na taxa de evaporação do solvente, dessa forma uma temperatura mais elevada favorece a formação de fibras mais finas. Já a umidade relativa do ar é importante principalmente para a formação de defeitos, uma umidade muito alta pode gerar poros na superfície das fibras, enquanto umidades mais baixas favorecem a secagem do solvente, resultando em fibras mais finas (MERCANTE *et al.*, 2021).

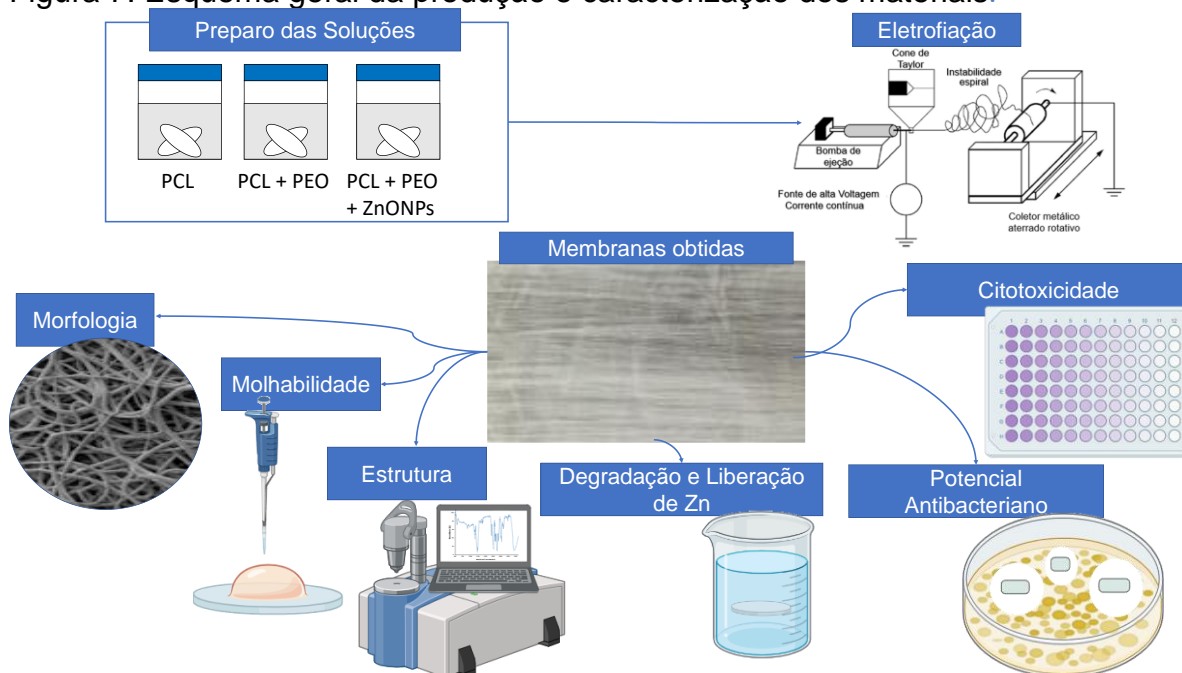
Os principais parâmetros de processo que definem a característica das fibras são a tensão aplicada, a distância entre capilar e coletor e a vazão de material. Uma tensão abaixo do valor crítico não é capaz de gerar um jato contínuo e estável, maiores tensões favorecem a formação de fibras mais finas, porém ao se extrapolar um determinado limite de tensão (que é diferente para cada sistema solvente/polímero) há uma produção de fibras mais espessas. Uma vazão abaixo de um valor crítico gera fibras não homogêneas, já que uma quantidade mínima de material é necessária para formar o cone de Taylor, uma maior vazão favorece diâmetros maiores, assim como uma maior incidência de defeitos relacionados a secagem incompleta do solvente. A distância entre a ponta e o coletor, chamada de distância de trabalho, é muito crítica para o processo pois essa distância determina em qual estágio de instabilidade o jato de material será coletado, uma distância muito curta pode levar à uma evaporação incompleta do solvente, com uma formação de fibras achatadas e mais espessas, já

uma maior distância de trabalho, até certo limite, gera fibras mais finas, pois há mais espaço para o alongamento das mesmas (MERCANTE *et al.*, 2021; XUE *et al.*, 2019).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção são apresentados os materiais utilizados para a produção das membranas eletrofiadas para aplicação como curativos funcionais no tratamento de feridas infeccionadas, bem como os métodos utilizados para a produção e caracterização das membranas. Um esquema conceitual da metodologia é apresentado na Figura 7.

Figura 7: Esquema geral da produção e caracterização dos materiais.



Fonte: Do autor, 2024.

No presente trabalho as soluções poliméricas foram preparadas pela dissolução dos polímeros PCL e PEO, juntamente com as ZnONPs no solvente clorofórmio, após a dissolução completa as soluções foram eletrofiadas com variação dos parâmetros de processo. Com as membranas obtidas seguiram-se as caracterizações morfológicas, estruturais, análise de molhabilidade, análise da liberação do Zn e degradação das membranas, análise de potencial antibacteriano e citotoxicidade do material.

4.1 MATERIAIS

Nesta seção são apresentados os materiais utilizados na produção das membranas eletrofiadas, incluindo polímeros, solventes e a nanopartícula utilizada.

Neste trabalho, PCL com peso molecular médio de 80000 g/mol e densidade de 1,145 g/mL, foi utilizado. O PCL, código 440744 é fornecido na forma de pellets (Sigma Aldrich, Saint Louis, EUA). Foi utilizado no trabalho um PEO, código 189456, de peso molecular médio de 900000 g/mol na forma de pó, de densidade 1,21 g/mL (Sigma Aldrich, Saint Louis, EUA). Como solvente foi utilizado o clorofórmio (CHCl_3) com 99,80% de pureza (LabSynth, Diadema, Brasil).

4.1.2 Nanopartículas de Óxido de Zinco (ZnONPs)

Óxido de Zinco em forma de nanopartículas em pó (ZnONPs), com tamanho médio de partícula inferior a 50 nm (Nanum Nanotecnologia S.A, Belo Horizonte, Brasil) foi utilizado.

4.1.2.1 Caracterização das nanopartículas de ZnO

Para verificação e confirmação de pureza, fases cristalinas, do tamanho de partícula e das características gerais das nanopartículas comerciais de ZnO, foram realizadas as caracterizações listadas abaixo.

- Caracterização Estrutural: Difração de Raio X (DRX)

A difração de raios X é um método de análise estrutural e foi utilizada nesse trabalho para a verificação da estrutura cristalina da amostra de NPs de ZnO buscando comprovação das fases cristalinas presentes. A amostra foi analisada em difratômetro de raios X (XRD, D-5000 Bruker AXS) com monocromador de grafite curvo no feixe secundário operando a 40 kV/25 mA (radiação $\text{Cu K}\alpha = 1,54178 \text{ \AA}$). A faixa angular de $10\text{--}70^\circ 2\theta$ foi analisada. As amostras foram analisadas a $0,02^\circ/2s$ com divergência e fenda anti-espalhamento de $0,5^\circ$ e fenda de recepção de 0,2 mm. Os padrões de DRX foram comparados com o Banco de Dados de Estrutura Cristalina Inorgânica (ICSD) com o software X'Pert HighScorePlus® para identificação das fases cristalinas. A determinação do tamanho do cristalito foi realizada após refinamento das estruturas pelo método Rietveld (MONTGOMERY; RUNGER, 1994; RIETVELD, 2014). Os parâmetros de rede, fundo polinomial de grau 3 e escala de pico e fatores de forma

foram refinados. A equação de Scherrer foi utilizada a partir da percepção das reflexões ampliando as fases cristalinas nela presentes e permitindo calcular o limite inferior do tamanho do cristalito (LANGFORD; WILSON, 1978; PATTERSON, 1939) de acordo com a Equação (1).

$$D = \frac{K \lambda}{B \cos \theta} \quad (1)$$

onde D = tamanho do cristalito (nm); K = constante de Scherrer, que varia de 0,82 a 1,03, conforme fator de forma (foi utilizado 0,91); λ = comprimento de onda dos raios X; B = largura a meia altura (FWHM) do pico de XRD e θ = posição do pico de XRD.

- Caracterização Morfológica: Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A análise de microscopia eletrônica de transmissão foi realizada para verificação da morfologia das ZnONPs, incluindo as características como o diâmetro médio de partícula, distribuição e formato das partículas, a distribuição e o diâmetro médio das partículas foram obtidos pelo método do intercepto linear tomando-se 150 medições, com o auxílio do software de imagem Image-J[®]. Foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET), da marca JEM 1100 da Universidade Federal de Rio Grande (FURG).

- Área superficial específica

O ensaio de Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Nova Station A, Quantachrome Instruments) foi realizado para verificação das propriedades de superfície do material. A análise foi realizada pela adsorção de nitrogênio, com degassagem a 300 °C por 3 h. Para realização do ensaio foi utilizada uma amostra de 0,1778 g.

- Atividade Antimicrobiana

Para determinar a concentração inibitória mínima, MIC, e concentração bactericida mínima, MBC, (do inglês *minimal inhibitory concentration* e *minimal bactericidal concentration* respectivamente) das nanopartículas de ZnO frente a cepa bacteriana, a metodologia da Norma Industrial Japonesa Z2801:201020 foi utilizada. O conhecimento destas concentrações serviu como guia para dar sequência no

trabalho, de forma que as concentrações de ZnO usadas nas membranas foram baseadas neste teste preliminar.

Para determinação do MIC e MBC foi utilizada a bactéria patogênica *Staphylococcus aureus*, a bactéria foi escolhida por ser frequentemente associada a infecções em ferimentos cutâneos e também estar no grupo ESKAPE de bactérias com risco de desenvolvimento de resistência bacteriana. Inicialmente foi realizado o esgotamento em meio sólido do microrganismo e cultivo por 24 h em estufa. Uma unidade formadora de colônia identificada como pura foi então separada e inserida em um tubo contendo 5 mL de meio de cultura líquido caldo nutriente, preparado com 3 g/L de extrato de carne e 5 g/L de peptona de soja. Após 24 h de incubação em estufa a 37 °C foi realizada uma diluição seriada até 10^{-7} UFC/mL com meio de cultura estéril, a concentração inicial foi estipulada por análise de UV-VIS. As ZnONPs foram diluídas em meio de cultura estéril para produção de uma solução mãe de 800 µg/mL. Com a solução mãe e meio estéril foi realizada uma diluição seriada das NPs, de 800 µg/mL até 25 µg/mL, preenchendo cada poço com 100 µL da mistura meio + NPs. A mistura foi incubada em estufa por 24 h em estufa a 37 °C.

Por fim, em cada poço foi adicionado o reagente tetrazólio, que dá uma coloração vermelha à solução contendo microrganismos, aguardando-se 4 h para reação em estufa a 37 °C. Pelo método *spread-plate* foi inoculado 80 µL de cada solução que não apresenta coloração à uma placa contendo meio de cultura sólido ágar nutriente. A incubação foi feita novamente por 24 h a 37 °C para posterior contagem de unidades formadoras de colônia.

O MIC foi então definido como a menor concentração na qual não é observado coloração avermelhada indicativa de crescimento microbiano nos poços; para a determinação do MBC uma série de diluições acima do MIC foram avaliadas, para isso a bactéria foi cultivada em meio de cultura contendo ZnONPs nas concentrações de 1600, 1400, 1200, 1000, 800 e 400 µg/mL em placa de 96 poços. Após 24 h de crescimento o sobrenadante foi plaqueado em placas de ágar Mueller Hinton, após 24 h de crescimento em estufa a 37°C foi realizada a contagem das colônias de bactéria nas placas, o MBC foi então identificado como a concentração mínima na qual o crescimento microbiano é completamente impedido.

4.2 MÉTODOS

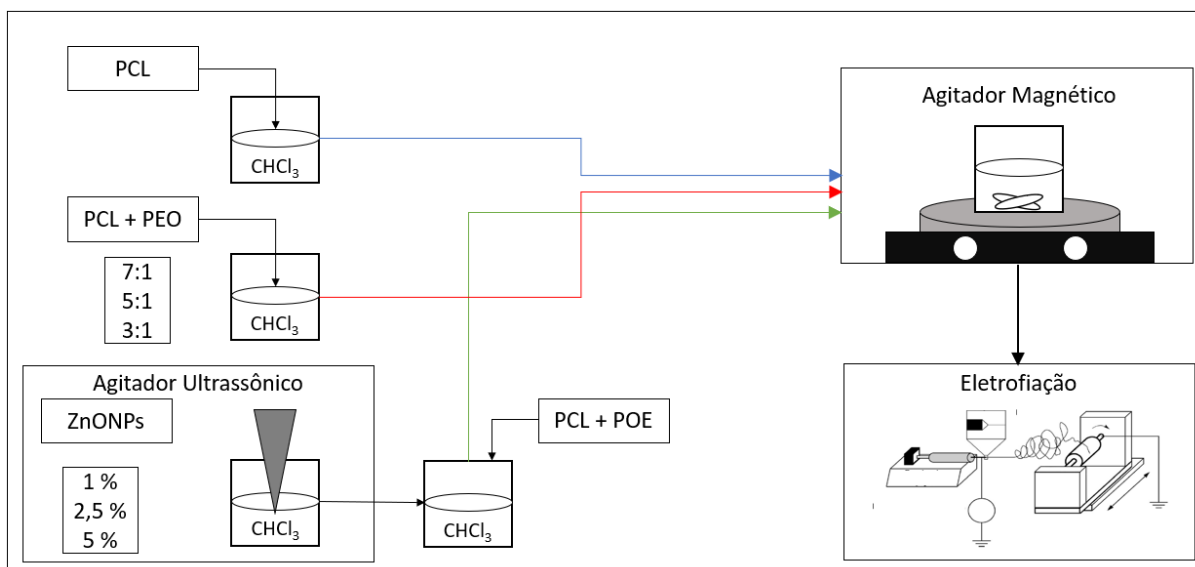
Nesta seção são apresentados os métodos utilizados na preparação das soluções, processo de eletrofição e as caracterizações subsequentes realizadas com as membranas.

4.2.1 Preparo das soluções poliméricas

Para o preparo da membrana de PCL puro, 8% em peso de PCL foi dissolvido em clorofórmio. A solução foi mantida por 18 h em agitação para completa dissolução do PCL.

Para membranas contendo PCL e PEO, a mesma concentração da solução (8%) e tempo de dissolução (18 h) foi empregado para a preparação de soluções com proporções PCL:PEO de 7:1, 5:1 e 3:1. A Figura 8 apresenta o esquema completo do preparo das soluções.

Figura 8: Esquema do procedimento de preparação das soluções para eletrofição.



Fonte: Do autor.

Para o preparo das membranas contendo ZnONPs, diferentes concentrações de NPs (5, 2,5 e 1% em relação à massa de polímero) foram dissolvidas previamente em clorofórmio. Para isso, foram inicialmente dispersas com auxílio do sonicador de ponteira ultrassônico (Desruptor, Ultronique) por 5 min usando o clorofórmio como solvente. Posteriormente, a solução polimérica foi preparada utilizando-se

normalmente a solução com as ZnONPs e solvente, adicionando-se o polímero para formar uma solução com 8% de polímero e mantendo-se agitação por 18 h

4.2.2 Eletrofiação

Após o preparo das soluções iniciou-se o processo de eletrofiação. Cada uma das soluções foi acondicionada em uma seringa *luer lock* de 10 mL com uma agulha metálica romba (com a extremidade da ponta cortada) de 25x0,7 mm (Descarpack, São Paulo, SP, Brasil).

Para obtenção de membranas com as características desejadas foram conduzidos testes de molhabilidade para a membrana de PCL puro e PCL com adição de diferentes proporções de PEO nas proporções 3:1, 5:1 e 7:1, representadas respectivamente pelas amostras PCL31PEO, PCL51PEO e PCL71PEO para a determinação da melhor composição. Após a composição selecionada foram realizados ensaios para determinar os parâmetros de processo.

O sistema de eletrofiação consiste em uma fonte de alta tensão que torna o líquido presente na seringa carregado. Um coletor é ligado à um eletrodo de carga oposta, gerando assim uma grande diferença de potencial. Com a diferença de potencial superando a tensão superficial do líquido presente na seringa, um jato contínuo é formado que vai da ponta da agulha até o coletor. O coletor é um cilindro ligado à um motor que pode ser rotacionado e as membranas são recolhidas em uma folha de alumínio.

Três fatores são importantes para o processo de eletrofiação. O primeiro é a tensão da fonte que pode alcançar uma carga de até 20 kV. O segundo é a distância entre o coletor e a seringa, que podem estar entre 10 a 20 cm. O terceiro fator é o fluxo de material (solução polimérica) controlado que sai da seringa, que pode ser variado de 0,01 até 0,25 mL/min.

Os ensaios foram conduzidos fixando-se um dois dos fatores e variando o terceiro a fim de encontrar os melhores parâmetros para a produção das membranas. Para selecionar as melhores condições, foram avaliados o diâmetro das membranas, porosidade e tamanho do poro de cada membrana.

Inicialmente foi fixada a tensão em 16 kV, a distância em 15 cm e foi variada a vazão entre 0,01 até 0,2 mL/min. Vazões maiores favorecem defeitos e aumento

indesejado do diâmetro das fibras, uma vazão mínima é necessária para produzir um fio estável e sem defeitos, por isso foi selecionada a mínima vazão capaz de gerar fibras. Com a vazão fixada em 0,07 mL/min e a distância fixada em 15 cm a tensão de trabalho foi variada entre 10 e 20 kV, buscando-se uma tensão que forneça as melhores características de fibra. O aumento da tensão favorece a obtenção de fibras de menor diâmetro, porém há um ponto ótimo que, se ultrapassado gera fibras mais espessas e defeituosas. Após esta etapa a vazão e a tensão foram fixadas em 0,07 mL/min e 20 kV respectivamente, e foi variada a distância de trabalho entre 10 e 20 cm buscando a distância ideal. Por fim, com a vazão, tensão e distância de trabalho fixadas em 0,07 mL/min, 20 kV e 15 cm respectivamente, foram variadas a velocidade de translação da agulha entre 5 e 25 cm/min e a velocidade de rotação do coletor aterrado entre 75 e 280 rpm com o intuito de otimizar a porosidade e o tamanho de poro da membrana. Após determinadas as condições ideais do processo foram eletrofiadas membranas com adição de ZnO nas concentrações de 1, 2,5 e 5% em relação à massa de polímero. As amostras obtidas e os parâmetros de processo utilizados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Identificação das amostras obtidas de acordo com os parâmetros de processo variados.

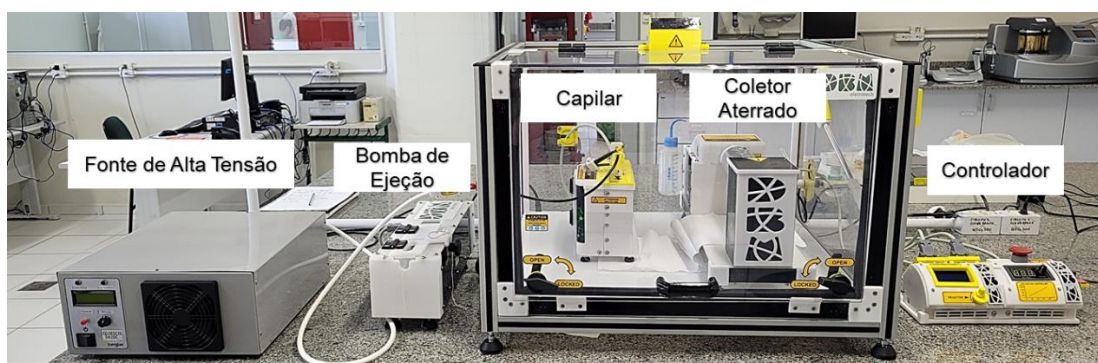
Amostra	Tensão (kV)	Vazão (mL/min)	Distância (cm)	Velocidade translação (cm/min)	Rotação (rpm)
PCL71PEO-0,07	16	0,07	15	15	150
PCL71PEO-0,12	16	0,12	15	15	150
PCL71PEO-16kV	16	0,07	15	15	150
PCL71PEO-20kV	20	0,07	15	15	150
PCL71PEO-15cm	16	0,07	15	15	150
PCL71PEO-20cm	16	0,07	20	15	150
PCL71PEO-20cm- 20Kv	20	0,07	20	15	150
T5	20	0,07	15	5	150
T15	20	0,07	15	15	150
T25	20	0,07	15	25	150

R75	20	0,07	15	15	75
R150	20	0,07	15	15	150
R280	20	0,07	15	15	280
Z1	20	0,07	15	15	280
Z2,5	20	0,07	15	15	280
Z5	20	0,07	15	15	280

Fonte: Do autor, 2024.

A produção das membranas por eletrofição foi conduzida no equipamento da DBM *Eletrotech Eletrospinner* que tem configuração horizontal e coletor rotatório, com controle de velocidade. A fonte de alta tensão utilizada é a *Intergiae*, QSC0420C, com capacidade de 20 kV. O equipamento utilizado é mostrado na Figura 9. A temperatura foi mantida em 21 °C, já a umidade relativa do ar foi apenas monitorada, permanecendo entre 47 e 74%.

Figura 9: Equipamento de eletrofição utilizado.



Fonte: Do autor.

4.2.3 Caracterização das membranas

Após o processo de eletrofição, cada membrana foi submetida às caracterizações descritas nas próximas subseções, sendo avaliadas em busca das características ideais indicadas para membranas de reparo da pele.

