

INFLUÊNCIA DO TIPO DE NANOTUBO NAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS DE GÉIS DE QUITOSANA/NANOTUBOS DE CARBONO

Marilia M. Horn^{1,2}, Murilo A. Vigliato², Virginia C. A. Martins², Ana M. de Guzzi Plepis^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação Interunidades Bioengenharia, EESC/FMRP/IQSC
Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, Brasil

² Instituto de Química de São Carlos – USP, São Carlos, Brasil
e-mail: mariliahorn@gmail.com

Resumo: Os materiais preparados pela combinação de quitosana e nanotubos de carbono tem aplicação promissora na área de regeneração tecidual. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de dois diferentes tipos de nanotubos nas propriedades reológicas de géis de quitosana/nanotubos de carbono. A adição dos nanotubos provocou uma mudança no tipo de rede tridimensional formada com a quitosana, já que géis com características mais elásticas foram obtidos, uma vez que G' é maior que G'' na faixa de frequência estudada. Além disso, tendem a diminuir o valor de ponto de gel como observado pelos ensaios de temperatura. Os ensaios de creep indicaram que a adição dos nanotubos aumentou os valores de porcentagem de recuperação nos géis, o que confirmou que géis mais elásticos são obtidos. Além disso, foi observado um aumento em cerca de 30 vezes nos valores de viscosidade dos géis com a adição dos nanotubos de carbono, indicando que estes géis mostraram uma resistência ao fluxo maior do que o observado para o gel preparado somente de quitosana.

Palavras-chave: quitosana, nanotubos de carbono, reologia.

Abstract: Chitosan/carbon nanotubes associations can be used in tissue regeneration. The objective of this study was to evaluate the effect of two carbon nanotube types in rheological properties of chitosan/ carbon nanotubes gels. Frequency measurements indicated that carbon nanotubes influenced the modulus behavior and gels with more elastic characteristic were obtained, since G' is higher than G'' in the frequency range studied. Also, gel point determined by temperature measurements had a tendency to decrease when carbon nanotubes were added. Creep tests indicated that carbon nanotubes addition increased the recovery percentage values, confirming that more elastic gels were obtained. Also, an increase around 30 times in viscosity values was observed with the addition of carbon nanotubes, indicating that these gels have high flow resistance in comparison with gels composed only by chitosan.

Keywords: chitosan, carbon nanotubes, rheology.

Introdução

Durante o processo de preparação de materiais para uso na área de regeneração tecidual, deve-se levar em

conta tanto fatores como a biocompatibilidade, propriedades mecânicas, morfologia, porosidade como também a capacidade da utilização deste material para o objetivo proposto [1]. Os principais requisitos são que os materiais não devem induzir resposta aguda ou crônica, serem bioreabsorvíveis e também que tenham propriedades de superfície que permitam o crescimento e proliferação de células. Além disso, materiais que tenham fácil manuseio e que possam ser preparados em várias formas são bastante promissores.

Um polímero natural que reúne estas propriedades citadas anteriormente é a quitosana, que pode substituir tecidos perdidos ou danificados e também permite a fixação e proliferação de células [2]. A quitosana pode ser preparada na forma de géis, soluções, esponjas, filmes, compósitos, entre outros, o que permite sua utilização para a área de engenharia de tecido, e é um polissacarídeo obtido pela desacetilação parcial da quitina [3].

Entretanto, materiais obtidos somente com quitosana possuem limitações, como alta solubilidade e baixas propriedades mecânicas [4]. Assim, a inserção dos nanotubos de carbonos (NC), possibilita obter materiais mais resistentes mecanicamente em comparação aos materiais preparados somente com quitosana. Também adiciona aos materiais formados propriedades elétricas dos nanotubos [5]. Comparado as características dos NC com outros polímeros, a alta força de tensão, excelente flexibilidade e a baixa densidade fazem com que sejam ideais para a produção de materiais leves, mas com alta resistência mecânica [4].

Os materiais preparados pela combinação de quitosana e nanotubos de carbono tem aplicação promissora na área de regeneração tecidual [6], pois podem ser utilizados como sistemas de liberação de fármacos e como suportes para crescimento celular. Neste trabalho, dois tipos de nanotubos foram utilizados para verificar se ocorrem mudanças nas interações com a quitosana, o que vai implicar em diferentes propriedades nos materiais preparados posteriormente, como filmes, membranas ou scaffolds.