4.2.3.1 Análise morfológica

Para a análise morfológica das membranas foi utilizado tanto um microscópio óptico (Bioptika) para verificação preliminar de defeitos nas membranas, antecedendo

as caracterizações, quanto a microscopia eletrônica de varredura (MEV, Zeiss, EVO MA 10). Neste último caso, cada membrana foi recoberta com ouro utilizando uma metalizadora (Q150R ES, Quorum) para possibilitar a observação. O MEV foi operado a 8 kV. Por meio desta caracterização morfológica foram obtidos dados como o tamanho de poro e diâmetro de fibras da membrana, além da importante verificação de defeitos na estrutura da membrana. Para tais medições foi utilizado o método do intercepto linear com o software de imagem Image-J®, tomando-se 300 fibras de diferentes regiões da membrana para obtenção de uma média.

Para avaliação da distribuição das nanopartículas de ZnO dispersas nas fibras foi utilizada a técnica de espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS) (Bruker X10) acoplado ao MEV. A análise é importante para verificação qualitativa da dispersão das nanopartículas, garantindo a homogeneidade da membrana.

4.2.3.2 Caracterizações Físicas

A porosidade das membranas foi obtida por meio das Equações 2 e 3. Inicialmente, para o cálculo da densidade aparente (D_{AP}) as membranas foram cortadas em retângulos com tamanho conhecido e aferido com paquímetro (Mitutoyo). A espessura foi medida com auxílio de um micrômetro digital (Mitutoyo). Cada membrana teve a massa medida em uma balança analítica e a densidade aparente (D_{AP}) foi calculada com base na Equação 2:

$$D_{AP} = \frac{m}{V} \quad (2)$$

em que m é a massa (g) e V é o volume (cm³).

A porosidade (P) foi determinada a partir da Equação 3:

$$P = \left(1 - \frac{D_{AP}}{D_{real}}\right) \times 100 \quad (3)$$

onde D_{real} representa a densidade real (g/cm^3), determinada pelo experimento de picnômetria ao gás hélio (AccuPyc 1340, Micromeritics, USA) para cada uma das membranas estudadas.

4.2.3.3 Absorção de fluidos

A absorção de fluidos (FU), dada em massa de fluido/massa de filme, foi avaliada em água a fim de prever a absorção de exsudados e é calculada segundo a Equação 4, onde M_s (g) é a massa das membranas secas (após secagem a 40°C por 24 h) e M_m (g) é a massa após 24 h de imersão em 20 mL de água destilada (em estufa a 37°C).

$$FU = \frac{M_m - M_s}{M_s} \quad (4)$$

4.2.3.4 Análise de molhabilidade por ângulo de contato

É de grande importância para a membrana utilizada em tratamento de ferimentos na pele a capacidade de manter os níveis de umidade adequados. Devido a isso foi realizada a análise da molhabilidade por meio do método de ângulo de contato com auxílio de uma microcâmera para captura de imagem e utilização do software Image-J para medição de ângulo.

Com uma seringa de volume 5 mL foram depositadas gotas de água sobre a superfície de cada membrana. O ângulo foi medido pela imagem da gota formada. Ângulos acima de 90° são caracterizados como predominantemente não-molhantes, enquanto ângulos de contato inferiores a 90° representam superfícies predominantemente molhantes, em que os líquidos têm maior facilidade de penetração, característica buscada para as membranas.

4.2.3.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR das membranas foram obtidos a fim de observação dos grupos funcionais presentes. Foi utilizado espectroscopia de infravermelho com

transformada de Fourier (FTIR) no espectrofotômetro de marca Bruker, modelo Tensor II com acessório de refletância total atenuada (ATR-FTIR). As membranas foram analisadas numa resolução de 4 cm^{-1} com um intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} .

4.2.3.6 Estudo da degradação das membranas

Com o objetivo de compreender a degradação das membranas no organismo foi realizado um ensaio simulando o ambiente do corpo em SBF preparado de acordo com o método de Kokubo e Takadama (2006), no padrão (ISO / FDIS 23317, 2007). O SBF foi produzido utilizando-se os íons Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} e SO_4^{2-} . As membranas foram cortadas em amostras de $1,5 \text{ cm} \times 1,5 \text{ cm}$ e acondicionadas em frascos de polipropileno contendo SBF, mantidos a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em estufa pelo período total de 77 d. A solução nos frascos foi substituída semanalmente, a massa de cada amostra foi registrada a cada troca para obtenção de uma curva de degradação, para isso as amostras foram secas por 12 h em estufa a $37 \text{ }^\circ\text{C}$, pesadas e então novamente imersas em SBF para continuidade do experimento até o término do período. A perda de massa PM (%) foi calculada pela equação 5, na qual M_0 (g) é a massa original das membranas antes da degradação e M_i (g) é a massa registrada semanalmente.

$$PM = \frac{M_0 - M_i}{M_0} \quad (5)$$

4.2.3.7 Análise da liberação de ZnO a partir da membrana

Para estudar a difusão das nanopartículas de ZnO (presentes na membrana eletrofiada) uma amostra de área e massa conhecidas de cada membrana contendo 5% de zinco, escolhida para este ensaio por ser a maior concentração, foi acondicionada em um recipiente contendo 10 mL de solução TRIS-HCL de pH 7,4, mantida a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em estufa. As amostras foram deixadas em imersão por 1, 7, 14 e 21 d, após esse tempo retirou-se a membrana da solução e o líquido foi analisado por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Os testes foram conduzidos em duplicata.

4.2.3.8 Ensaio Antimicrobiano

A zona de inibição de atividade antimicrobiana das membranas foi avaliada para a bactéria gram positiva *Staphylococcus aureus*. Para isso as membranas foram cortadas em amostras de 10 x 10 mm e esterilizadas por luz ultravioleta (UV) durante 60 min, 30 min de cada lado; para a preparação do microrganismo o esgotamento foi realizado em uma placa, após 24 h em estufa a 37 °C uma colônia identificada como pura foi inoculada em meio líquido *brain-heart-infusion* (BHI), a amostra foi então levada novamente para crescimento em estufa sob as mesmas condições. Em cada placa, contendo ágar Mueller Hinton, foi inoculado 100 µL de solução contendo 1×10^7 UFC/mL pelo método *spread-plate*. As membranas foram adicionadas sobre o ágar e as placas acondicionadas em estufa para crescimento à 37 °C por 24 h. Após o tempo de crescimento o efeito antimicrobiano foi medido pela formação do halo de inibição nas placas, o halo foi medido com o auxílio do software de imagem Image-J® e um paquímetro digital (Mitutoyo). A análise foi realizada em triplicata.

4.2.3.9 Teste de citotoxicidade, adesão e proliferação Celular

- Cultura Celular

Para os ensaios celulares, foram utilizadas células imortalizadas de fibroblastos murino (NiH3T3). Essa linhagem celular foi utilizada por ser frequentemente selecionadas como controle em estudos de citotoxicidade de diferentes compostos.

As células imortalizadas NiH3T3 foram cultivadas em garrafas de plástico de 25 cm², com meio DMEM suplementado com 1% de antibiótico penicilina e estreptomicina (10 U.L/mL) e 10% de soro fetal bovino (SFB) (DMEM completo). Para o crescimento e adesão celular, elas foram mantidas em uma incubadora umidificada, com atmosfera de 5 % de CO₂ a 37 °C. As trocas de meio foram realizadas em dias alternados, até se obter uma confluência de células suficiente, em torno de 80%, para o desenvolvimento dos experimentos *in vitro*. Ao obter a confluência necessária, as células foram tripsinizadas, para isso é retirado o DMEM completo da garrafa e adicionado 4 mL de tripsina durante 5 min, ou até as células ficarem em suspensão, desaderindo do fundo da garrafa. Em seguida, foi adicionado 4 mL de DMEM completo com o intuito de neutralizar a tripsina.

Em seguida, foi realizada a contagem do número total de células, na câmara Neubauer. Posteriormente à contagem, foi realizada a diluição dessas células em meio DMEM completo na concentração desejada. Foi adicionado 100 µL/poço em uma placa de 96 poços, com uma concentração final 1×10^4 células/poço. As mesmas foram incubadas por 24 h em uma incubadora umidificada, com atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C, a fim de proporcionar a aderência das células na superfície da placa, para então realizar os ensaios celulares. Após o período de aderência das células, as mesmas foram incubadas com as membranas (PCL; PCL+PEO; PCL+PEO+ZnO1; PCL+PEO+ ZnO2,5; PCL+PEO+ZnO5; PCL+PEO+ZnO4,3-1; PCL+PEO+ZnO4,3-2; PCL+PEO+ZnO4,3-5) por 24 h em uma incubadora umidificada com atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C.

- Ensaio De Viabilidade Celular – Mtt

Esse método visa avaliar a viabilidade celular, pela redução do brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT), que em sua forma oxidada é solúvel em água e possui uma coloração amarela. Ao ser reduzido, o MTT forma cristais de formazan, um sal de coloração roxa e insolúvel em água. Essa reação de redução ocorre nas mitocôndrias das células, fazendo com que a viabilidade celular seja diretamente proporcional à produção dos cristais de formazan (Mosmann, 1983).

Após a incubação das células com as diferentes membranas por 24 h, foi preparada uma solução de 0,5 mg/mL de MTT diluído em PBS. Os tratamentos foram retirados dos poços e adicionado 100 µl/poço da solução de MTT, sendo incubado por 3 h (5% de CO₂ a 37 °C) para permitir a formação dos cristais de formazan. Após o período de incubação, foi retirada a solução de MTT de todos os poços e adicionado 100 µl/poço de álcool isopropílico, a fim de solubilizar os cristais de formazan. Por fim, a placa foi analisada em um leitor de placas por absorvância, no comprimento de onda de 570 nm.

A viabilidade celular foi determinada, por meio da comparação dos resultados das absorvâncias dos grupos testes, com as absorvâncias do grupo controle incubado apenas com DMEM, ou seja, o grupo que possui apenas células viáveis. Sendo assim, os resultados foram apresentados em porcentagem de viabilidade celular, em que o grupo controle mimetiza 100% de células vivas. Perante isso, foram realizados os cálculos, para obter a porcentagem de células viáveis em cada grupo, para que dessa forma seja avaliado a citotoxicidade das membranas analisadas.

- Análise estatística

As análises de viabilidade celular foram realizadas por meio da análise de variância de *one-way* ANOVA, considerando $p \leq 0.05$. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão, considerando os valores de $p \leq 0.05$ como significativos. Para a construção deste estudo, foi utilizado o *software* GraphPad Prism, versão 9.1.1

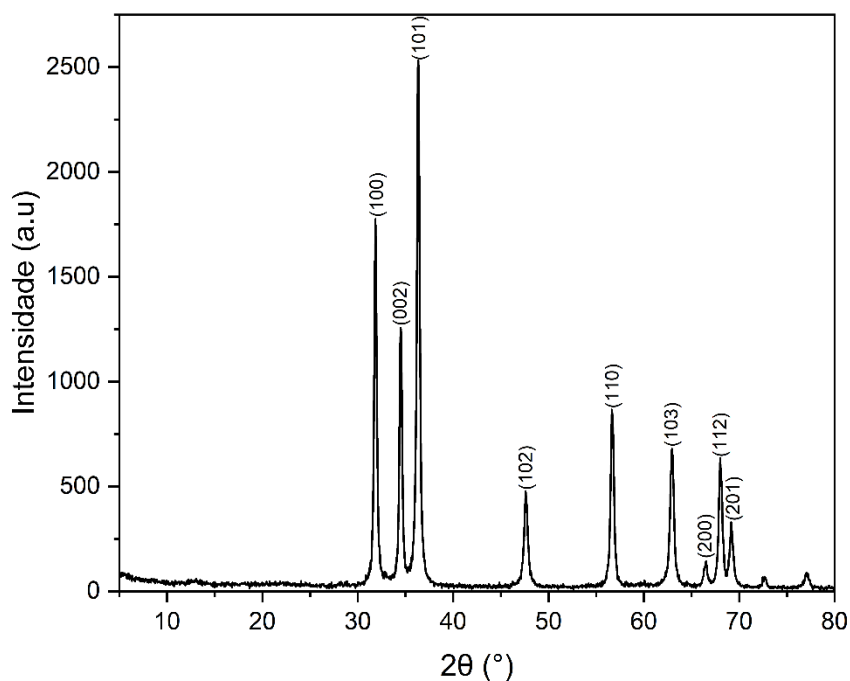
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ZNO

5.1.1 Análise estrutural: Difração de raios x

A Figura 10 mostra a difração de raios X das nanopartículas de ZnO comerciais, sintetizadas por rota química, de acordo com o fabricante. Podem ser observados reflexões de alta amplitude nos pontos equivalentes aos ângulos 2θ ($^{\circ}$): 31,85; 34,50; 36,35; 47,60; 56,65; 62,95; 66,50; 68,00 e 69,15. As reflexões observadas estão de acordo com os padrões de DRX de uma estrutura hexagonal de Wurtzita, fase cristalina mais estável de ZnO (JCPDS n $^{\circ}$ 00-036-1451), sendo identificados os planos (100), (002), (111), (102), (110), (103), (200), (112) e (201). (ABDULLAH *et al.*, 2022; GUZMAN *et al.*, 2018). Devido ao alargamento observado nas reflexões principais, o tamanho de cristalito foi estimado pela equação de Scherrer. O tamanho estimado foi de 25 nm.

Figura 10: Difratoograma de raios x das nanopartículas comerciais utilizadas.



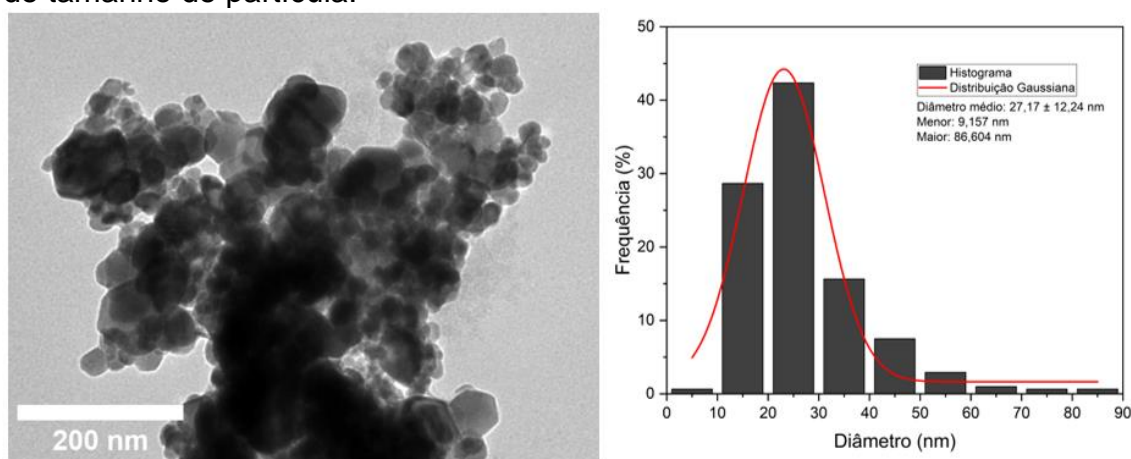
Fonte: Do autor, 2024

5.1.2 Análise Morfológica: Microscopia Eletrônica de Transmissão

A Figura 11 mostra a imagem de microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas de ZnO comerciais utilizadas nas membranas e a distribuição do tamanho de partículas. Pela análise da imagem pode-se observar partículas de formato tendendo ao hexagonal, com um diâmetro médio de $27,17 \pm 12,24$ nm nas ZnO-NPs. Além disso a frequência do diâmetro de partículas segue uma distribuição gaussiana normal. Nesse contexto, a maioria das partículas tem um tamanho próximo da média, com menos partículas nos extremos do espectro de tamanhos. Estudos de apontam uma tendência no aumento da atividade antimicrobiana com a diminuição do diâmetro médio em nanopartículas de Zinco (KAUSHIK *et al.*, 2019; MIRHOSSEINI *et al.*, 2019). Em seu trabalho Mirhosseini *et al.*, encontraram uma maior atividade antimicrobiana frente à patógenos presentes na cavidade oral para nanopartículas de 20 e 40 nm em comparação com nanopartículas maiores, com diâmetro próximo de 100 nm. Desta forma as nanopartículas utilizadas neste trabalho se caracterizam por um grande potencial para aplicação em infecções.

Figura 11: Análise morfológica das nanopartículas de Zinco.

a) Imagem de MET com magnificação de 100 mil vezes das ZnONPs; b) Distribuição de tamanho de partícula.



Fonte: Do autor, 2024

5.1.3 Análise de área de superfície específica

A análise de área de superfície específica das amostras de ZnO-NPs foi realizada por meio das isotermas de adsorção de nitrogênio e analisada pelo método

BET. A área superficial encontrada foi de 14,902 m²/g. O estudo de Babayevska et al. (2022) indica uma relação entre o tamanho e a área superficial com a atividade antimicrobiana de nanopartículas de zinco, avaliando partículas com área superficial de 83,5, 83,8, 3,0, 4,5 e 29,4 m²/g encontrou redução da contagem de microrganismos para todas as amostras avaliadas, este efeito foi mais acentuado em partículas com área superficial maior, porém é difícil analisar de forma isolada a influência da área superficial, já que ela está intimamente relacionada com o tamanho e formato da partícula. A área superficial das nanopartículas utilizadas não é alta, porém por seu pequeno diâmetro ainda apresentam grande potencial antimicrobiano.

5.1.4 Atividade antimicrobiana

A análise da atividade antimicrobiana do ZnO é de grande importância, pois serve de indicativo do potencial de aplicação do material para a aplicação em feridas infeccionadas. A amostra de ZnONPs teve o caráter antimicrobiano frente a bactéria *Staphylococcus aureus* avaliado nas concentrações de 800 até 25 µg/mL em uma placa de 96 poços seguindo uma diluição seriada. A Figura 12 mostra a placa de 96 poços utilizada na análise, em que a coloração vermelha indica a presença de microrganismos vivos por meio da reação com tetrazólio.

A Figura 12 mostra na coluna F uma forte coloração vermelha, indicativa de crescimento bacteriano, na coluna E, D e C a coloração progressivamente se torna mais fraca, demonstrando a toxicidade das ZnONPs para as bactérias. Já na coluna B, que representa a concentração de 400 µg/mL e na coluna A que representa a concentração de 800 µg/mL a coloração vermelha não é observada. Observando-se a ausência de crescimento na coluna B pode-se concluir que a concentração de 400 µg/mL é a concentração inibitória mínima das ZnONPs para o microrganismo *Staphylococcus aureus*.

Para encontrar a concentração mínima bactericida uma série de concentrações foram avaliadas a partir da concentração mínima inibitória. Para isso a bactéria foi cultivada em meio de cultura contendo ZnONPs em concentrações de 1600 a 400 µg/mL, após o crescimento o conteúdo foi plaqueado e a contagem das colônias de bactéria foi realizada nas placas. Uma diminuição da contagem de colônias de bactéria ocorreu com o aumento de concentração de ZnONPs, chegando a completa eliminação bacteriana entre 1400 e 1600 µg/mL.

Figura 12: Análise da concentração mínima inibitória das nanopartículas de ZnO em placa de 96 poços.

Microrganismo *Staphylococcus aureus* e nanopartículas de ZnO dissolvidas em meio de cultura nas concentrações: A – 800 $\mu\text{g/mL}$; B – 400 $\mu\text{g/mL}$; C – 200 $\mu\text{g/mL}$; D – 100 $\mu\text{g/mL}$; E – 50 $\mu\text{g/mL}$; F – 25 $\mu\text{g/mL}$.



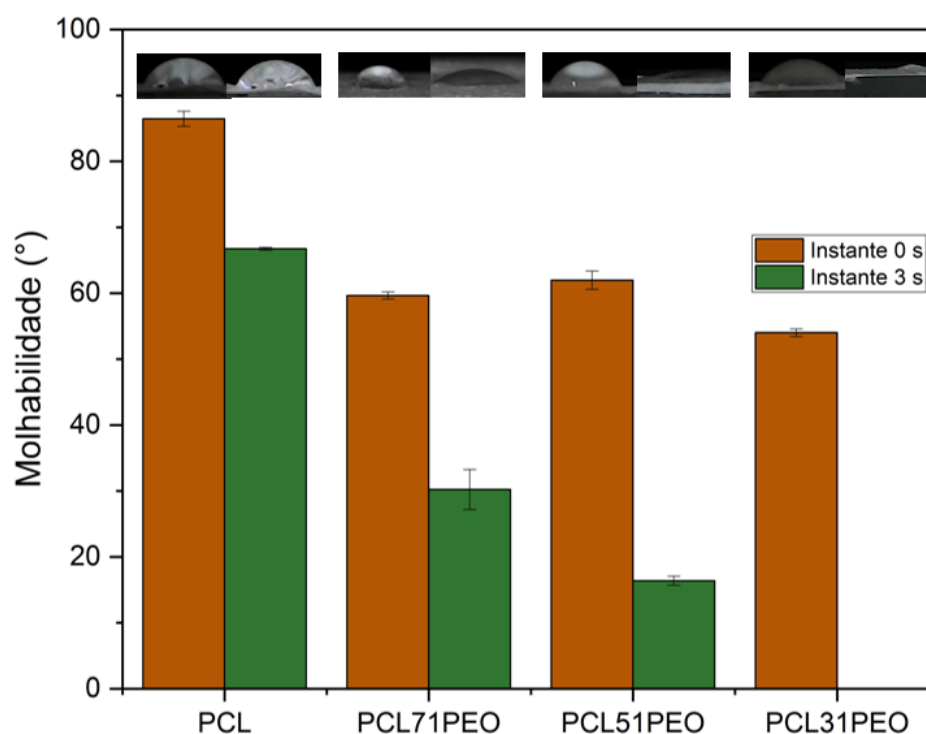
Fonte: Do autor, 2024.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS

5.2.1 Influência da adição de PEO em matriz de PCL

Foram avaliadas composições de PCL e PEO nas proporções de 7:1, 5:1 e 3:1 em comparação ao PCL puro, representadas pelas amostras PCL 71PEO, PCL51PEO e PCL31PEO. A adição do PEO tem por objetivo a melhora na molhabilidade da membrana, de forma a aumentar também a capacidade de retenção de exsudados. Além disso uma molhabilidade maior favorece uma maior viabilidade celular. A molhabilidade é medida pelo ângulo de contato de uma gota com a superfície do material. Ângulo de contato superior a 90° caracteriza uma superfície predominantemente não-molhante. Já um ângulo de contato inferior a 90° caracteriza uma superfície predominantemente molhante, as superfícies que apresentam $\theta > 90^\circ$ são chamadas de hidrofóbicas, enquanto aquelas com $\theta < 90^\circ$ são caracterizadas como hidrofílicas. As composições foram comparadas pela molhabilidade por ângulo de contato e pela medida de absorção de água. A Figura 13 mostra a molhabilidade das membranas no instante 0 e após 3 s de contato com a superfície. O ângulo de contato de gota medido para o PCL puro está próximo a 90° no instante 0 e com uma pequena redução para $66,75$ após 3 s. Já as amostras com adição de PEO apresentaram uma tendência de diminuição do ângulo de contato com o aumento da concentração de PEO. Essa tendência é mais evidenciada nas medições no instante 3 s, nas amostras com PEO adicionado o ângulo de contato inicial é próximo aos 60° , porém ocorre uma rápida absorção da água, o que evidencia o caráter hidrofílico das amostras PCL71PEO, PCL51PEO e PCL31PEO que obtiveram ângulo de contato de $30,22$, $16,39$ e 0 respectivamente. O PCL puro possui uma natureza hidrofóbica devido a presença de grupos CH_2 ao longo da membrana, a adição de PEO aumenta a hidrofiliabilidade do polímero graças formação de pontes de hidrogênio que ocorrem entre o oxigênio do grupo éter do PEO e a molécula de água (AVCI et al., 2022; FALDU, 2020; PAKRAVAN; HEUZEY; AJJI, 2011).

Figura 13: Ângulo de contato de gota medido na superfície de membranas de diferentes composições.



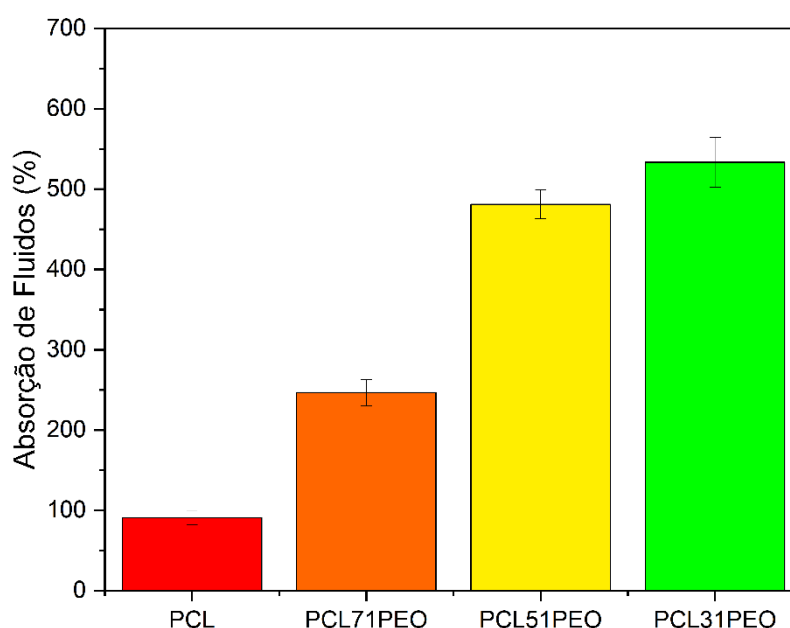
Fonte: Do autor, 2024

Em seu trabalho Eskitoros-Togay; Bulbul e Dilsiz (2018) encontraram um ângulo de contato próximo de zero para uma membrana eletrofiada de PCL com PEO na proporção de 3:1, o que é coerente com os resultados encontrados em neste trabalho, em que apesar de um ângulo inicial próximo a 60° a gotícula é rapidamente absorvida em menos de 3 s; além disso a literatura mostra que quanto maior o teor de PEO na mistura maior o caráter hidrofílico.

Como complemento à análise de molhabilidade foi medida também a absorção de fluidos, que é uma medida importante para membranas que visam a aplicação como curativos, pois indica a capacidade de absorção de líquidos exsudados e a capacidade de manter o ambiente com a umidade ideal para promover uma melhor cicatrização. A Figura 14 mostra a absorção de água para a membrana de PCL puro e cada uma das composições com PEO. Observa-se que a membrana de PCL puro apresenta uma absorção de fluidos inferior a 100% do próprio peso. Pelo gráfico percebe-se um aumento da absorção de água para as amostras com maior teor de PEO.

Já a amostra PCL71PEO apresentou uma absorção de fluidos de 246,7%, a amostra PCL51PEO apresentou 480,9% de absorção, enquanto a amostra PCL31PEO chegou a 533,3% de absorção. O aumento da absorção corrobora os resultados de ângulo de contato, com as amostras que tem uma maior molhabilidade permitindo um maior contato com a água e favorecendo a absorção de uma maior quantidade de fluido presente em uma ferida.

Figura 14: Absorção de fluidos medida em % de fluidos absorvida em relação a massa de membrana.



Fonte: Do autor, 2024.

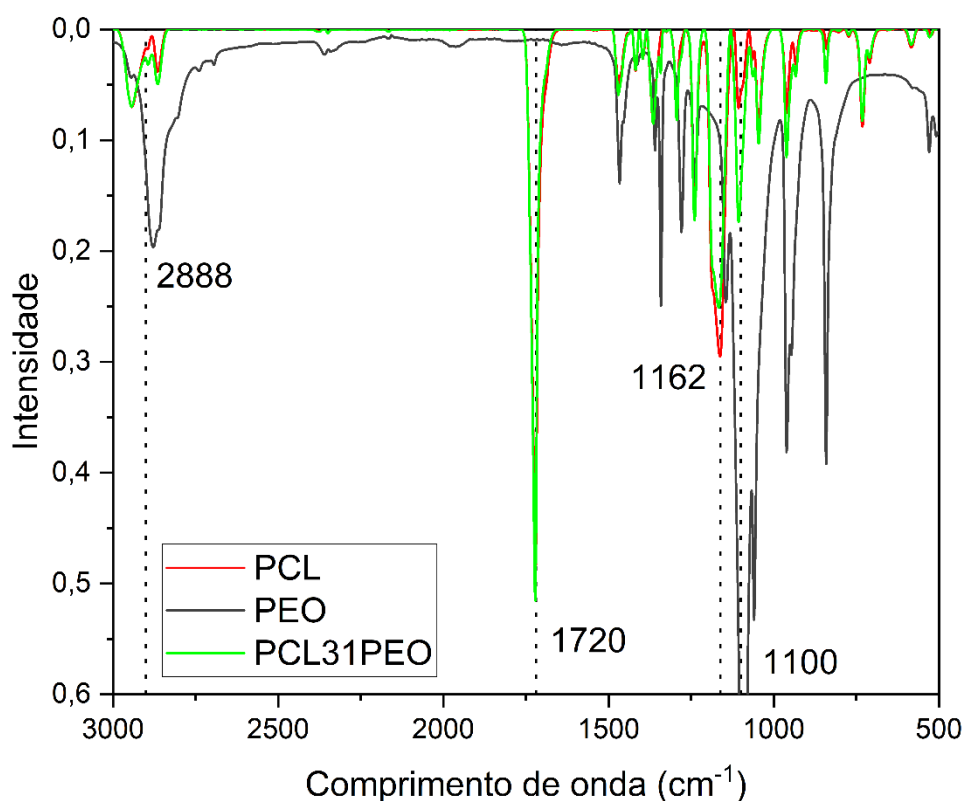
A análise realizada por Jia *et al.* (2023) indica que as gazes tradicionais utilizadas como curativos apresentam uma absorção de fluidos próxima a 100% do próprio peso, a membrana PCL71PEO, que possui a menor absorção de água dentre as membranas com adição de PEO excede este valor em quase 2,5 vezes. (CHEN *et al.*, 2021) desenvolveu em um material multifuncional uma camada específica para absorção de exsudatos baseada em PCL, gelatina e quitosana, com capacidade de absorção de exsudatos próxima a 500%, esta absorção se aproxima daquela obtida para a membrana PCL51PEO, que registrou 480,9% de absorção.

Com base nos dois resultados dos experimentos referentes à hidrofiliabilidade das membranas a composição PCL71PEO foi selecionada, pois apresenta uma

grande melhora nas características desejadas em relação ao PCL puro, porém ainda mantém a composição mais próxima ao PCL, algo desejado já que o PCL apresenta melhores características de biocompatibilidade em relação ao PEO.

A incorporação do PEO na estrutura das fibras de PCL confere as características desejadas de hidrofiliicidade à membrana. A completa mistura dos polímeros pode ser confirmada pela análise de FTIR. A Figura 15 mostra os espectros da membrana de PCL puro comparada com a membrana com maior adição de PEO.

Figura: 15: FTIR das membranas PCL e PCL31PEO.



Fonte: Do autor, 2024

O espectro de FTIR das membranas apresenta algumas diferenças interessantes, no comprimento de onda de 2888 cm⁻¹ pode ser observado uma variação no pico, correspondente a vibração da ligação C-H que é diferente no PCL e no PEO, na faixa de 1720 cm⁻¹ está localizado o pico correspondente a ligação C=O; já a diferença mais significativa pode ser observada em 1100 cm⁻¹, na presença de uma banda forte relacionada a ligação C-O-C presente no PEO, essa banda é incorporada com sucesso na membrana PCL/PEO e é responsável pela formação de pontes de hidrogênio com a água e, conseqüentemente, responsável pela mudança

de caráter de hidrofóbico para hidrofílico na membrana (FALDU, 2020; PAKRAVAN; HEUZEY; AJJI, 2011). Um espectro semelhante, com a combinação de PCL e PEO pode ser observado no trabalho de Nien et al. (2013).

5.2.2 Otimização dos Parâmetros de Processo de Eletrofiação

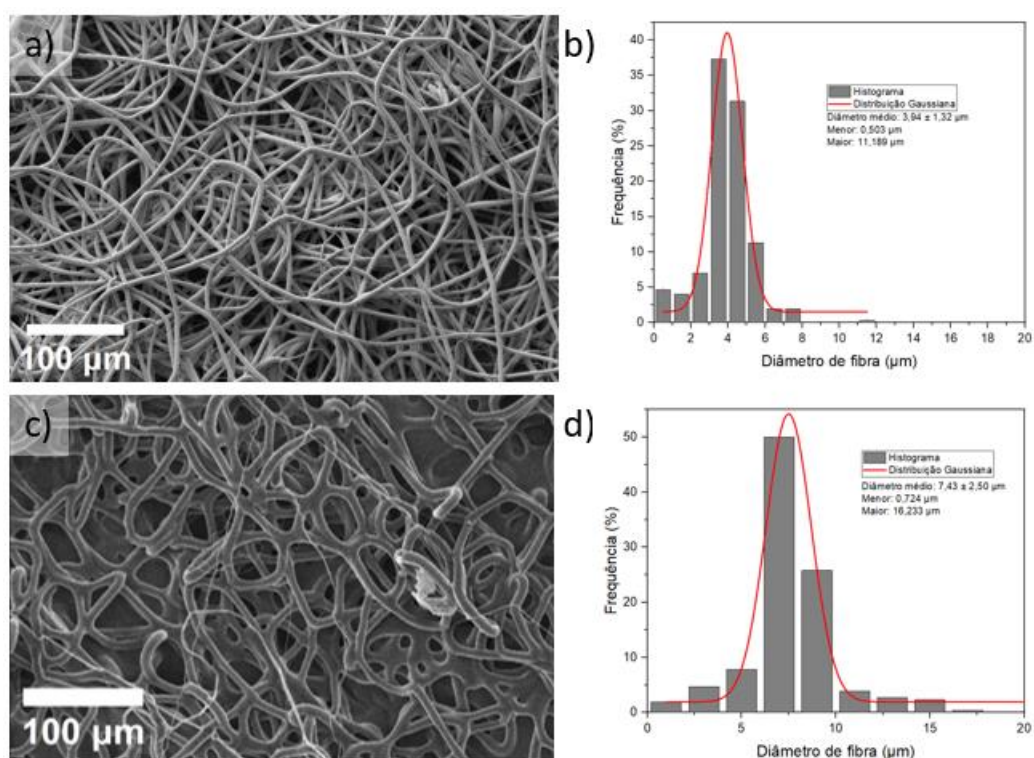
5.2.2.1 Influência da Vazão na morfologia das membranas

A vazão de trabalho da bomba injetora comanda o fluxo de material que é expelido pela ponta da agulha, a variação da vazão afeta o diâmetro das fibras formadas. Foram avaliadas as vazões de 0,07 mL/min e 0,12 mL/min, já que vazões inferiores geraram *beads* e instabilidade no jato que sai da agulha, com a solução secando no interior da agulha e não conseguindo formar um fio contínuo; e vazões superiores a 0,12 mL/min geram fios espessos, visível pelo diâmetro macrométrico do jato que deixa a agulha da eletrofiação, uma característica indesejada para a aplicação em curativos para a pele.

A Figura 16 mostra uma micrografia das membranas obtidas em diferentes vazões comparadas, e a distribuição do diâmetro de fibra. O gráfico de distribuição mostra a frequência com que cada diâmetro aparece, realizado com uma série de 300 medições. Na comparação entre as Figuras 16 a) e c) percebe-se que com o aumento da vazão há um grande aumento do diâmetro de fibra, com o diâmetro médio partindo de $3,94 \pm 1,32 \mu\text{m}$ para $7,43 \pm 2,50 \mu\text{m}$. Ambas distribuições seguem uma distribuição gaussiana, o que significa que grande parte das fibras estão próximas ao tamanho médio. Pham (2019) em seu estudo observou que ao aumentar a vazão de trabalho de 0,3 mL/h para 1 mL/h ocorreu um aumento do diâmetro médio de 330 para 450 nm na eletrofiação de poli(cloreto de vinila) (PVC), abaixo desse valor mínimo de vazão as fibras não eram formadas. Ribeiro et al. (2011) em seu estudo com PLA encontrou um aumento do diâmetro médio de fibra de 1,03 para 1,91 μm ao aumentar a vazão de 1 ml/h para 8 ml/h. Segundo Abdulhussain et al. (2023) vazões inferiores à uma vazão mínima geram um cone de Taylor assimétrico, que não permite a formação de um jato contínuo, ocorrendo quebra de fios e uma larga distribuição de diâmetros; com o aumento da vazão a partir de um certo ponto ocorre aumento do diâmetro de fio,

maior incidência de defeitos e *beads* devido a uma evaporação insuficiente do solvente.

Figura 16: Micrografia das membranas eletrofiadas mostrando a variação na morfologia com a variação do parâmetro vazão. a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-0,07; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-0,07; c) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-0,12; d) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-0,12.



Fonte: Do autor, 2024

A porosidade e o tamanho de poro para as membranas obtidas ao se variar o parâmetro vazão são mostradas na Tabela 3. Na amostra PCL71PEO-0,07 ocorre uma diminuição do tamanho de poro em relação à amostra PCL71PEO-0,12 eletrofiada na maior vazão, isso ocorre devido à diminuição do tamanho de fibra.

Tabela 3 Propriedades das membranas com variação do parâmetro vazão.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho de Poro (µm)
PCL71PEO-0,07	63,00 ± 0,94	19,57 ± 8,70
PCL71PEO-0,12	74,89 ± 1,07	24,82 ± 13,59

Fonte: do autor, 2024.

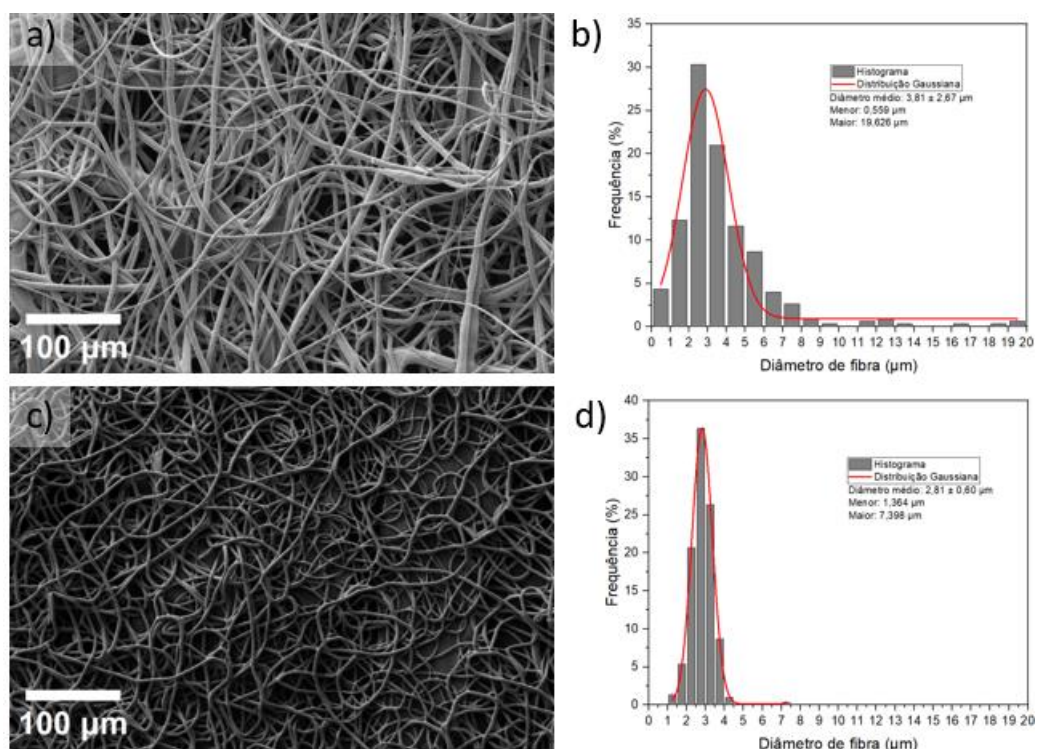
O tamanho de fibra é um dos fatores que altera a porosidade e o tamanho de poro das membranas eletrofiadas. Como há outras variáveis como a velocidade de rotação do coletor e velocidade de translação que podem modular a porosidade e o tamanho de poro e se busca uma membrana com diâmetros de fibra na faixa nanométrica para melhor simular a (MEC), a vazão de 0,07 mL/min foi fixada para os experimentos com variação de outros parâmetros (WANG *et al.*, 2014).

5.2.2.2 Influência da Tensão na Morfologia das Membranas

A tensão de trabalho é um parâmetro de processo importante que afeta principalmente o diâmetro das fibras e a sua homogeneidade, bem como a presença de defeitos. Com tensões inferiores a 12 kV não ocorreu a formação de fio. A partir de 13 kV um fio é formado e com o aumento gradual da tensão esse fio aparece visivelmente mais fino e com maior estabilidade na saída da agulha. Com isso foram avaliadas e comparadas em relação ao diâmetro de fibra duas diferentes tensões: 16 kV e 20 kV. Vale salientar que 20 kV é o limite superior para uso de tensão no equipamento. A Figura 17 mostra uma micrografia das membranas comparadas, ao lado a distribuição do diâmetro de fibra é mostrado. O gráfico de distribuição mostra a frequência com que cada diâmetro aparece, realizado com uma média de 300 medições. A amostra eletrofiada com 16 kV apresenta uma distribuição mais larga e menos homogênea. Pode-se observar a presença de fibras muito finas, com diâmetro inferior a 1 μm e fibras maiores, com diâmetros que passam dos 10 μm . Já na amostra com 20 kV a distribuição observada é bem mais estreita, com diâmetros de fibra se mantendo entre 1 e 4,5 μm e um diâmetro de fibra médio de $2,81 \pm 0,60 \mu\text{m}$, ambas as distribuições de diâmetro de fibra das amostras seguem uma distribuição gaussiana normal.

A diminuição no diâmetro médio é um resultado esperado com o aumento da tensão, o mesmo fenômeno é observado por Sencadas *et al.* (2012) em que uma diminuição no diâmetro médio das fibras de aproximadamente 530 para 350 nm ocorre com o aumento da tensão de 20 para 30 kV respectivamente, na eletrofição de uma solução polimérica de quitosana. Ribeiro *et al.* (2011) observou para o PLA uma diminuição do diâmetro médio de fibra de 2,45 μm para 1,37 μm com o aumento da tensão de 12 para 20 kV, com um subsequente aumento para 1,61 μm com um novo aumento de tensão para 25 kV.