Materiais e métodos

Obtenção da quitosana – A partir de gládios de lula da espécie *Loligo sp*, por processos de desmineralização, desproteínização e desacetilação foi obtida a quitosana conforme descrito anteriormente [7]. A quitosana

apresentou as seguintes características: DA 9% e massa molecular de $4,37 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$, determinadas por titulação condutimétrica e viscosimetria.

Funcionalização da parede do nanotubo – Os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWNC) e de parede simples (SWNC) foram fornecidos por Sigma-Aldrich e a superfície foi funcionalizada usando uma mistura 1:2 (v/v) de ácido sulfúrico (98%) e de ácido nítrico (65%), como descrito em literatura [8]. A funcionalização da superfície (Figura 1) permite a formação de grupos carboxílicos na superfície dos nanotubos de carbono (NC).

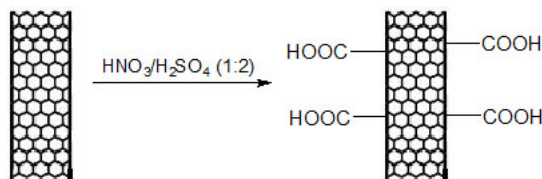


Figura 1: Funcionalização da parede dos nanotubos de carbono.

Preparação dos géis – Uma solução de quitosana com concentração 1% (massa/massa) foi preparada pela dissolução em ácido acético 1% e agitado durante 12 horas até formar uma solução homogênea. Depois disso, 1,0 mg de MWNC ou SWNC funcionalizados foram adicionados sob agitação mecânica, seguido por homogeneização num banho de ultra-sons (Unico USC 1400 A) durante 60 min. A sonicação de alta energia do nanotubo de carbono é normalmente necessária para produzir suspensões uniformemente dispersas. Ao final, a solução foi imediatamente caracterizada por reologia. Os géis foram denominados QMW (nanotubos de carbono de paredes múltiplas) ou QSW (nanotubos de carbono de parede simples). Um gel de quitosana (QUI) foi também caracterizado para poder verificar o efeito da adição dos nanotubos nos géis.

Caracterização reológica – Os ensaios de reologia oscilatória foram feitos em um reômetro AR – 1000N de deformação controlada da TA Instruments, com geometria cone placa aço inoxidável de 20mm e 2° e *gap* de 69 μm . O sistema foi termostatizado por um banho circulatório modelo FS18 da Julabo com uma variação de temperatura de $0,1^\circ\text{C}$. Os ensaios de oscilação foram feitos a 25°C , frequência de 1,0 Hz e uma variação na tensão de oscilação de 0,05 a 300 Pa, para determinação da região viscoelástica. Os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') e a viscosidade complexa (η^*) foram obtidos em função da temperatura ou frequência angular na região viscoelástica. Os ensaios de varredura de temperatura foram feitos de 20 a 75°C a uma frequência constante de 1,0 Hz, deformação de 1,0% e uma razão de aquecimento de 5°C min^{-1} , sendo os géis previamente estabilizados a temperatura inicial (20°C). Os ensaios de varredura de frequência foram feitos de 0,05 a 300 rad s^{-1} com deformação de 1,0%. Os ensaios de creep foram feitos utilizando uma taxa de cisalhamento de 0,1 a 1000 s^{-1} a

25°C . As curvas de creep foram obtidas pela aplicação de 3 valores de tensão (3, 5 e 10 Pa) a 25°C durante um período de 100 s e posterior remoção da força para determinar a recuperação dos géis.

Resultados e Discussão

Inicialmente foi feita a determinação da região viscoelástica através da varredura dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da oscilação de tensão para os géis (Figura 2), sendo escolhido o valor de deformação de 1% que foi utilizado para todas as outras medidas.

Dentro da faixa de tensão estudada, podemos perceber que o gel QUI possui valores de G' e G'' menores em comparação aos géis contendo os nanotubos de carbono. Além disso, uma mudança no comportamento reológico dos géis é observada com a adição dos nanotubos, pois estes têm G' maior do que G'' até 50 Pa, que indica um comportamento mais elástico do que viscoso. Também se observa que o gel QMW tem maiores valores dos módulos em comparação a QSW, o que pode estar relacionado a composição de parede múltipla dos nanotubos.