Figura 17: Micrografia das membranas eletrofiadas mostrando a variação na morfologia com a variação do parâmetro tensão de trabalho. a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-16kV; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-16kV; c) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-20kV; d) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-20kV.



Fonte: Do autor, 2024.

Tal aumento de diâmetro a partir de um certo limite de tensão não é bem compreendido e pode estar associado a fenômenos complexos na zona de instabilidade da fibra e do fluxo de material pelo jato, porém não foi observado neste trabalho até a tensão limite do equipamento que é de 20 kV. (CHEN *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2011; SENCADAS *et al.*, 2012) A porosidade e o tamanho de poro para as membranas obtidas ao se variar o parâmetro tensão são mostradas na Tabela 4.

Tabela 4: Propriedades das membranas com variação do parâmetro tensão.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho de Poro (µm)
PCL71PEO-16kV	74,94 ± 1,08	19,33 ± 9,29
PCL71PEO-20kV	69,22 ± 2,03	17,30 ± 6,64

Fonte: do autor, 2024.

Entre as amostras eletrofiadas com 16 kV e 20 kV não ocorreu uma grande variação no tamanho de poro, a amostra PCL71PEO-20kV apresenta um diâmetro de poro levemente menor, condizente com o menor diâmetro de fibra, porém essa diferença não é tão acentuada quanto a observada na Tabela 3 para a variação da vazão; a porosidade teve uma variação de cerca de 8%, coerente também com o a redução no diâmetro de fibra e tamanho de poro comparando-se a amostra PCL71PEO-20kV em relação a PCL71PEO-16kV.

Neste trabalho busca-se o menor tamanho de fibra, visando alcançar a faixa nanométrica entre 300 e 1000, em que estudos indicam estar o melhor desempenho no crescimento de fibroblastos, auxiliando no processo de cicatrização (REZVANI GHOMI *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2022). Dessa forma a tensão de trabalho foi fixada em 20 kV para a avaliação dos demais parâmetros de processo em busca da redução do diâmetro médio.

5.2.2.3 Influência da Distância de Trabalho nas Membranas

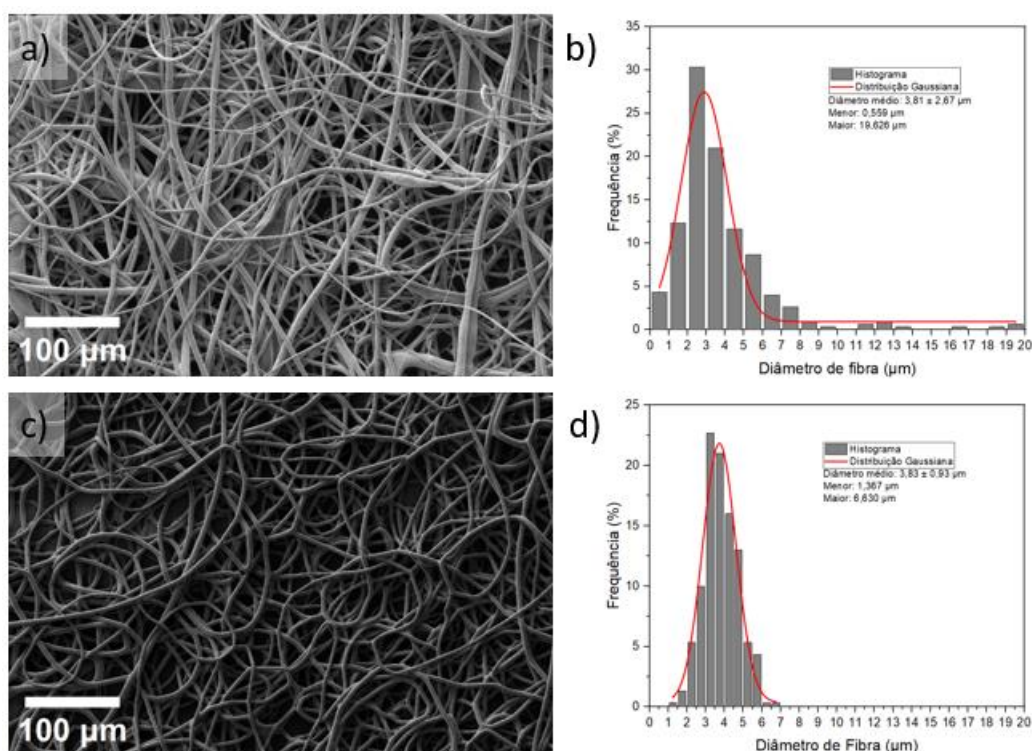
A distância de trabalho entre a ponta da agulha da eletrofiação e o coletor aterrado influencia diretamente aspectos como a secagem do solvente, o que afeta o diâmetro e a distribuição das fibras formadas. A Figura 18 apresenta em a) a imagem de MEV obtida da membrana com 15 cm de distância de trabalho, e em b) a distribuição do diâmetro de fio para a mesma amostra, denominada como PCL71PEO-15cm; na Figura 19 c) e d) são representadas respectivamente as imagens de MEV e a distribuição do tamanho de fibra para a amostra com 20 cm de distância de trabalho. Com o aumento da distância de trabalho ocorreu uma diminuição no desvio padrão do diâmetro médio das fibras, é possível observar pela comparação das imagens de MEV uma maior uniformidade em c) em relação a a), os diâmetros registrados foram $3,81 \pm 2,67 \mu\text{m}$ e $3,83 \pm 0,93 \mu\text{m}$ para as amostras PCL71PEO-15cm. Tentativas de eletrofiação com distâncias menores do que 12 cm não produziram fios, sendo esse o limite mínimo. Já com 13 cm de distância um jato instável com alta taxa de partição das fibras pode ser observado saindo da ponta da agulha.

As amostras PCL71PEO-15cm e PCL71PEO-20cm apresentaram um diâmetro médio próximo, $3,81 \pm 2,67 \mu\text{m}$ para e $3,83 \pm 0,93 \mu\text{m}$, porém com o aumento da distância uma maior uniformidade foi obtida nas fibras. De acordo com Abdulhussain *et al.* (2023) uma distância de trabalho insuficiente leva à um tempo menor da fibra no

ar, que não permite a evaporação do solvente promovendo instabilidade e defeitos, um aumento na distância aumenta o tempo de evaporação do solvente, promovendo fibras mais finas, dentro de uma faixa ótima de distância para cada sistema esse comportamento é observado, porém após esse limite um fenômeno relacionado também à tensão faz com que haja um enfraquecimento do campo elétrico e o diâmetro médio das fibras tende a aumentar novamente. (ABDULHUSSAIN *et al.*, 2023; TAN *et al.*, 2022)

Figura 18: Micrografia das membranas eletrofiadas mostrando a variação na morfologia com a variação do parâmetro distância de trabalho.

a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-15cm; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-15cm; c) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-20cm; d) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-20cm.



Fonte: Do autor, 2024

A porosidade e o tamanho de poro para as membranas obtidas ao se variar o parâmetro distância de trabalho são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5: Propriedades das membranas com variação do parâmetro distância de trabalho.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho de Poro (μm)
PCL71PEO-15cm	$74,94 \pm 1,08$	$19,33 \pm 9,29$
PCL71PEO-20cm	$72,96 \pm 2,17$	$20,44 \pm 9,38$

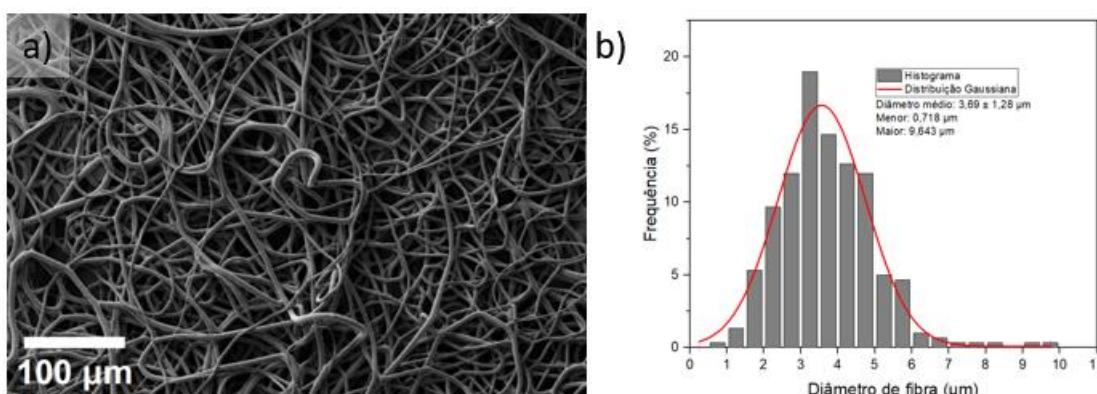
Fonte: do autor, 2024.

Os dados da Tabela 5 mostram pouca diferença no tamanho de poro entre as membranas PCL71PEO-15cm e PCL71PEO-20cm, distância de trabalho de 15 e 20 cm respectivamente. A porosidade teve uma variação pequena, sendo levemente maior para a membrana PCL71PEO-15cm.

5.2.2.4 Influência da combinação de fatores nas membranas

Combinando-se os fatores variados para buscar a membrana com o menor diâmetro de fibra possível foi eletrofiada uma membrana com 20 cm de distância e 20 kv de tensão. A Figura 19 mostra em a) uma imagem de MEV da membrana eletrofiada com 20 cm e 20 kV e em b) a distribuição do diâmetro de fibra. Na Figura 20 a) não é possível observar grandes defeitos nas fibras, o que corrobora com a distribuição em b) que não apresenta um desvio padrão muito elevado, com uma fibra média de $3,69 \pm 1,27 \mu\text{m}$ de diâmetro. Para essa membrana a porosidade calculada foi de $77,29 \pm 1,12\%$ e o tamanho de poro $22,65 \pm 9,29 \mu\text{m}$.

Figura 19: Micrografia da membrana eletrofiada mostrando uma combinação dos fatores tensão e distância de trabalho. a) Imagem de MEV da amostra PCL71PEO-20cm-20kV; b) Distribuição de diâmetro de fibra da amostra PCL71PEO-20cm-20kV.



Fonte: Do autor, 2024.

Quando comparado com a membrana com 15 cm de distância e 20 kV de tensão, apresentada na Figura 19 c) e d) há um claro aumento no diâmetro de fibra com o aumento da distância. Na literatura Sencadas et al. descreve um comportamento semelhante, em que o aumento na distância causa um aumento no diâmetro das fibras, isso está relacionado a diminuição do campo elétrico que diminui a força eletrostática e causa um efeito semelhante à uma diminuição de tensão. Dessa forma as fibras são “puxadas” com menor intensidade e o diâmetro médio aumenta (SENCADAS *et al.*, 2012; TAN *et al.*, 2022). Além disso os parâmetros de processo da eletrofiação apresentam relações de dependência entre si e não podem ser avaliados de forma completamente isolada.

Parâmetros ambientais como a temperatura e a umidade também tem grande influência no processo de eletrofiação. A temperatura foi controlada em 21 °C durante a obtenção de todas as amostras, a umidade relativa não podendo ser controlada era então monitorada, sendo registradas umidades entre 47 e 74% durante os experimentos, essa variação na umidade pode ser responsável por variações no diâmetro das fibras e na presença de poros na superfície das mesmas. (ABDULHUSSAIN *et al.*, 2023; SZEWCZYK; STACHEWICZ, 2020)

Para a aplicação como curativo funcional busca-se o menor tamanho de fibra para simulação da matriz extracelular, a MEC possui fibras de colágeno de 300 a 1000 nm, enquanto ainda é necessária uma porosidade acima de 60% e um tamanho de poro próximo a 20 µm, suficiente para o crescimento das células da pele. Neste sentido a condição selecionada foi aquela com o menor diâmetro de fibra, o mais próximo possível dos 1000 nm, nesta condição a membrana apresenta porosidade de 66,78% e um tamanho de poro de $17,30 \pm 6,64$ µm, desta forma foi selecionada a composição PCL71PEO com uma vazão de 0,07 mL/min, tensão de trabalho de 20 kV e distância de 15 cm entre a agulha e o coletor (REZVANI GHOMI *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2022).

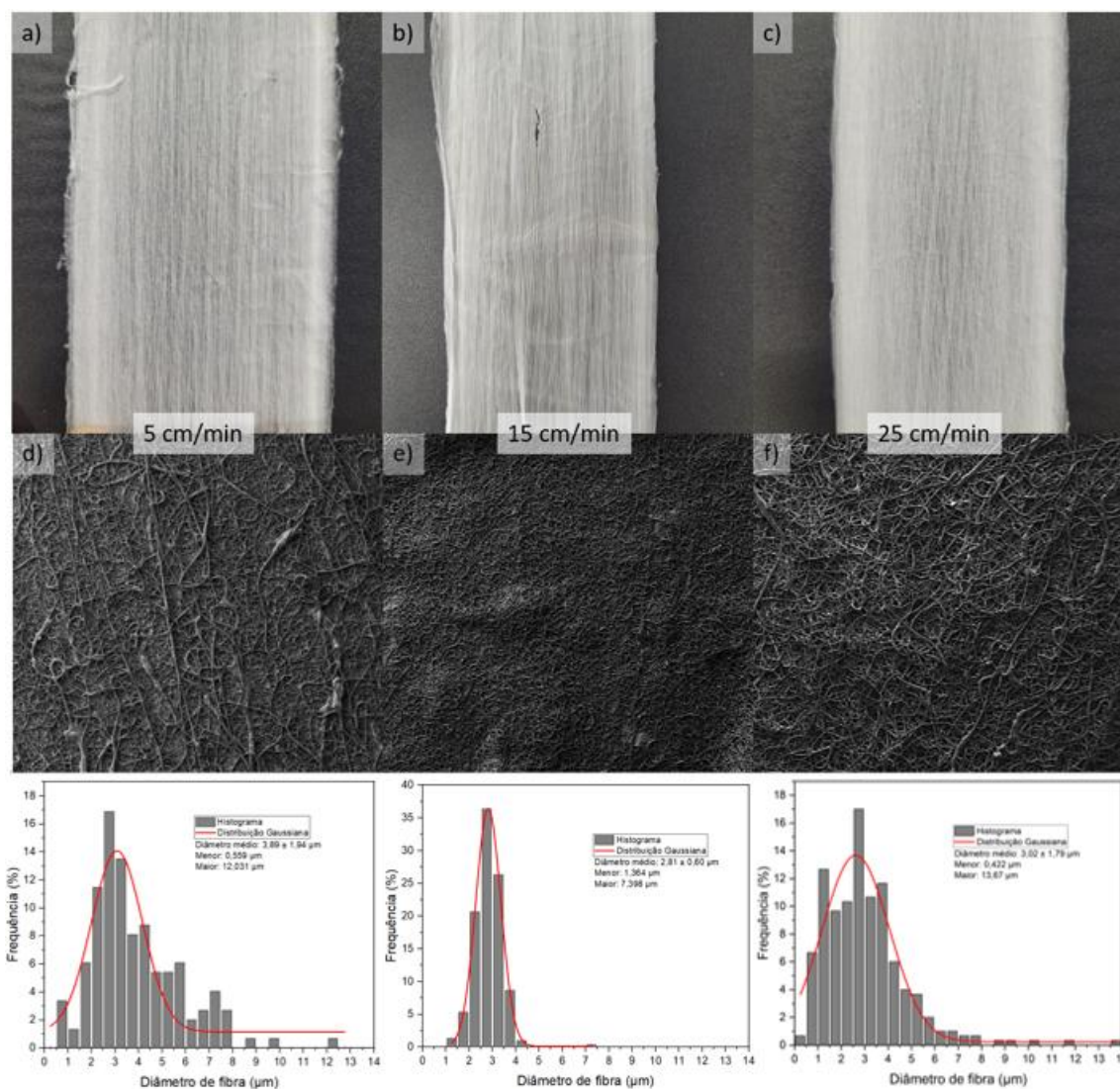
5.2.2.5 Influência da velocidade de translação da agulha nas membranas

O movimento de translação da agulha é um parâmetro de processo não explorado na literatura, isso se deve à configuração mais convencional do equipamento de eletrofiação, que opera em uma posição vertical, com a agulha estática e a solução polimérica sofrendo o efeito gravitacional em direção ao coletor.

A Figura 20 apresenta uma fotografia de cada membrana eletrofiada com diferentes velocidades de translação da agulha, abaixo de cada imagem é possível observar a micrografia obtida por MEV da respectiva membrana com magnificação de 100 vezes e a distribuição do diâmetro de fibra de cada membrana.

Observando a Figura 20 d), e) e f) percebe-se um diâmetro de fibra levemente superior na membrana eletrofiada na menor velocidade, com o aumento da velocidade para 15 cm/min e 25cm/min há uma diminuição no diâmetro de fibra.

Figura 20: Membranas obtidas pela variação da velocidade de translação da agulha. Membranas eletrofiadas nas velocidades a) 5 cm/min; b) 15 cm/min; c) 25 cm/min. Imagem de MEV (magnificação 100x) e distribuição de diâmetro de fibra das membranas eletrofiadas nas velocidades d) 5 cm/min; e) 15 cm/min; f) 25 cm/min.



Fonte: Do autor, 2024

A Tabela 6 complementa o resultado apresentando o tamanho de poro e a porosidade obtidas para as membranas ao se variar o parâmetro velocidade de translação da agulha.

Tabela 6: Propriedades das membranas com variação do parâmetro velocidade de translação.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho de Poro (μm)
T5	73,06 \pm 1,55	16,75 \pm 6,75
T15	69,22 \pm 2,03	17,30 \pm 6,64
T25	68,82 \pm 2,70	16,12 \pm 6,66

Fonte: do autor, 2024.

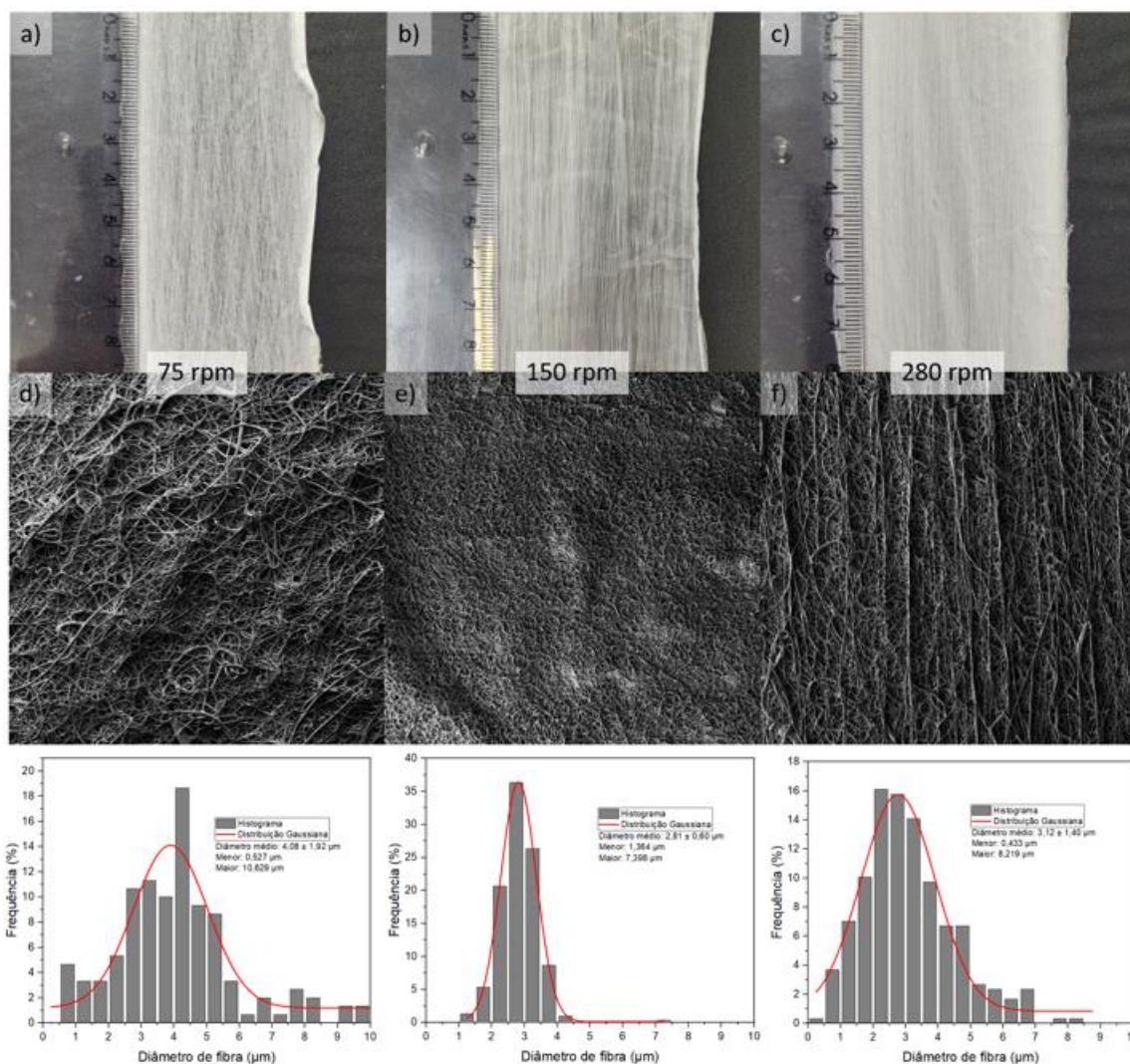
Observando os dados da Tabela 6 percebe-se pouca diferença no tamanho do poro entre as diferentes velocidades, com todas as membranas registrando um tamanho de poro entre 16 e 17 μm . É possível observar uma tendência de diminuição leve da porosidade de 73,06 \pm 1,55% para 68,82 \pm 2,70% de porosidade com o aumento da velocidade de translação de 5 cm/min para 25 cm/min.

A maior diferença entre as membranas porém é na disposição das fibras, na Figura 20 é possível observar uma diminuição no grau de orientação que ocorre da menor velocidade, 5 cm/min, para a maior velocidade, 25 cm/min, com a Figura 20 a) apresentando mais fibras retilíneas na imagem macroscópica, enquanto a amostra de 15 cm/min e 25 cm/min apresentam as fibras com aspecto “trançado”. Isso se traduz nas imagens de MEV na Figura 20 d), e) e f) em que há uma maior aleatoriedade visível na disposição das fibras com o aumento da velocidade. A orientação das fibras nas membranas eletrofiadas com aplicação em regeneração tecidual é um fator importante e tem sido abordado em estudos (REZVANI GHOMI *et al.*, 2022; TANG *et al.*, 2019). A maior parte dos trabalhos utiliza uma configuração diferente para o equipamento de eletrofiação, com a agulha disposta na forma vertical, enquanto neste trabalho a configuração horizontal foi utilizada, com a possibilidade de movimentar a agulha horizontalmente, por isso não foram encontrados trabalhos que façam o estudo da variação da velocidade de translação, entretanto os resultados apresentados ao se aumentar a velocidade de translação podem ser relacionados com os resultados de uma diminuição da velocidade de rotação do coletor.

5.2.2.6 Influência da velocidade de rotação do coletor nas membranas

Dois parâmetros de processo foram variados com o intuito de alterar o grau de orientação das fibras, sendo eles a velocidade de translação da agulha durante o processo e a velocidade de rotação do coletor das fibras. A Figura 21 apresenta a comparação das membranas eletrofiadas com diferentes velocidades de rotação do coletor.

Figura 21: Membranas obtidas pela variação da velocidade de translação da agulha. Membranas coletadas nas velocidades a) 75 rpm; b) 150 rpm; c) 280 rpm. Imagem de MEV (magnificação 100x) e distribuição do diâmetro de fibra das membranas coletadas nas velocidades d) 75 rpm; e) 150 rpm; f) 280 rpm.



Fonte: Do autor, 2024

A Tabela 7 apresenta o tamanho de poro e a porosidade obtidas para as membranas ao se variar o parâmetro velocidade de rotação do coletor aterrado.

Tabela 7: Propriedades das membranas com variação do parâmetro velocidade de rotação do coletor.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho de Poro (μm)
R75	71,81 ± 2,78	19,84 ± 7,82
R150	69,22 ± 2,03	17,30 ± 6,64
R280	73,27 ± 2,52	25,15 ± 9,88

Fonte: do autor, 2024.

A Figura 21 apresenta uma foto de cada membrana eletrofiada que foi coletada à diferentes velocidades, em que é possível observar o grau de orientação das fibras à olho nu, abaixo de cada imagem é possível observar o MEV da respectiva membrana com magnificação de 100 vezes e a distribuição do diâmetro de fibra para cada respectiva membrana. O diâmetro de fibra apresentou um tamanho médio maior na menor velocidade do coletor, $4,08 \pm 1,92 \mu\text{m}$ para 75 rpm, comparando-se as velocidades maiores apresentaram um diâmetro de fibra menor, com uma distribuição mais estreita e mais alinhada com a distribuição gaussiana normal. O menor diâmetro foi registrado na velocidade de 150 rpm com $2,81 \pm 0,60 \mu\text{m}$.

Observando-se os dados da Tabela 7 é possível observar um aumento da porosidade para a maior velocidade de rotação, atingindo $73,27 \pm 2,52\%$ de porosidade com 280 rpm. Em relação ao tamanho de poro é possível observar um aumento no tamanho de poro com o aumento da velocidade de rotação, sendo obtido um tamanho de poro de $25,15 \pm 9,87 \mu\text{m}$ para a maior rotação (280 rpm), enquanto o menor diâmetro de poro, $17,30 \pm 6,64 \mu\text{m}$ é registrado na velocidade intermediária de 150 rpm. A morfologia da membrana é um fator determinante nas propriedades da mesma, o conhecimento das características morfológicas da membrana é de grande importância para compreender as possíveis aplicações do material. A porosidade e o tamanho de poro do material alteram a forma com que o material interage com diferentes células, para a cicatrização de feridas é importante que o tamanho de poro e a porosidade sejam grandes o suficiente para acomodar as células da pele (YANG *et al.*, 2001). Bergemeister *et al.* (2013) em seu estudo encontrou uma maior migração, crescimento e viabilidade celular *in vivo* para membranas com a porosidade próxima aos 80% quando comparada com membranas com porosidade inferior a 60% utilizando células endoteliais, Lowery, Datta e Rutledge (2010) encontraram um maior crescimento de fibroblastos dérmicos no interior do *scaffold* com tamanhos de poro superiores a $6 \mu\text{m}$, com poros menores as células não são capazes de migração, já com poros superiores a $20 \mu\text{m}$ há uma mudança no comportamento das células, em que ocorre um crescimento alinhado à fibras sozinhas ao invés de crescimento criando pontes entre diferentes fibras.

Já em relação ao alinhamento das fibras, é possível observar na Figura 21 a) um maior número de fibras “trançadas”, dispostas em forma de x devido à menor velocidade do coletor, comparando-se com a Figura 21 b) e Figura 21 c) há uma tendência de alinhamento das fibras com o aumento da velocidade do coletor, o

mesmo comportamento pode ser observado também a nível microscópico pela análise da Figura 21 d), Figura 21 e) e Figura 21 f). O comportamento alinhado nas fibras com maiores velocidades do coletor foi também observado por outros trabalhos na literatura (GHOBEIRA *et al.*, 2018; LEE; YOON; KIM, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2011). Além disso, a presença adequada de poros possibilita a permeabilidade do curativo, permitindo a troca eficiente de gases entre o ambiente externo e a ferida. Essa característica é essencial para regular o oxigênio e remover subprodutos metabólicos, criando um ambiente propício para a cicatrização. Além disso, a porosidade facilita a drenagem eficaz de fluidos exsudativos, prevenindo a acumulação excessiva de líquidos na área da ferida e, assim, evitando complicações (ARMENTANO *et al.*, 2010). Ainda de acordo com a ANVISA (ANVISA, 2017), a presença adequada de poros contribui para manter uma elevada umidade entre a ferida e o curativo, proporcionando facilidade na remoção, conforto, durabilidade, manutenção da umidade ideal no leito da ferida, áreas periféricas secas e protegidas, além de serem adaptáveis às diversas partes do corpo. Esses atributos alinham-se aos critérios essenciais para um produto tópico eficaz no tratamento de feridas, promovendo uma abordagem abrangente e alinhada às diretrizes de qualidade regulatórias.

Visando uma porosidade na faixa ideal e um tamanho de poro superior a 20 μm a condição selecionada para a continuidade do trabalho é a eletrofiação na velocidade de 280 rpm, para obtenção das membranas com alinhamento das fibras.

5.2.3 Efeito da Adição de ZnO nas Membranas

Ainda para seguir as recomendações da ANVISA para um curativo que absorve grande quantidade de exsudado é importante que a membrana seja bactericida. Neste caso, feridas com exsudação abundante com ou sem infecção, feridas cavitárias feridas sanguinolentas, (queimaduras de 2º grau, pressão e vasculares.) ou ainda feridas exsudativas, limpas, em fase de granulação; feridas superficiais; feridas cavitárias podem utilizar curativos com agentes bactericidas. As nanopartículas de óxido de zinco, assim como outras nanopartículas não metálicas, como o CuO, o TiO₂ e o GO vem sendo alvo de estudos como ativos incorporados a matrizes poliméricas por meio da eletrofiação, visando a aplicação como curativos para feridas na pele (FAN *et al.*, 2016; KARUPPANNAN *et al.*, 2016; HOSSEINI *et al.*, 2022). As ZnONPs

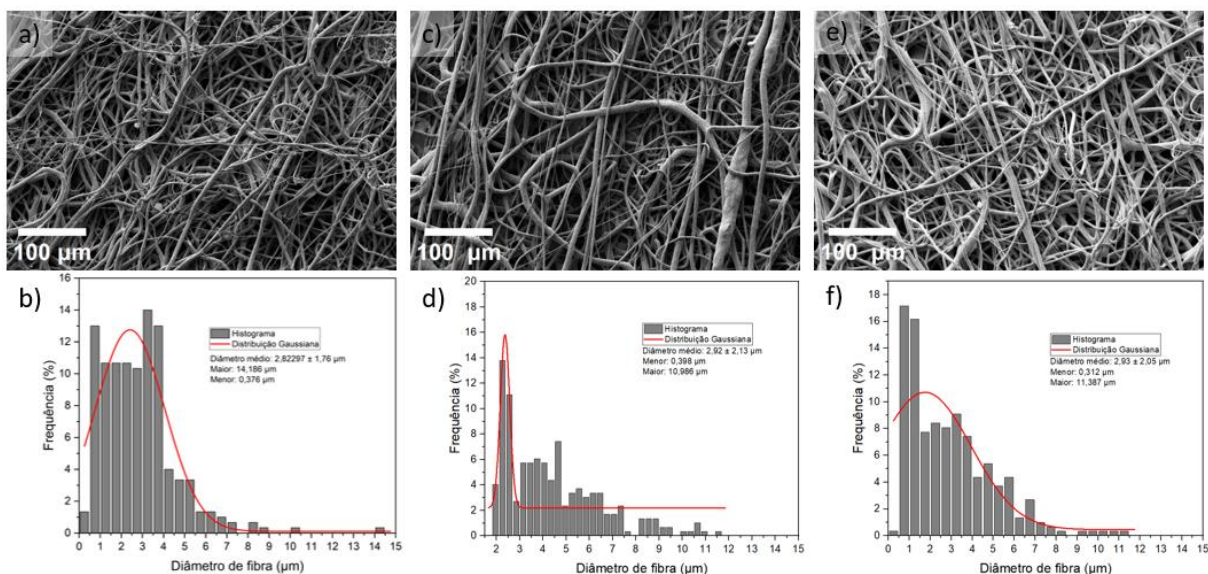
possuem ação na ferida que pode aumentar a angiogênese, promover a cicatrização de feridas e agir no combate a infecções (AUGUSTINE *et al.*, 2014; ALY; AHMED, 2021; SHALUMON *et al.*, 2011; SHU *et al.*, 2023).

O diâmetro das fibras e o tamanho de poro são medidas importantes para as membranas eletrofiadas para aplicação em cicatrização de feridas pois a morfologia da superfície afeta a forma com que as células se aderem e crescem, assim, a morfologia das membranas foi analisada após a adição do ZnO para verificação de possíveis alterações na morfologia desejada. A Figura 22 mostra as imagens de MEV das fibras eletrofiadas com magnificação de 500 vezes para as membranas com adição de ZnONPs, partindo de 1% em relação à massa de polímero até 5%, abaixo é apresentada a distribuição de diâmetro de fibra para cada membrana.

É possível perceber comparando-se as distribuições na Figura 22 a), b) e c) um desvio padrão alto dentre as 3 membranas com adição de zinco, apesar do desvio padrão maior, o diâmetro de fibra é semelhante ao encontrado na eletrofiação da composição PCL71PEO nas mesmas condições, mostrado na Figura 17 c) e d), sendo $2,81 \pm 0,60 \mu\text{m}$ para a membrana sem zinco, $2,82 \pm 1,76 \mu\text{m}$ com 1%, $2,92 \pm 2,13 \mu\text{m}$ com 2,5% e $2,93 \pm 2,05 \mu\text{m}$ com 5%.

A instabilidade no diâmetro das fibras, evidenciada pelo alto desvio padrão é resultado de uma visível divisão das fibras durante o processo de eletrofiação, com a partição dos fios formou-se uma alta quantidade de fibras com diâmetro nos dois extremos que destoam do diâmetro médio, por essa divisão que pode ser visualizada na Figura 22 a), b) e c), as respectivas distribuições apresentam um comportamento que destoa da distribuição normal Gaussiana, em especial a Figura 22 d).

Figura 22: Micrografia das membranas contendo diferentes quantidades de ZnO. a) PCL71PEO-Z1; b) Distribuição de diâmetro de fibra PCL71PEO-Z1; c) PCL71PEO-Z2,5; d) Distribuição de diâmetro de fibra PCL71PEO-Z2,5; e) PCL71PEO-Z5; b) Distribuição de diâmetro de fibra PCL71PEO-Z5.



Fonte: Do autor, 2024

A variação do diâmetro de fibra com a adição de nanopartículas de ZnO em relação a fibra sem nanopartículas é um fenômeno observado também no trabalho de Augustine *et al.* (2014) Em que uma adição de ZnONPs à membrana de PCL causou uma diminuição do diâmetro médio de fibra em concentrações até 1%, porém, Augustine *et al.* (2014) encontra um aumento do diâmetro de fibra em concentrações maiores. Neste trabalho esse aumento não foi observado, com a fibra apresentando um diâmetro próximo para as concentrações de 1%, 2,5% e 5% de adição de ZnONPs. Rodríguez-Tobías *et al.*, (2014) da mesma forma não relatou uma grande variação no diâmetro de fibra entre as membranas com adição de ZnONPs nas concentrações 1, 3 e 5%. Tal diferença pode estar relacionada ao solvente, já que em trabalho foi empregado clorofórmio, enquanto Augustine *et al.* (2014) utilizaram de acetona no preparo das soluções. A variação no diâmetro das fibras é causado por um aumento das cargas acumuladas na superfície da fibra que é expelida pelo jato da agulha, um aumento da carga leva a um aumento da força de alongação, semelhantemente ao que ocorre com um aumento da tensão de trabalho no processo de eletrofiação, dessa forma com um campo maior houve partição das fibras e instabilidade no diâmetro médio. Um efeito similar é descrito por Zong *et al.* (2002) para a incorporação de sais iônicos na solução polimérica, uma diminuição no tamanho de fibra de PLA foi observado com a adição de 1% de diferentes sais devido ao aumento da carga na superfície do jato polimérico.

A Tabela 8 apresenta os dados de características morfológicas das membranas com adição das nanopartículas de óxido de zinco.

Tabela 8: Propriedades das membranas com diferentes concentrações de ZnONPs.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho de Poro (μm)
Z1	$73,96 \pm 1,06$	$21,27 \pm 9,20$
Z2,5	$77,05 \pm 1,35$	$21,69 \pm 9,36$
Z5	$76,57 \pm 0,70$	$21,46 \pm 8,19$

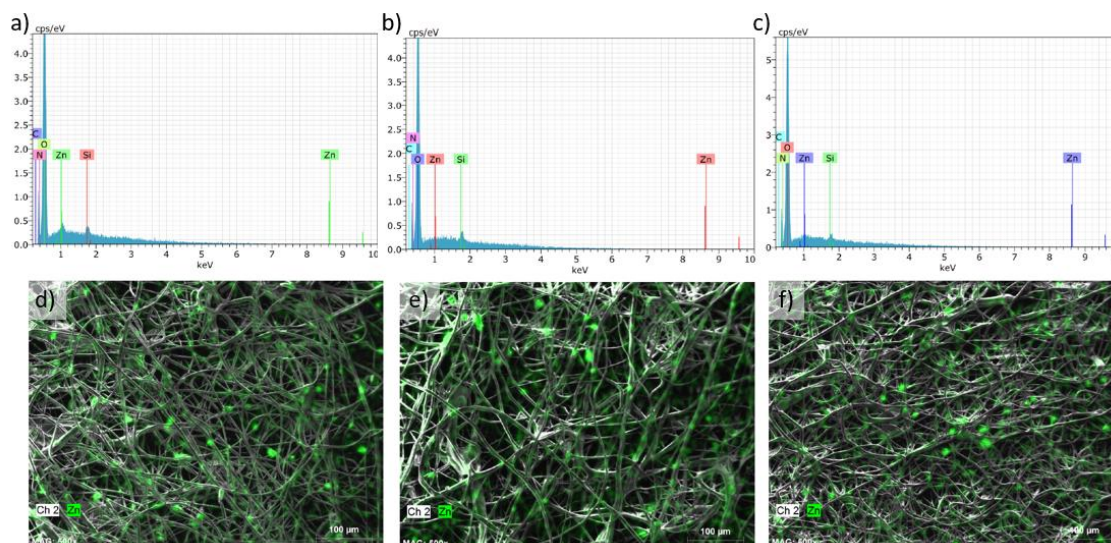
Fonte: do autor, 2024.

Analisando os dados da Tabela 8 fica evidente que a adição das ZnONPs não causou grandes modificações na morfologia da membrana, os tamanhos de poro e porosidade se mantiveram com poucas alterações em relação à membrana eletrofiada nas mesmas condições sem a adição das partículas, sendo ela a membrana eletrofiada a 280 rpm de velocidade do coletor, cujos dados são mostrados na Tabela 6.

É importante para a boa funcionalidade das membranas como curativos que o ativo, as ZnONPs, estejam bem dispersar ao longo da estrutura da membrana, dessa forma o comportamento da membrana em funções como o *drug delivery* ocorrem de forma mais previsível. A Figura 23 apresenta imagens micrográficas com mapeamento por EDS das membranas em que é possível ver o elemento Zn na estrutura da membrana.

Na Figura 23 é possível observar em a), b) e c) os picos que representam a presença do elemento Zn. Já em d), e) e f) é possível observar a dispersão das moléculas de Zn, sendo possível confirmar a boa dispersão do elemento ao longo da estrutura.

Figura 23: EDS das membranas contendo Zinco. (a – d) 1%; (b – e) 2,5%; (c – f) 5%.

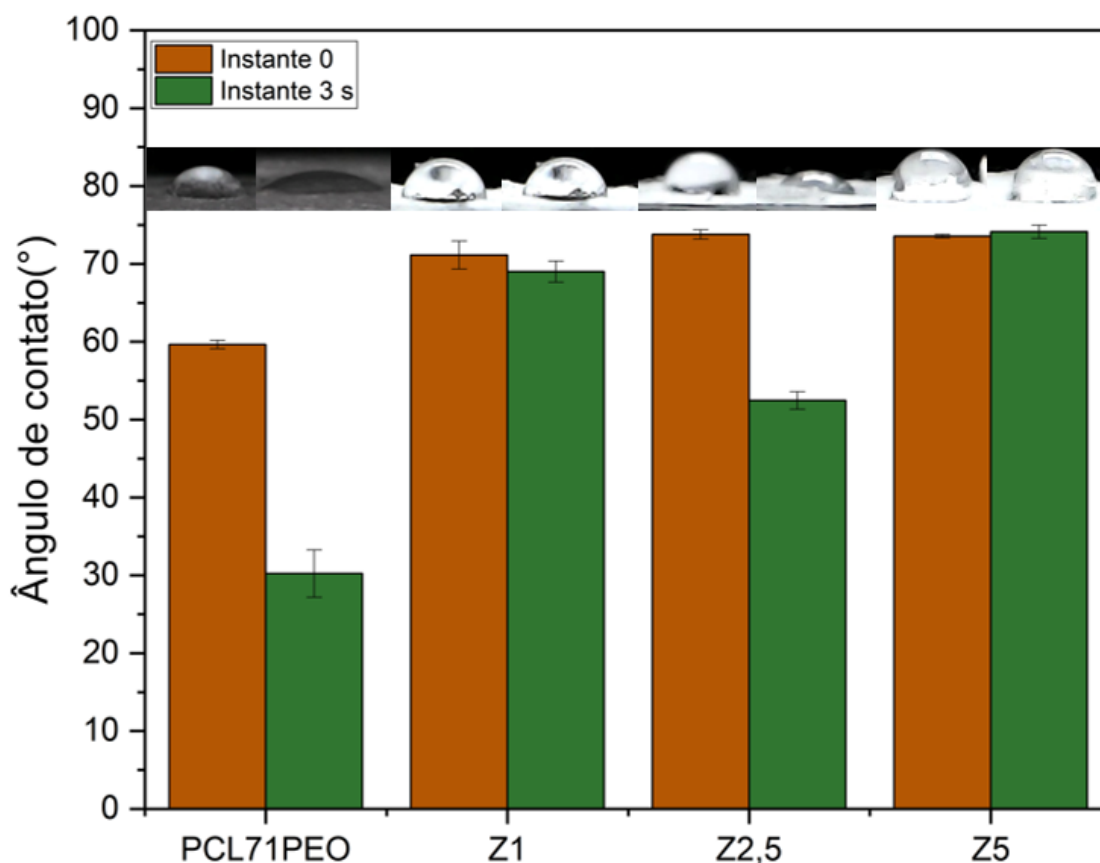


Fonte: Do autor, 2024.

5.2.4 Molhabilidade das membranas contendo ZnO

A Figura 24 apresenta graficamente a comparação entre a molhabilidade medida pelo ângulo de contato de gota com a superfície das membranas com adição de zinco em diferentes concentrações. Pode-se observar na Figura 24 um leve aumento do ângulo de contato nas amostras com adição do ZnO, apesar do aumento em relação a amostra de composição PCL71PEO, o ângulo é inferior ao que é mostrado na Figura 13 para o PCL puro. A amostra Z5 teve um ângulo no instante 3 s muito próximo ao instante 0, ainda assim é uma amostra altamente hidrofílica, com um ângulo próximo a 70° , ou seja, abaixo do limite de 90° e com a gota sendo completamente absorvida logo em seguida, aos 6 s após o contato da gota com a superfície.