A diferença na composição dos NC está relacionada à quantidade de paredes na sua estrutura, o que pode influenciar a quantidade de grupos carboxílicos que são adicionados. Assim, dependendo da quantidade de grupos carboxílicos inseridos, a interação com a quitosana vai ser diferente, fazendo com que diferentes curvas sejam obtidas.

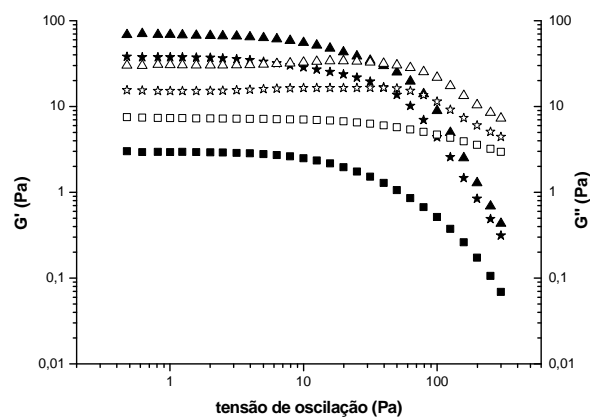


Figura 2. Módulos G' e G'' em função da tensão de oscilação. QUI —■— G' , —□— G'' ; QMW —▲— G' , —△— G'' ; QSW —★— G' , —☆— G'' .

A Figura 3 mostra as curvas dos módulos G' e G'' em função da temperatura para os géis de quitosana e quitosana/NC a uma frequência constante de 1,0 Hz, deformação de 1,0% e uma razão de aquecimento de 5°C min^{-1} , em uma faixa de temperatura de 20 a 75°C .

As curvas mostram que para QUI ocorre o ponto de gel ($G' = G''$) em cerca de 59°C . Antes do ponto de gel, a amostra apresenta um comportamento mais viscoso, mas a partir desta temperatura ocorre uma mudança na estrutura do gel, mostrando que um gel com característica elástica foi formada.

A adição dos NC tanto de parede simples quanto de parede múltipla provoca uma mudança nas características dos géis, pois, estes apresentaram valores de G' maior do que G'' dentro de toda a faixa de temperatura estudada. Provavelmente, o ponto de gel em QMW e QSW ocorre antes de 20°C , o que indica que a adição dos nanotubos tende a diminuir o ponto de gel.

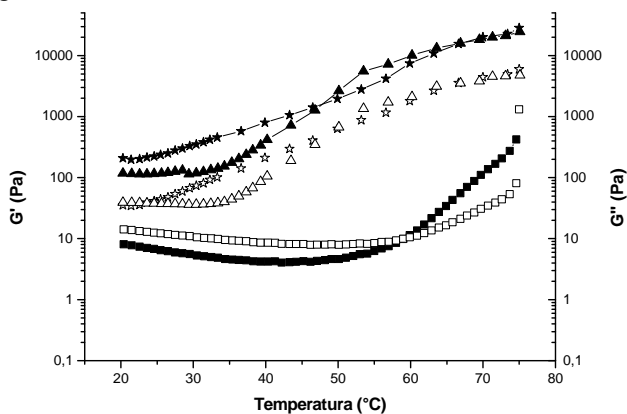


Figura 3. Módulos G' e G'' em função da temperatura. QUI —■— G' , —□— G'' ; QMW —▲— G' , —△— G'' ; QSW —*— G' , —☆— G'' .

As curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento são mostradas na Figura 4. A diminuição dos valores de viscosidade em função da taxa de cisalhamento indica que os géis têm um comportamento *shear thinning* ou pseudoplástico.

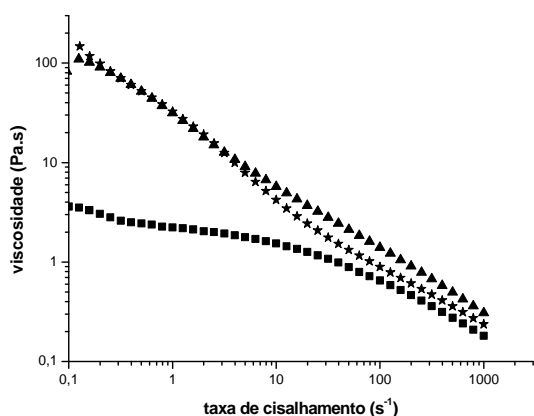


Figura 4. Curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento. QUI —■— G' ; QMW —▲—; QSW —*—.