Figura 24: Ângulo de contato de gota medido na superfície de membranas com adição de Zinco em diferentes quantidades.



Fonte: Do autor, 2024

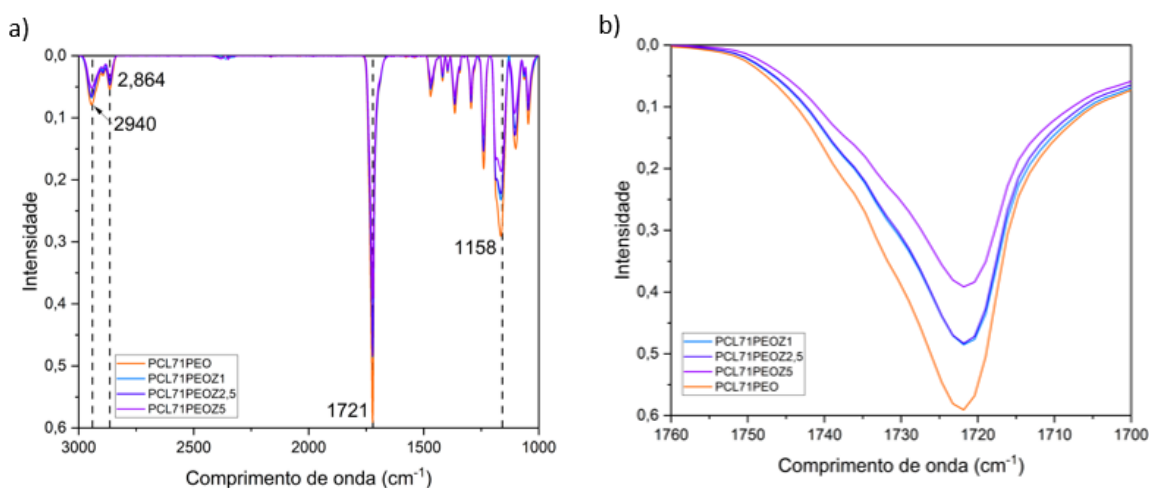
5.2.5 FTIR das membranas contendo Zinco

A análise de FTIR das membranas confirma a ligação das ZnONPs à membrana eletrofiada. A Figura 25 apresenta o espectro das membranas eletrofiadas com zinco em comparação com a membrana sem adição de nanopartículas.

Na Figura 25 b) em detalhe é possível observar uma diminuição na banda localizada em 1720 cm^{-1} , essa banda é característica da ligação da ligação C=O presente no PCL devido à presença da carbonila do grupo éster. Essa banda em 1720 cm^{-1} sofreu uma queda na intensidade com a presença de ZnO, e a diminuição segue com o aumento do percentual de ZnONPs. Segundo Augustine *et al.* (2014) essa diminuição no pico pode estar relacionada a uma ligação de natureza física como uma ligação de Van der Waals do ZnO ao oxigênio da carbonila, dessa forma ocorre um enfraquecimento da ligação que é registrado na forma de uma diminuição no pico de intensidade. Essa interação física é benéfica, pois não apenas reforça a coesão da

membrana, mas também pode introduzir propriedades adicionais ao material, aprimorando suas características para aplicações como curativos funcionais.

Figura 25: FTIR das membranas contendo Zinco. a) FTIR das membranas mostrando os picos característicos do polímero; b) No detalhe pico localizado na faixa dos 1720 cm^{-1} .



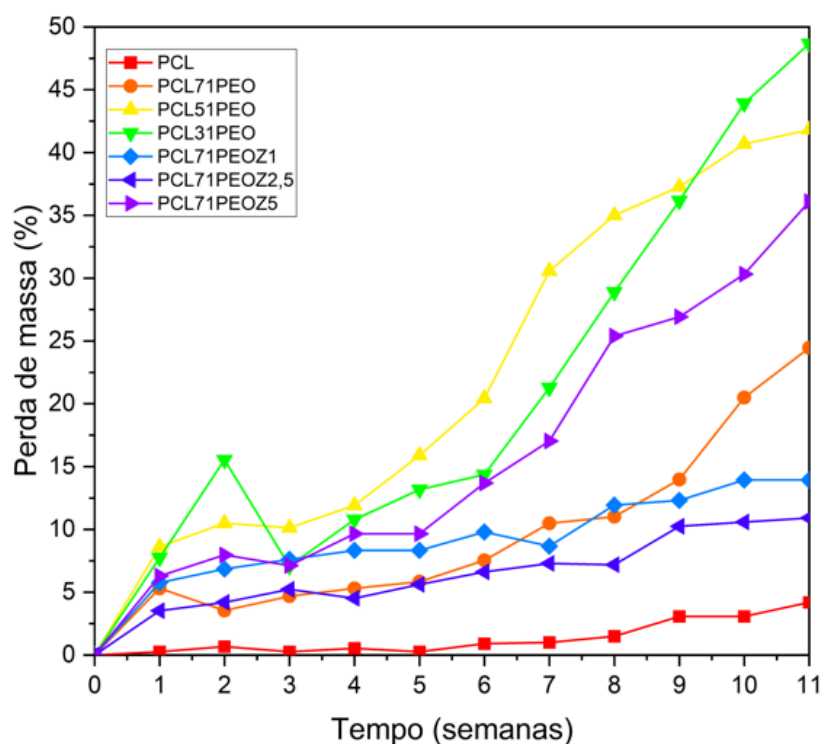
Fonte: Do autor, 2024.

5.2.6 Análise da degradação das membranas eletrofiadas

A verificação da degradação da membrana eletrofiada é importante para entender sua possível aplicação como um curativo funcional, bem como estipular sua vida útil. A Figura 26 apresenta graficamente a degradação das membranas de diferentes composições em termos de perda de massa (%) por semana. Na Figura 26 é possível observar uma tendência no aumento da velocidade de degradação quanto maior o percentual de PEO na formulação, enquanto a amostra de PCL puro foi a que apresentou a menor perda de massa no período, chegando a menos de 5% de perda no período de 11 semanas. Comparando-se as membranas com e sem a adição de ZnO não há uma grande diferença na perda de massa até a 6ª semana nas membranas com ZnO em relação a membrana PCL71PEO, a partir da semana 7 há um aumento na velocidade de degradação da membrana com 5% de ZnO na composição, chegando-se a aproximadamente 36% de perda de massa ao final das 11 semanas, enquanto Avci et al. (2022) encontrou em seu trabalho uma degradação de 4,5% para o PCL puro em 18 semanas de exposição ao PBS, enquanto neste

trabalho 4,17% da massa foi degradada no intervalo de 11 semanas em SBF. Seguindo com a degradação das membranas com PEO na composição, a membrana PCL71PEO que possui 12,5% de PEO na formulação apresentou uma perda de massa equivalente à completa remoção do PEO na 9ª semana de degradação, chegando a 24,4% de perda na semana ao fim do experimento. As membranas com composição PCL51PEO e PCL31PEO que possuem 16,6 e 25% de PEO na composição apresentaram uma degradação mais rápida, com perda de massa equivalente a remoção completa do PEO em 6 e 8 semanas respectivamente.

Figura 26: Degradação das membranas de diferentes composições ao longo do tempo em SBF.



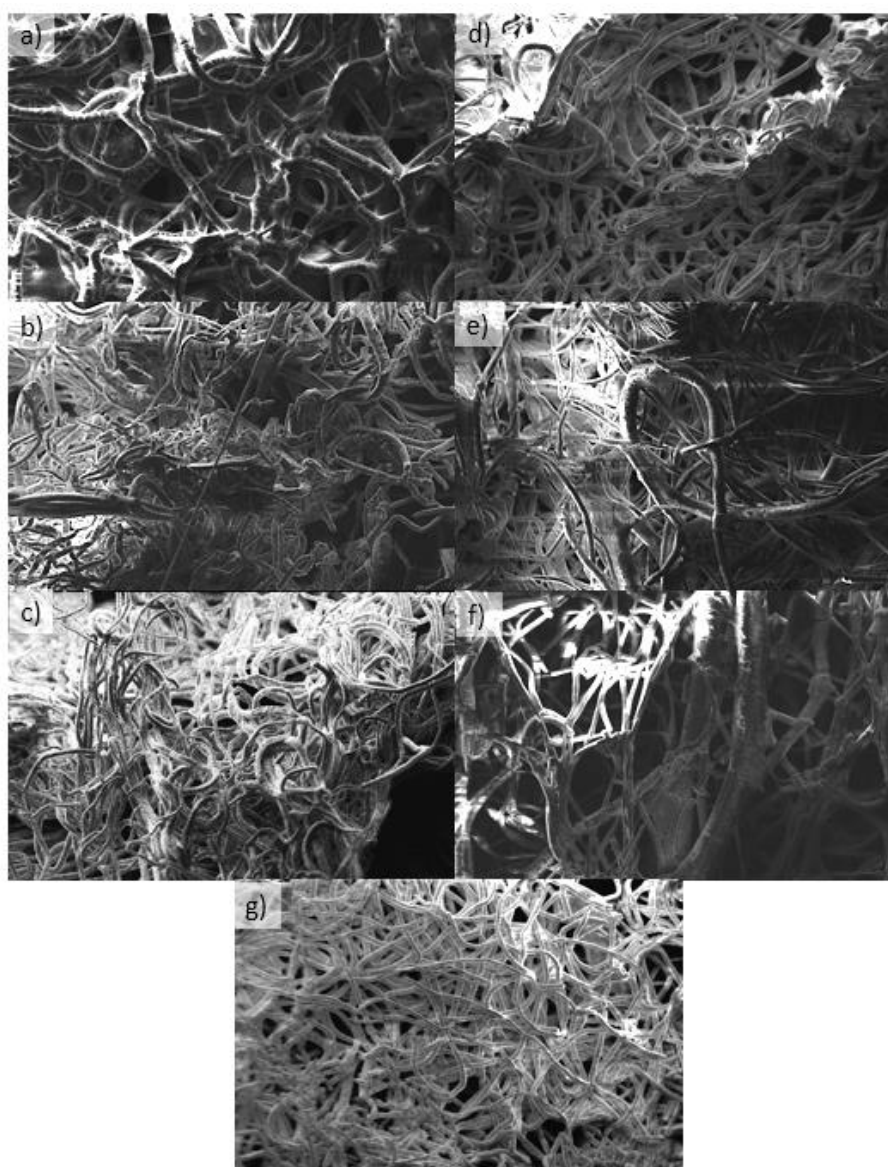
Fonte: Do autor, 2024

A Figura 27 apresenta as micrografias das membranas degradadas após 11 semanas em SBF. Na Figura 27 é possível identificar diversas fibras partidas, além de um empacotamento da membrana, com diversas fibras amontoadas em um espaço com pouca porosidade, visível na Figura 27 b) e d), a membrana de PCL puro, Figura 28 a), foi a que sofreu menos com alterações, com redução do diâmetro médio de fibra de $7,43 \pm 2,49$ para $7,08 \pm 2,15$ μm , com a quebra de fibras mais finas sendo visível. Nas membranas com adição de PEO o impacto foi maior, com uma redução

do diâmetro de fibra de $3,61 \pm 1,10$ para $3,05 \pm 1,00$ μm na membrana de composição PCL71PEO, o que representa uma diminuição de 26%. A membrana com 5% de ZnO apresentou uma diminuição do diâmetro de $4,11 \pm 1,51$ para $2,95 \pm 0,60$ μm , com uma redução de diâmetro de 29%, similar à da membrana PCL71PEO.

Figura 27: Micrografia das membranas degradadas em SBF por 11 semanas.

Imagem de MEV com magnificação de 1000x da membrana a) PCL puro; b) PCL31PEO; c) PCL51PEO; d) PCL71PEO; e) PCL71PEO-Z1; f) PCL71PEO-Z2,5; g) PCL71PEO-Z5.



Fonte: Do autor, 2024.

Em seu estudo Lowery, Datta e Rutledge (2010) encontraram uma remoção de 97% do PEO em membranas de PCL/PEO nos primeiros 3 dias em membranas com

razões de 7:4, 3:8, 2:9 e 1:10, em que as membranas com maior quantidade de PEO demonstraram uma maior deformação da morfologia inicial após a imersão, com fibras de PCL se fusionando e apresentando aspecto de filme na membrana 1:10.

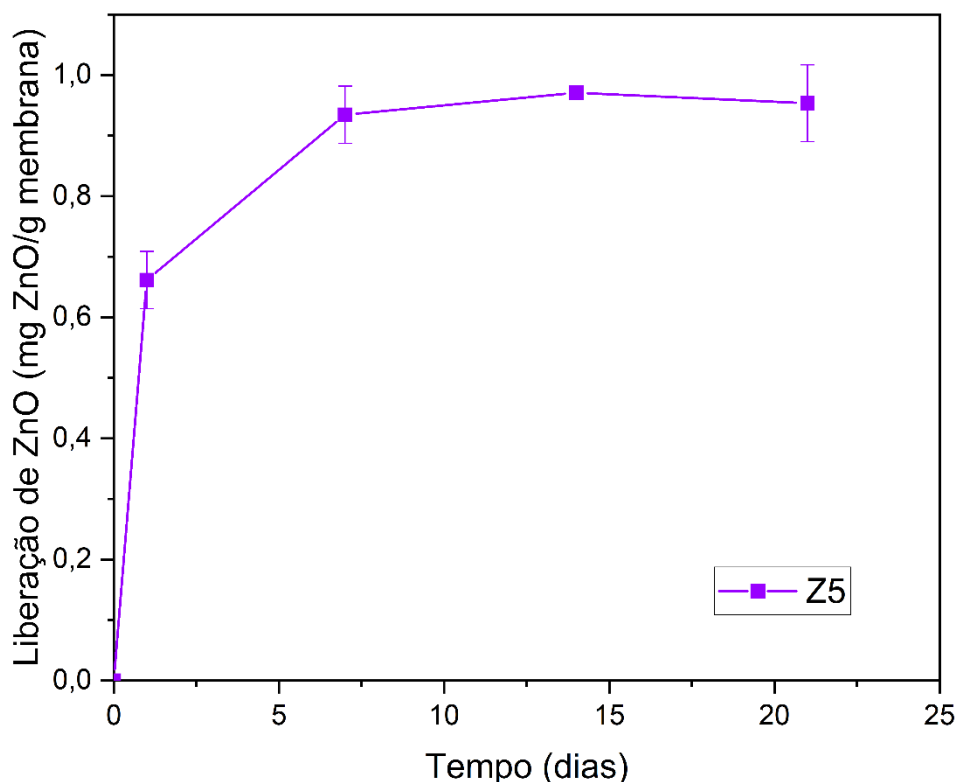
A velocidade menor de liberação do PEO encontrada nesse trabalho é coerente com os menores teores de PEO utilizados na composição em relação ao trabalho de Lowery, Datta e Rutledge (2010), com a membrana contendo mais PCL na composição, uma maior parte do PEO fica encapsulado no interior da fibra, tornando o perfil de degradação da membrana mais próximo àquele do PCL puro.

5.2.7 Análise da Liberação de Zinco.

A análise da liberação do zinco é importante para a comprovação de que as membranas são capazes de atuar como mecanismos de entrega de ativos, liberando-os na região do ferimento para promover o *wound healing* e a ação antimicrobiana em zonas infeccionadas. A Figura 28 mostra o perfil de liberação das ZnONPs em TRIS-HCl para os tempos 1, 7, 14 e 21 d para a membrana que contém 5% de ZnO.

Na Figura 28 é possível observar uma rápida liberação das nanopartículas no primeiro dia de imersão, com liberação de 0,66 mg ZnO/g membrana, aos 7 d a taxa de liberação estabiliza em 0,93 mg ZnO/g membrana e permanece com pouca alteração para os períodos de 14 e 21 d. A membrana com 5% de adição de ZnONPs possui teoricamente 50 mg ZnO/g membrana, dessa forma a liberação de 0,95 mg ZnO/g membrana registrada ao final do experimento corresponde a uma liberação de 1,9% da massa total de zinco.

Figura 28: Liberação de ZnO a partir da membrana contendo 5% de adição de ZnONPs.



Fonte: Do autor, 2024.

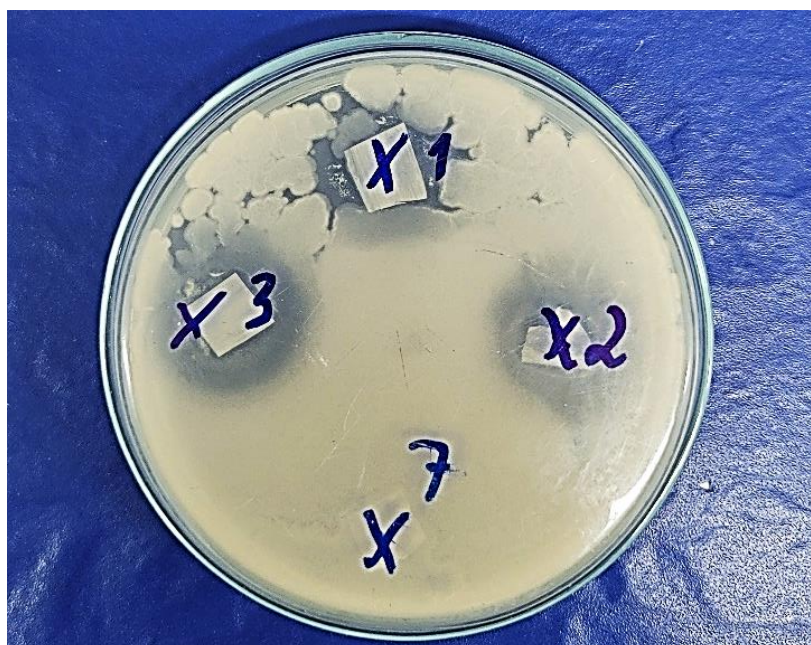
Em seu estudo Prado-Prone *et al.* (2020) encontraram em uma liberação de 35 ppm de Zn para uma membrana de 1 cm² composta por PCL, 30% de gelatina e 6% de ZnO em 1 mL de SBF, com a liberação ocorrendo rapidamente em 1 dia e estagnando no restante do experimento. Essa liberação é aproximadamente duas vezes o encontrado para a membrana PCL71PEO com 5% de adição de zinco ao final do experimento. Isso pode ser decorrente da maior velocidade de degradação da membrana de PCL + gelatina em comparação a membrana PCL71PEO-Z5, enquanto a membrana com 30% de gelatina tem uma perda de massa superior a 25% em 7 dias, a membrana com adição de PEO tem perda de massa de 6,2% no mesmo período. O aumento da liberação de Zn com o aumento da velocidade de degradação pode ser observado no trabalho de Prado-Prone *et al.*, (2020) pela comparação com a membrana de PCL e 45% de gelatina com a mesma quantia de zinco, em que é alcançada uma liberação de cerca de 55 ppm de Zn com uma perda de massa superior a 40% na primeira semana de degradação.

Com base nisso é possível estabelecer a possibilidade de controlar a velocidade de liberação do ativo com base na taxa de degradação da membrana por meio da modificação da composição de PCL e PEO da membrana.

5.2.8 Atividade Antimicrobiana das membranas contendo ZnONPs

A atividade antimicrobiana das membranas eletrofiadas foi avaliada frente a bactéria *Staphylococcus aureus* para comprovação da eficácia do material no combate a infecções em feridas na pele. A atividade antimicrobiana foi testada por meio da técnica de halo de inibição. A Figura 29 mostra uma fotografia da placa de Petri contendo 4 membranas em contato com a cultura bacteriana. Inicialmente observa-se que a amostra indicada como 7 não formou halo de inibição. Esta é a membrana apenas com PCL/PEO. As amostras indicadas como 1, 2 e 3 possuem 1, 2,5 e 5% de ZnO e apresentaram a formação de um halo de inibição.

Figura 29: Halo de inibição formado pela ação antimicrobiana das membranas frente a *Staphylococcus aureus*. Membranas com adição de ZnONPs nas concentrações 1) Z1; 2) Z2,5; 3) Z5; 7) PCL71PEO (sem adição de Zinco)



Fonte: Do autor, 2024.

Observa-se também que o diâmetro do halo é visivelmente maior com o aumento da concentração de ZnO na membrana. O diâmetro do halo formado para cada amostra é indicado na Tabela 9.

Tabela 9: Halo de inibição formado pela ação das membranas contendo ZnONPs.

Amostra	Diâmetro de inibição (mm)
Z1	15,39 ± 3,84
Z2,5	20,65 ± 3,28
Z5	27,51 ± 1,44

Fonte: do autor, 2024.

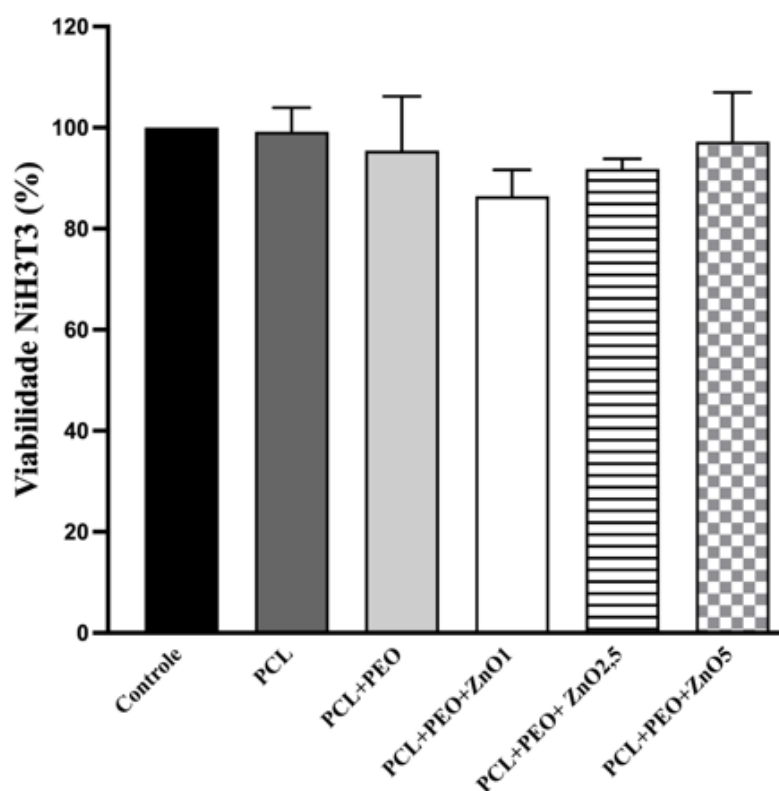
A concentração de zinco na membrana é determinante para a eficácia antimicrobiana. No trabalho de Augustine *et al.* (2014) utilizando membranas eletrofiadas de PCL puro com adição de zinco, o efeito antimicrobiano pode ser observado pela formação de halo de inibição para a bactéria *Staphylococcus aureus*. Nas concentrações 2, 3 e 4% não foi constatado efeito antimicrobiano, com 5 e 6% de zinco um halo de inibição é formado com $9,98 \pm 0,6$ mm e $10,22 \pm 1,30$ mm respectivamente partindo de discos de membrana com 6 mm de diâmetro. Em nosso trabalho o efeito antimicrobiano é obtido mesmo na concentração de 1% de ZnONPs, isso pode estar relacionado com a liberação de zinco maior para a membrana com PEO na composição em relação a membrana de PCL puro utilizado no trabalho de Augustine *et al.* (2014), dessa forma é possível obter o mesmo efeito antimicrobiano com menores concentrações do ativo.

Em comparação com outros ativos as nanopartículas de zinco demonstraram boa capacidade antimicrobiana. No trabalho de Sariipek, Sevgi e Durson, (2022) um halo de inibição indicativo de atividade antimicrobiana é formado frente à mesma bactéria por uma membrana baseada em PCL com GO e Ag como ativos, o halo obtido para uma concentração de 0,7% de GO e 3% de Ag é de $9,2 \pm 0,30$ mm para um disco de 6 mm de membrana, valor proporcionalmente menor do que o que obtivemos para a membrana com 2,5 e 5% de ZnO.

5.2.8 Citotoxicidade

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, no qual as células da linhagem celular imortalizada de fibroblastos murinos NiH3T3 foram incubadas com as membranas (PCL; PCL+PEO; PCL+PEO+ZnO1; PCL+PEO+ ZnO2,5 e PCL+PEO+ZnO5) por 24 h. Os resultados são mostrados na Figura 30.

Figura 30: Viabilidade celular avaliada pelo teste de MTT em linhagem celular NiH3T3. Efeito das membranas (PCL; PCL+PEO; PCL+PEO+ZnO1; PCL+PEO+ ZnO2,5; PCL+PEO+ZnO5) sobre a viabilidade celular em cultura de células imortalizadas de fibroblastos (NiH3T3). Os experimentos foram realizados em triplicata. Dados expressos como média e desvio padrão, considerando $p \leq 0,05$ como significativo (one-way ANOVA).



Fonte: Do autor, 2024.

Os resultados representados na Figura 30, demonstram que todos os materiais testados foram viáveis nas células de NiH3T3, não apresentando citotoxicidade, comprovados por não apresentarem diferença estatística entre a porcentagem de

viabilidade celular dos grupos testes (PCL; PCL+PEO; PCL+PEO+ZnO1; PCL+PEO+ZnO2,5; PCL+PEO+ZnO5) e a porcentagem do grupo controle (100% de células viáveis). Desta forma, nenhuma das membranas avaliadas ocasionou a diminuição da viabilidade celular, ou seja, não apresentou efeito citotóxico após 24 h de incubação nas células NiH3T3. Isso sugere, que as membranas testadas são compatíveis com as células e não causam danos significativos à viabilidade celular após 24 h de incubação.

CONCLUSÃO

Foram produzidas membranas eletrofiadas PCL/PEO carregadas com nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs) com atividade antimicrobiana com sucesso. A incorporação bem sucedida do PEO na matriz polimérica de PCL bem como os estudos sobre os parâmetros de processo da eletrofiação levaram à obtenção de um biomaterial com alto potencial de aplicação como curativo funcional na cicatrização de feridas com características que favorecem a proliferação celular, porosidade de $76,57 \pm 0,70\%$, tamanho de poro de $21,46 \pm 8,19 \mu\text{m}$ e diâmetro de fibra de $2,93 \pm 2,05 \mu\text{m}$ na membrana com 5% de adição de zinco. O material obtido apresentou caráter hidrofílico, com um ângulo de contato de $30,22^\circ$ com 3 s de contato e absorção de exsudatos de 246,7% relativo à massa de membrana, resultado que permite uma vida útil estendida, fornecendo potencial para substituição de curativos tradicionais.

A compreensão da influência dos parâmetros de processo como a tensão, vazão, distância de trabalho e velocidade de rotação permitem a obtenção de membranas de morfologias variadas de acordo com a necessidade, para os fins de aplicação no reparo tecidual a membrana com as características desejadas foi obtida com uma vazão de 0,07 mL/min, tensão 20 kV, distância de trabalho 15 cm, velocidade de translação 15 cm/min e velocidade do coletor 280 rpm. Isso aliado com a compreensão dos efeitos da adição do PEO na matriz de PCL dá a possibilidade de criação de membranas funcionais para entrega de ativos de forma desejada.

A liberação de nanopartículas de ZnO pela membrana foi efetiva e conferiu ao material as propriedades desejadas de atividade antimicrobiana, enquanto não demonstra caráter tóxico para as células, dessa forma o material se coloca como uma importante alternativa a ser estudada como curativo funcional voltado para feridas crônicas e infeccionadas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

As sugestões para trabalhos futuros incluem:

- Estudo cinético completo da perda de massa das membranas e liberação do zinco de acordo com a composição das membranas de PCL/PEO, relacionando com o efeito antimicrobiano das membranas.
- Em relação à morfologia das membranas sugere-se um estudo utilizando maiores velocidades de rotação do coletor, analisando a adesão e a diferenciação celular além da citotoxicidade das membranas com células de fibroblastos dérmicos.
- Análise de propriedades mecânicas das membranas com diferentes morfologias.
- Utilização da matriz obtida de PCL/PEO para entrega de fármacos e outros agentes ativos em forma de nanopartículas como TiO₂, GO, HA, entre outros.
- Estudo da aplicação do material obtido *in vivo*.

REFERÊNCIAS

ABDULHUSSAIN, R.; ADEBISI, A.; CONWAY, B. R.; ASARE-ADDO, K. Electrospun nanofibers: Exploring process parameters, polymer selection, and recent applications in pharmaceuticals and drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 90, p. 105156, dez. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224723010080>>.

ABDULLAH, J. A. A.; JIMÉNEZ-ROSADO, M.; GUERRERO, A.; ROMERO, A. Biopolymer-Based Films Reinforced with Green Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles. **Polymers**, v. 14, n. 23, p. 5202, 29 nov. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4360/14/23/5202>>.

AFSHARIAN, Y. P.; RAHIMNEJAD, M. Bioactive electrospun scaffolds for wound healing applications: A comprehensive review. **Polymer Testing**, v. 93, p. 106952, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142941820321814>>.

AGARWAL, Y.; RAJINIKANTH, P. S.; RANJAN, S.; TIWARI, U.; BALASUBRAMNAIAM, J.; PANDEY, P.; ARYA, D. K.; ANAND, S.; DEEPAK, P. Curcumin loaded polycaprolactone-/polyvinyl alcohol-silk fibroin based electrospun nanofibrous mat for rapid healing of diabetic wound: An in-vitro and in-vivo studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 176, p. 376–386, 15 abr. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813021003019>>.

AHMED, M. K.; MENAZEA, A. A.; ABDELGHANY, A. M. Blend biopolymeric nanofibrous scaffolds of cellulose acetate/ ϵ -polycaprolactone containing metallic nanoparticles prepared by laser ablation for wound disinfection applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, p. 636–644, 15 jul. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813020328488>>.

AHMED, M. K.; ZAYED, M. A.; EL-DEK, S. I.; HADY, M. A.; EL-SHERBINY, D. H.; USKOKOVIĆ, V. Nanofibrous ϵ -polycaprolactone scaffolds containing Ag-doped magnetite nanoparticles: Physicochemical characterization and biological testing for wound dressing applications in vitro and in vivo. **Bioactive Materials**, v. 6, n. 7, p.

2070–2088, 1 jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X20303601>>.

ALY, A. A.; AHMED, M. K. Nanofibers of cellulose acetate containing ZnO nanoparticles/graphene oxide for wound healing applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 598, p. 120325, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517321001290>>.

ARMENTANO, I.; DOTTORI, M.; FORTUNATI, E.; MATTIOLI, S.; KENNY, J. M. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 11, p. 2126–2146, 1 nov. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141391010002430>>. Acesso em: 5 fev. 2024.

AUGUSTINE, R.; DOMINIC, E. A.; REJU, I.; KAIMAL, B.; KALARIKKAL, N.; THOMAS, S. Investigation of angiogenesis and its mechanism using zinc oxide nanoparticle-loaded electrospun tissue engineering scaffolds. **RSC Adv.**, v. 4, n. 93, p. 51528–51536, 26 set. 2014a. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA07361D>>.

AUGUSTINE, R.; MALIK, H. N.; SINGHAL, D. K.; MUKHERJEE, A.; MALAKAR, D.; KALARIKKAL, N.; THOMAS, S. Electrospun polycaprolactone/ZnO nanocomposite membranes as biomaterials with antibacterial and cell adhesion properties. **Journal of Polymer Research**, v. 21, n. 3, p. 347, 13 mar. 2014b. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10965-013-0347-6>>.

AVCI, M. O.; MUZOGLU, N.; YILMAZ, A. E.; YARMAN, B. S. Antibacterial, cytotoxicity and biodegradability studies of polycaprolactone nanofibers holding green synthesized Ag nanoparticles using atropa belladonna extract. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 33, n. 9, p. 1157–1180, 13 jun. 2022. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09205063.2022.2045665>>.

BABAYEVSKA, N.; PRZYSIECKA, Ł.; IATSUNSKYI, I.; NOWACZYK, G.; JAREK, M.; JANISZEWSKA, E.; JURGA, S. ZnO size and shape effect on antibacterial activity and cytotoxicity profile. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 8148, 17 maio 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-022-12134-3>>.

BARLOW, G. Clinical challenges in antimicrobial resistance. **Nature Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 258–260, 20 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41564-018-0121-y>>.

BARTNIKOWSKI, M.; DARGAVILLE, T. R.; IVANOVSKI, S.; HUTMACHER, D. W. Degradation mechanisms of polycaprolactone in the context of chemistry, geometry and environment. **Progress in Polymer Science**, v. 96, p. 1–20, 1 set. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670018303915>>.

BEHERA, S. S.; DAS, U.; KUMAR, A.; BISSOYI, A.; SINGH, A. K. Chitosan/TiO₂ composite membrane improves proliferation and survival of L929 fibroblast cells: Application in wound dressing and skin regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 329–340, 1 maio 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016324965>>.

BERGMEISTER, H.; SCHREIBER, C.; GRASL, C.; WALTER, I.; PLASENZOTTI, R.; STOIBER, M.; BERNHARD, D.; SCHIMA, H. Healing characteristics of electrospun polyurethane grafts with various porosities. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 4, p. 6032–6040, abr. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706112005934>>.

BEYENE, R. T.; DERRYBERRY, S. L.; BARBUL, A. The Effect of Comorbidities on Wound Healing. **Surgical Clinics of North America**, v. 100, n. 4, p. 695–705, 1 ago. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039610920300475>>.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 325–347, maio 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975010000066>>.

BONDARENKO, O.; JUGANSON, K.; IVASK, A.; KASEMETS, K.; MORTIMER, M.; KAHRU, A. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. **Archives of Toxicology**, v. 87, n. 7, p. 1181–1200, 1 jul. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00204-013-1079-4>>.

BORGES, F. A.; DE CAMARGO DRAGO, B.; BAGGIO, L. O.; DE BARROS, N. R.; SANT'ANA PEGORIN BRASIL, G.; SCONTRI, M.; MUSSAGY, C. U.; DA SILVA

RIBEIRO, M. C.; MILORI, D. M. B. P.; DE MORAIS, C. P.; MARANGONI, B. S.; NICOLODELLI, G.; MECWAN, M.; MANDAL, K.; GUERRA, N. B.; MENEGATTI, C. R.; HERCULANO, R. D. Metronidazole-loaded gold nanoparticles in natural rubber latex as a potential wound dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 211, p. 568–579, 30 jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813022009813>>.

BOWLER, P. G. Wound pathophysiology, infection and therapeutic options. **Annals of Medicine**, v. 34, n. 6, p. 419–427, 8 jan. 2002. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/078538902321012360>>.

CHATTERJEE, S.; SAXENA, M.; PADMANABHAN, D.; JAYACHANDRA, M.; PANDYA, H. J. Futuristic medical implants using bioresorbable materials and devices. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 142, p. 111489, 1 out. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566319305688>>.

CHAVEZ-ESQUIVEL, G.; CERVANTES-CUEVAS, H.; YBIETA-OLVERA, L. F.; CASTAÑEDA BRIONES, M. T.; ACOSTA, D.; CABELLO, J. Antimicrobial activity of graphite oxide doped with silver against *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* by agar well diffusion test: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 123, p. 111934, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493121000722>>.

CHEN, K.; HU, H.; ZENG, Y.; PAN, H.; WANG, S.; ZHANG, Y.; SHI, L.; TAN, G.; PAN, W.; LIU, H. **Recent advances in electrospun nanofibers for wound dressing** *European Polymer Journal* Elsevier Ltd, 5 set. 2022.

CHEN, K.; PAN, H.; JI, D.; LI, Y.; DUAN, H.; PAN, W. Curcumin-loaded sandwich-like nanofibrous membrane prepared by electrospinning technology as wound dressing for accelerate wound healing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 127, p. 112245, 1 ago. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493121003854>>.

CHEN, M.; PATRA, P. K.; WARNER, S. B.; BHOWMICK, S.; ENGINEERING, B.; PROGRAM, B. **OPTIMIZATION OF ELECTROSPINNING PROCESS PARAMETERS**

FOR TISSUE ENGINEERING SCAFFOLDS *Biophysical Reviews and Letters*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.worldscientific.com>.

DASH, P. A.; MOHANTY, S.; NAYAK, S. K. **A review on bioactive glass, its modifications and applications in healthcare sectors** *Journal of Non-Crystalline Solids* Elsevier B.V., 15 ago. 2023.

DOSHI, J.; RENEKER, D. H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. **Journal of Electrostatics**, v. 35, n. 2–3, p. 151–160, ago. 1995. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0304388695000418>>.

DWIVEDI, R.; KUMAR, S.; PANDEY, R.; MAHAJAN, A.; NANDANA, D.; KATTI, D. S.; MEHROTRA, D. Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 10, n. 1, p. 381–388, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212426819302544>>.

EKAMBARAM, R.; SUGUMAR, M.; KARUPPASAMY, S.; PRASAD, P.; DHARMALINGAM, S. Fabrication of wheatgrass incorporated PCL/chitosan biomimetic nanoscaffold for skin wound healing: In vitro and In silico analysis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 71, p. 103286, 1 maio 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224722001964>>.

ESKITOROS-TOGAY, Ş. M.; BULBUL, Y. E.; DILSIZ, N. Quercetin-loaded and unloaded electrospun membranes: Synthesis, characterization and in vitro release study. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 47, p. 22–30, 1 out. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224718303009>>.

FALDU, N. **Scholarship at UWindsor Scholarship at UWindsor Electronic Theses and Dissertations Theses, Dissertations, and Major Papers Electrospinning of PEO Nanofibers** *Electrospinning of PEO Nanofibers*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://scholar.uwindsor.ca/etd>>.

FAN, X.; CHEN, K.; HE, X.; LI, N.; HUANG, J.; TANG, K.; LI, Y.; WANG, F. Nano-TiO₂ /collagen-chitosan porous scaffold for wound repairing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 15–22, 1 out. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016305074>>.

FONDER, M. A.; LAZARUS, G. S.; COWAN, D. A.; ARONSON-COOK, B.; KOHLI, A. R.; MAMELAK, A. J. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, n. 2, p. 185–206, fev. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962207015988>>.

FRYKBERG, R. G.; BANKS, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 9, p. 560–582, set. 2015. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/wound.2015.0635>>.

GAJBHIYE, S.; WAIRKAR, S. Collagen fabricated delivery systems for wound healing: A new roadmap. **Biomaterials Advances**, v. 142, p. 213152, 1 nov. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772950822004290>>.

GANTWERKER, E. A.; HOM, D. B. Skin: Histology and Physiology of Wound Healing. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 39, n. 1, p. 85–97, jan. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0094129811001271>>.

GAO, Y.; HAN, Y.; CUI, M.; TEY, H. L.; WANG, L.; XU, C. ZnO nanoparticles as an antimicrobial tissue adhesive for skin wound closure. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 5, n. 23, p. 4535–4541, 2017. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C7TB00664K>>.

GHOBEIRA, R.; ASADIAN, M.; VERCRUYSSSE, C.; DECLERCQ, H.; DE GEYTER, N.; MORENT, R. Wide-ranging diameter scale of random and highly aligned PCL fibers electrospun using controlled working parameters. **Polymer**, v. 157, p. 19–31, 21 nov. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386118309455>>.

GOWDA, B. H. J.; MOHANTO, S.; SINGH, A.; BHUNIA, A.; ABDELGAWAD, M. A.; GHOSH, S.; ANSARI, M. J.; PRAMANIK, S. Nanoparticle-based therapeutic approaches for wound healing: a review of the state-of-the-art. **Materials Today Chemistry**, v. 27, p. 101319, 1 jan. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468519422005481>>.

GUZMAN, M.; FLORES, B.; MALET, L.; GODET, S. Synthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles for Application in the Detection of Fingerprints. **Materials**

Science Forum, v. 916, p. 232–236, 15 mar. 2018. Disponível em: <<https://www.scientific.net/MSF.916.232>>.

HARANDI, F. N.; KHORASANI, A. C.; SHOJAOSADATI, S. A.; HASHEMI-NAJAFABADI, S. Surface modification of electrospun wound dressing material by Fe₂O₃ nanoparticles incorporating Lactobacillus strains for enhanced antimicrobial and antibiofilm activity. **Surfaces and Interfaces**, v. 28, p. 101592, 1 fev. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468023021006647>>.

HAZRATI, R.; DAVARAN, S.; OMIDI, Y. Bioactive functional scaffolds for stem cells delivery in wound healing and skin regeneration. **Reactive and Functional Polymers**, v. 174, p. 105233, 1 maio 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138151482200075X>>.

HERB, M.; SCHRAMM, M. Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 313, 19 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3921/10/2/313>>.

HOSSEINI, S. M.; ABDOUSS, M.; MAZINANI, S.; SOLTANABADI, A.; KALAEI, M. Modified nanofiber containing chitosan and graphene oxide-magnetite nanoparticles as effective materials for smart wound dressing. **Composites Part B: Engineering**, v. 231, p. 109557, 15 fev. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359836821009239>>.

HUANG, J.; HENG, S.; ZHANG, W.; LIU, Y.; XIA, T.; JI, C.; ZHANG, L. Dermal extracellular matrix molecules in skin development, homeostasis, wound regeneration and diseases. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 128, p. 137–144, 1 ago. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084952122000647>>.

HUANG, L.; LI, W.; GUO, M.; HUANG, Z.; CHEN, Y.; DONG, X.; LI, Y.; ZHU, L. Silver doped-silica nanoparticles reinforced poly (ethylene glycol) diacrylate/hyaluronic acid hydrogel dressings for synergistically accelerating bacterial-infected wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 304, p. 120450, 15 mar. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861722013558>>.

HU, W.-W.; LIN, Y.-T. Alginate/polycaprolactone composite fibers as multifunctional wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, v. 289, p. 119440, 1 ago. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861722003459>>.

JIA, X.; HUA, C.; YANG, F.; LI, X.; ZHAO, P.; ZHOU, F.; LU, Y.; LIANG, H.; XING, M.; LYU, G. Hydrophobic aerogel-modified hemostatic gauze with thermal management performance. **Bioactive Materials**, v. 26, p. 142–158, 1 ago. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X23000555>>.

JOHARI, N.; RAFATI, F.; ZOHARI, F.; TABARI, P. G.; SAMADIKUCHAKSARAEI, A. Porous functionally graded scaffolds of poly (ϵ -caprolactone)/ZnO nanocomposite for skin tissue engineering: Morphological, mechanical and biological evaluation. **Materials Chemistry and Physics**, v. 280, p. 125786, 15 mar. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S025405842200092X>>.

KAISER, P.; WÄCHTER, J.; WINDBERGS, M. Therapy of infected wounds: overcoming clinical challenges by advanced drug delivery systems. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 11, n. 4, p. 1545–1567, 20 ago. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s13346-021-00932-7>>.

KALVA, S. N.; AUGUSTINE, R.; AL MAMUN, A.; DALVI, Y. B.; VIJAY, N.; HASAN, A. Active agents loaded extracellular matrix mimetic electrospun membranes for wound healing applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p. 102500, 1 jun. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224721001805>>.

KANTIPUDI, S.; SUNKARA, J. R.; RALLABHANDI, M.; THONANGI, C. V.; CHOLLA, R. D.; KOLLU, P.; PARVATHANENI, M. K.; PAMMI, S. V. N. Enhanced wound healing activity of Ag–ZnO composite NPs in Wistar Albino rats. **IET Nanobiotechnology**, v. 12, n. 4, p. 473–478, 14 jun. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1049/iet-nbt.2017.0087>>.

KARUPPANNAN, S. K.; RAMALINGAM, R.; MOHAMED KHALITH, S. B.; MUSTHAFA, S. A.; DOWLATH, M. J. H.; MUNUSWAMY-RAMANUJAM, G.; ARUNACHALAM, K. D. Copper oxide nanoparticles infused electrospun polycaprolactone/gelatin scaffold as an antibacterial wound dressing. **Materials**

Letters, v. 294, p. 129787, 1 jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X21004833>>.

KAUSHIK, M.; NIRANJAN, R.; THANGAM, R.; MADHAN, B.; PANDIYARASAN, V.; RAMACHANDRAN, C.; OH, D.-H.; VENKATASUBBU, G. D. Investigations on the antimicrobial activity and wound healing potential of ZnO nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 479, p. 1169–1177, 15 jun. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433219305409>>.

KAWATA, K.; OSAWA, M.; OKABE, S. In Vitro Toxicity of Silver Nanoparticles at Noncytotoxic Doses to HepG2 Human Hepatoma Cells. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 15, p. 6046–6051, 1 ago. 2009. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es900754q>>.

KHAN, A. ur R.; HUANG, K.; KHALAJI, M. S.; YU, F.; XIE, X.; ZHU, T.; MORSI, Y.; JINZHONG, Z.; MO, X. Multifunctional bioactive core-shell electrospun membrane capable to terminate inflammatory cycle and promote angiogenesis in diabetic wound. **Bioactive Materials**, v. 6, n. 9, p. 2783–2800, 1 set. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X21000554>>.

LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: a review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 12, p. 3484, 17 nov. 2009. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b820162p>>.

LANGFORD, J. I.; WILSON, A. J. C. Scherrer after sixty years: A survey and some new results in the determination of crystallite size. **Journal of Applied Crystallography**, v. 11, n. 2, p. 102–113, 1 abr. 1978.

LANSDOWN, A. B. G.; MIRASTSCHIJSKI, U.; STUBBS, N.; SCANLON, E.; ÅGREN, M. S. Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects. **Wound Repair and Regeneration**, v. 15, n. 1, p. 2–16, 23 jan. 2007. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1524-475X.2006.00179.x>>.

LEE, H.; YOON, H.; KIM, G. Highly oriented electrospun polycaprolactone micro/nanofibers prepared by a field-controllable electrode and rotating collector. **Applied Physics A**, v. 97, n. 3, p. 559–565, 25 nov. 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00339-009-5371-3>>.

LIANG, Y.; LIANG, Y.; ZHANG, H.; GUO, B. Antibacterial biomaterials for skin wound dressing. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 3, p. 353–384, 1 maio 2022. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1818087622000034>>.

LIU, T.; LU, Y.; ZHAN, R.; QIAN, W.; LUO, G. Nanomaterials and nanomaterials-based drug delivery to promote cutaneous wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 193, p. 114670, 1 fev. 2023. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X22005609>>.

LIU, Y.; LI, T.; HAN, Y.; LI, F.; LIU, Y. Recent development of electrospun wound dressing. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 17, p. 100247, 1 mar. 2021. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468451120300428>>.

LOWERY, J. L.; DATTA, N.; RUTLEDGE, G. C. Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly(ϵ -caprolactone) fibrous mats. **Biomaterials**, v. 31, n. 3, p. 491–504, jan. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961209010242>>.

MAGNANI, F.; MATTEVI, A. Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 59, p. 91–97, 1 dez. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959440X18301805>>.

MA, J.; ZHANG, Q.; HONG, L.; XIE, Y.; YANG, Z.; XU, Y.; WANG, Q.; ZHOU, Y.; YANG, C. Controllable synthesis of ultrasmall copper nanoparticles decorated fullerene composite for antibacterial application and wound healing under visible light. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 654, p. 130097, 5 dez. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775722018520>>.

MENDES, C.; DOS SANTOS HAUPENTHAL, D. P.; ZACCARON, R. P.; DE BEM SILVEIRA, G.; CORRÊA, M. E. A. B.; DE ROCH CASAGRANDE, L.; DE SOUSA MARIANO, S.; DE SOUZA SILVA, J. I.; DE ANDRADE, T. A. M.; FEUSER, P. E.; MACHADO-DE-ÁVILA, R. A.; SILVEIRA, P. C. L. Effects of the Association between Photobiomodulation and Hyaluronic Acid Linked Gold Nanoparticles in Wound

Healing. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 6, n. 9, p. 5132–5144, 14 set. 2020. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.0c00294>>.

MERCANTE, L.; ANDRE, R.; MACEDO, J.; PAVINATTO, A.; CORREA, D. NANOFIBRAS ELETROFIADAS E SUAS APLICAÇÕES: AVANÇOS NA ÚLTIMA DÉCADA. **Química Nova**, v. 44, n. 6, p. 717–736, 2021. Disponível em: <http://quimicanova.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9274&nomeArquivo=RV2020-0388.pdf>.

METCALFE, A. D.; FERGUSON, M. W. J. Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair. **Biomaterials**, v. 28, n. 34, p. 5100–5113, dez. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961207005601>>.

MIGUEL, S. P.; FIGUEIRA, D. R.; SIMÕES, D.; RIBEIRO, M. P.; COUTINHO, P.; FERREIRA, P.; CORREIA, I. J. Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 169, p. 60–71, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777651830287X>>.

MIRHOSSEINI, F.; AMIRI, M.; DANESHKAZEMI, A.; ZANDI, H.; JAVADI, Z. S. Antimicrobial Effect of Different Sizes of Nano Zinc Oxide on Oral Microorganisms. **Frontiers in Dentistry**, v. 16, n. 2, p. 105–112, 17 ago. 2019. Disponível em: <<https://publish.kne-publishing.com/index.php/fid/article/view/1361>>.

MOHAMMED, Y. H.; HOLMES, A.; HARIDASS, I. N.; SANCHEZ, W. Y.; STUDIER, H.; GRICE, J. E.; BENSON, H. A. E.; ROBERTS, M. S. Support for the Safe Use of Zinc Oxide Nanoparticle Sunscreens: Lack of Skin Penetration or Cellular Toxicity after Repeated Application in Volunteers. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 139, n. 2, p. 308–315, 1 fev. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X18326551>>.

MONTGOMERY, D.; RUNGER, G. A review of “ *Applied Statistics and Probability for Engineers* ” Douglas C. Montgomery, George C. Runger, 1994 New York, Chichester, John Wiley and Sons ISBN 0 471 01021 9. **European Journal of Engineering Education**, v. 19, n. 3, p. 383–383, 7 jan. 1994. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03043799408928333>>.

MORETTI, L.; STALFORT, J.; BARKER, T. H.; ABEBAYEHU, D. The interplay of fibroblasts, the extracellular matrix, and inflammation in scar formation. **Journal of**

Biological Chemistry, v. 298, n. 2, p. 101530, 1 fev. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925821013405>>.

MULHOLLAND, E. J. Electrospun Biomaterials in the Treatment and Prevention of Scars in Skin Wound Healing. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, 3 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2020.00481/full>>.

NASERI, E.; AHMADI, A. A review on wound dressings: Antimicrobial agents, biomaterials, fabrication techniques, and stimuli-responsive drug release. **European Polymer Journal**, v. 173, p. 111293, 15 jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001430572200297X>>.

NASERI-NOSAR, M.; FARZAMFAR, S.; SAHRAPEYMA, H.; GHORBANI, S.; BASTAMI, F.; VAEZ, A.; SALEHI, M. Cerium oxide nanoparticle-containing poly (ϵ -caprolactone)/gelatin electrospun film as a potential wound dressing material: In vitro and in vivo evaluation. **Materials Science and Engineering: C**, v. 81, p. 366–372, 1 dez. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493117321598>>.

NIEN, Y.-H.; SHIH, C.-Y.; YANG, C.-Y.; LU, C.-J.; YE, Q.-X. Preparation and characterization of electrospun polycaprolactone/polyethylene oxide membranes. **Journal of Polymer Research**, v. 20, n. 6, p. 166, 16 jun. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10965-013-0166-9>>.

OUYANG, J.; BU, Q.; TAO, N.; CHEN, M.; LIU, H.; ZHOU, J.; LIU, J.; DENG, B.; KONG, N.; ZHANG, X.; CHEN, T.; CAO, Y.; TAO, W. A facile and general method for synthesis of antibiotic-free protein-based hydrogel: Wound dressing for the eradication of drug-resistant bacteria and biofilms. **Bioactive Materials**, v. 18, p. 446–458, 1 dez. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X22001499>>.

OUYANG, J.; LIU, R.-Y.; CHEN, W.; LIU, Z.; XU, Q.; ZENG, K.; DENG, L.; SHEN, L.; LIU, Y.-N. A black phosphorus based synergistic antibacterial platform against drug resistant bacteria. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 39, p. 6302–6310, 21 out. 2018. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C8TB01669K>>.

PAKRAVAN, M.; HEUZEY, M.-C.; AJJI, A. A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. **Polymer**, v. 52, n. 21, p. 4813–4824, 29 set. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386111007026>>.

PATTERSON, A. L. The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination. **Physical Review**, v. 56, n. 10, p. 978–982, 15 nov. 1939. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.56.978>>.

PAUL, S. **Biomedical Engineering and its Applications in Healthcare**. Singapore: Springer Singapore, 2019. 1–738 p.

PENG, W.; LI, D.; DAI, K.; WANG, Y.; SONG, P.; LI, H.; TANG, P.; ZHANG, Z.; LI, Z.; ZHOU, Y.; ZHOU, C. Recent progress of collagen, chitosan, alginate and other hydrogels in skin repair and wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 208, p. 400–408, 31 maio 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813022004524>>.

PHAM, L. Q. MORPHOLOGY PVC NANOFIBER, PRODUCED BY ELECTROSPINNING METHOD. Em: International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM, 6.1., 2019, [...]. International Multidisciplinary Scientific Geoconference, 2019. v. 19, p. 289–295.

PRADO-PRONE, G.; SILVA-BERMUDEZ, P.; BAZZAR, M.; FOCARETE, M. L.; RODIL, S. E.; VIDAL-GUTIÉRREZ, X.; GARCÍA-MACEDO, J. A.; GARCÍA-PÉREZ, V. I.; VELASQUILLO, C.; ALMAGUER-FLORES, A. Antibacterial composite membranes of polycaprolactone/gelatin loaded with zinc oxide nanoparticles for guided tissue regeneration. **Biomedical Materials**, v. 15, n. 3, p. 035006, 4 mar. 2020. Disponível em: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-605X/ab70ef>>.

REITHOFER, M. R.; LAKSHMANAN, A.; PING, A. T. K.; CHIN, J. M.; HAUSER, C. A. E. In situ synthesis of size-controlled, stable silver nanoparticles within ultrashort peptide hydrogels and their anti-bacterial properties. **Biomaterials**, v. 35, n. 26, p. 7535–7542, ago. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961214005158>>.

REZVANI GHOMI, E.; KHOSRAVI, F.; NEISIANY, R. E.; SHAKIBA, M.; ZARE, M.; LAKSHMINARAYANAN, R.; CHELLAPPAN, V.; ABDOUSS, M.; RAMAKRISHNA, S.

Advances in electrospinning of aligned nanofiber scaffolds used for wound dressings. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 22, p. 100393, 1 jun. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468451122000265>>.

RIBEIRO, A. S.; COSTA, S. M.; FERREIRA, D. P.; CALHELHA, R. C.; BARROS, L.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M.; FERREIRA, I. C. F. R.; FANGUEIRO, R. Chitosan/nanocellulose electrospun fibers with enhanced antibacterial and antifungal activity for wound dressing applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 159, p. 104808, 1 fev. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514820311950>>.

RIBEIRO, C.; SENCADAS, V.; COSTA, C. M.; GÓMEZ RIBELLES, J. L.; LANCEROS-MÉNDEZ, S. Tailoring the morphology and crystallinity of poly(L-lactide acid) electrospun membranes. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 12, n. 1, p. 015001, 8 fev. 2011. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1088/1468-6996/12/1/015001>>.

RIETVELD, H. M. The Rietveld method. **Physica Scripta**, v. 89, n. 9, p. 098002, 1 set. 2014.

RODRÍGUEZ-TOBIÁS, H.; MORALES, G.; LEDEZMA, A.; ROMERO, J.; GRANDE, D. Novel antibacterial electrospun mats based on poly(d,l-lactide) nanofibers and zinc oxide nanoparticles. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 24, p. 8373–8385, 22 dez. 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10853-014-8547-y>>.

SARIPEK, F. B.; SEVGI, F.; DURSUN, S. Preparation of poly(ϵ -caprolactone) nanofibrous mats incorporating graphene oxide-silver nanoparticle hybrid composite by electrospinning method for potential antibacterial applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 653, p. 129969, 20 nov. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775722017241>>.

SAVENCU, I.; IURIAN, S.; PORFIRE, A.; BOGDAN, C.; TOMUȚĂ, I. Review of advances in polymeric wound dressing films. **Reactive and Functional Polymers**, v. 168, p. 105059, 1 nov. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514821002510>>.

SCHWARTZ, J. R.; MARSH, R. G.; DRAELOS, Z. D. Zinc and Skin Health. **Dermatologic Surgery**, v. 31, n. s1, p. 837–847, jul. 2005. Disponível em: <<https://journals.lww.com/00042728-200507001-00009>>.

SENCADAS, V.; CORREIA, D. M.; AREIAS, A.; BOTELHO, G.; FONSECA, A. M.; NEVES, I. C.; GOMEZ RIBELLES, J. L.; LANCEROS MENDEZ, S. Determination of the parameters affecting electrospun chitosan fiber size distribution and morphology. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1295–1301, 15 jan. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861711008009>>.

SHAHVERDI, F.; BARATI, A.; SALEHI, E.; ARJOMANDZADEGAN, M. Biaxial electrospun nanofibers based on chitosan-poly (vinyl alcohol) and poly (ϵ -caprolactone) modified with CeAlO₃ nanoparticles as potential wound dressing materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 221, p. 736–750, 30 nov. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813022019894>>.

SHEPA, I.; MUDRA, E.; DUSZA, J. Electrospinning through the prism of time. **Materials Today Chemistry**, v. 21, p. 100543, 1 ago. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468519421001233>>.

SHU, G.; XU, D.; XIE, S.; CHANG, L.-J.; LIU, X.; YANG, J.; LI, Y.; WANG, X. The antioxidant, antibacterial, and infected wound healing effects of ZnO quantum dots-chitosan biocomposite. **Applied Surface Science**, v. 611, p. 155727, 15 fev. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016943322203255X>>.

SILL, T. J.; VON RECUM, H. A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. **Biomaterials**, v. 29, n. 13, p. 1989–2006, maio 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961208000203>>.

SUN, B. K.; SIPRASHVILI, Z.; KHAVARI, P. A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. **Science**, v. 346, n. 6212, p. 941–945, 21 nov. 2014. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1253836>>. Acesso em: 30 jan. 2023.

SZEWCZYK, P. K.; STACHEWICZ, U. The impact of relative humidity on electrospun polymer fibers: From structural changes to fiber morphology. **Advances in Colloid**

and Interface Science, v. 286, p. 102315, 1 dez. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868620305844>>.

TANG; YANG; LIN; CHEN; LU; CHEN; CHENG; YU. Human Adipose-Derived Stem Cell Secreted Extracellular Matrix Incorporated into Electrospun Poly(Lactic-co-Glycolic Acid) Nanofibrous Dressing for Enhancing Wound Healing. **Polymers**, v. 11, n. 10, p. 1609, 3 out. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4360/11/10/1609>>.

TAN, S. M.; TEOH, X. Y.; LE HWANG, J.; KHONG, Z. P.; SEJARE, R.; ALMASHHADANI, A. Q.; ASSI, R. A.; CHAN, S. Y. Electrospinning and its potential in fabricating pharmaceutical dosage form. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 76, p. 103761, 1 out. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224722006724>>.

TRINCA, R. B.; WESTIN, C. B.; DA SILVA, J. A. F.; MORAES, Â. M. Electrospun multilayer chitosan scaffolds as potential wound dressings for skin lesions. **European Polymer Journal**, v. 88, p. 161–170, 1 mar. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305716304888>>.

WANG, C.; CHU, C.; ZHAO, X.; YANG, Y.; HU, C.; LIU, L.; LI, J.; QU, Y.; MAN, Y. The diameter factor of aligned membranes facilitates wound healing by promoting epithelialization in an immune way. **Bioactive Materials**, v. 11, p. 206–217, 1 maio 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X21004400>>.

WANG, G.; YANG, F.; ZHOU, W.; XIAO, N.; LUO, M.; TANG, Z. The initiation of oxidative stress and therapeutic strategies in wound healing. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 157, p. 114004, jan. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332222013932>>.

WANG, W.; UMMARTYOTIN, S.; NARAIN, R. Advances and challenges on hydrogels for wound dressing. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 26, p. 100443, jun. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468451122000769>>.

WANG, Z.; CUI, Y.; WANG, J.; YANG, X.; WU, Y.; WANG, K.; GAO, X.; LI, D.; LI, Y.; ZHENG, X.-L.; ZHU, Y.; KONG, D.; ZHAO, Q. The effect of thick fibers and large pores

of electrospun poly(ϵ -caprolactone) vascular grafts on macrophage polarization and arterial regeneration. **Biomaterials**, v. 35, n. 22, p. 5700–5710, jul. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961214003536>>.

WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, v. 35, n. 10, p. 1217–1256, out. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670010000419>>.

WU, X.; ZHU, H.; XU, Y.; KONG, B.; TAN, Q. Chronic wounds: pathological characteristics and their stem cell-based therapies. **Engineered Regeneration**, v. 4, n. 1, p. 81–94, 1 mar. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666138122000718>>.

XINGDONG ZHANG; DAVID WILLIAMS (ed.). **Definitions of Biomaterials for the twenty-first century**. [s.l.] Elsevier, 2019.

XU, C.; AKAKURU, O. U.; MA, X.; ZHENG, J.; ZHENG, J.; WU, A. Nanoparticle-Based Wound Dressing: Recent Progress in the Detection and Therapy of Bacterial Infections. **Bioconjugate Chemistry**, v. 31, n. 7, p. 1708–1723, 15 jul. 2020. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.bioconjchem.0c00297>>.

XUE, J.; WU, T.; DAI, Y.; XIA, Y. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 8, p. 5298–5415, 24 abr. 2019. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00593>>.

XUE, J.; XIE, J.; LIU, W.; XIA, Y. Electrospun Nanofibers: New Concepts, Materials, and Applications. **Accounts of chemical research**, v. 50, n. 8, p. 1976–1987, 15 ago. 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28777535>>.

YADAV, E.; YADAV, P.; VERMA, A. Amelioration of full thickness dermal wounds by topical application of biofabricated zinc oxide and iron oxide nano-ointment in albino Wistar rats. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, p. 102833, 1 dez. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S177322472100513X>>.

YANG, S.; LEONG, K.-F.; DU, Z. M. E.; CHUA, C.-K. **The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors** **TISSUE ENGINEERING**. [s.l.] Mary Ann Liebert, Inc, 2001. .

YILDIRIMER, L.; THANH, N. T. K.; SEIFALIAN, A. M. Skin regeneration scaffolds: a multimodal bottom-up approach. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 12, p. 638–648, dez. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779912001345>>.

ZHANG, S.; GE, G.; QIN, Y.; LI, W.; DONG, J.; MEI, J.; MA, R.; ZHANG, X.; BAI, J.; ZHU, C.; ZHANG, W.; GENG, D. Recent advances in responsive hydrogels for diabetic wound healing. **Materials Today Bio**, v. 18, p. 100508, 1 fev. 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590006422003064>>.

ZHONG, S. P.; ZHANG, Y. Z.; LIM, C. T. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. **WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 5, p. 510–525, 6 set. 2010. Disponível em: <<https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wnan.100>>.

ZHOU, F.; CUI, C.; SUN, S.; WU, S.; CHEN, S.; MA, J.; LI, C. M. Electrospun ZnO-loaded chitosan/PCL bilayer membranes with spatially designed structure for accelerated wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 282, p. 119131, 15 abr. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861722000352>>.

ZONG, X.; KIM, K.; FANG, D.; RAN, S.; HSIAO, B. S.; CHU, B. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. **Polymer**, v. 43, n. 16, p. 4403–4412, jul. 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386102002756>>.