Além disso, é observado um aumento de η_0 com a adição dos nanotubos, pois QUI tem um valor de η_0 de $3,5 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ enquanto que para QMW o valor encontrado foi de $100 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ e para QSW foi de $150 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Este resultado indica que os géis QMW e QSW mostram uma resistência ao fluxo maior do que o observado para o gel QUI indicando um aumento na força do gel com a adição dos nanotubos de carbono. Dentro da faixa de cisalhamento estudada, não ocorrem mudanças nos

valores de viscosidade em função do tipo de nanotubo utilizado, já que as curvas dos géis QMW e QSW possuem valores muito próximos ou até iguais em algumas faixas de taxa de cisalhamento.

A Figura 5 mostra os resultados obtidos para os ensaios de frequência, em que os géis quitosana e quitosana/nanotubos de carbono têm caráter predominantemente elástico, ou seja, $G' > G''$. A adição dos nanotubos aumenta os valores dos módulos G' e G'' devido a uma maior solvatação fazendo com que a estrutura de gel formada tenha uma menor flexibilidade ou mobilidade (longo tempo de relaxação) e o gel tenha um comportamento de um sólido.

O gel QSW possui um valor de G' maior que os outros em praticamente toda a faixa de frequência estudada. Uma vez que a força do gel está diretamente relacionada ao valor do módulo elástico [9], podemos dizer que o gel preparado com nanotubos de parede simples é mais forte que aquele preparado com nanotubos de parede múltipla. Comparando os valores de G' na frequência de 1 rad s^{-1} , observa-se que para QUI o valor de G' é de $0,6 \text{ Pa}$ e a adição provoca um aumento para $55,4 \text{ Pa}$ (QMW) e para 200 Pa (QSW). Isso indica que a adição de nanotubos provoca um aumento na força do gel.

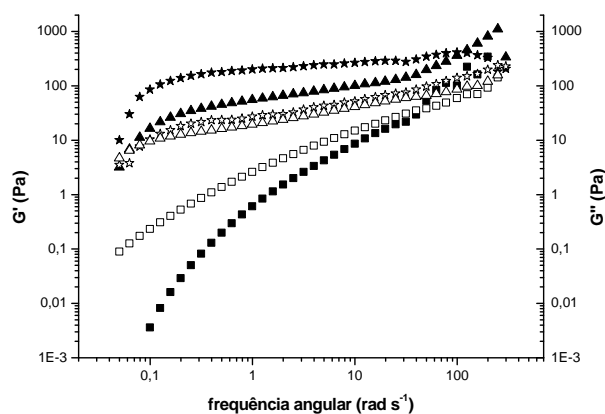


Figura 5. Módulos G' e G'' em função da frequência angular. QUI —■— G' , —□— G'' ; QMW —▲— G' , —△— G'' ; QSW —*— G' , —☆— G'' .

As curvas obtidas pelos ensaios de creep (fluência) são divididas em duas fases: deformação e recuperação. Após uma fase de deformação, com a aplicação de uma força constante, esta é removida e uma fase de recuperação é observada. A Figura 6 mostra as curvas de deformação em função do tempo para o ensaio de fluência do gel QUI, sendo aplicadas 3 diferentes tensões.

Pelas curvas obtidas podemos concluir que para o gel de quitosana, nas condições experimentais utilizadas o gel não apresenta recuperação após a retirada da tensão no tempo de 100 s .

Entretanto, para as curvas de fluência para os géis QMW e QSW observa-se que a adição dos nanotubos modifica a estrutura dos géis formados, pois nestes

casos, o processo de recuperação ocorre como exemplificado para o gel QSW na Figura 7.

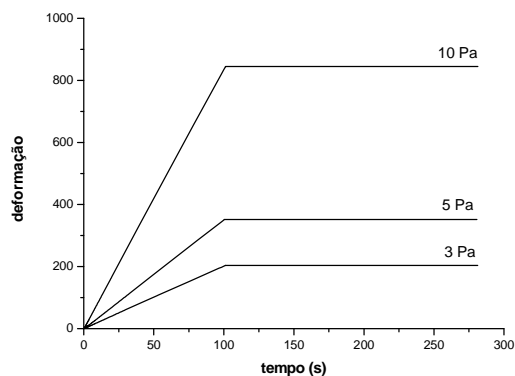


Figura 6. Deformação em função do tempo para o gel QUI em três diferentes valores de tensão.

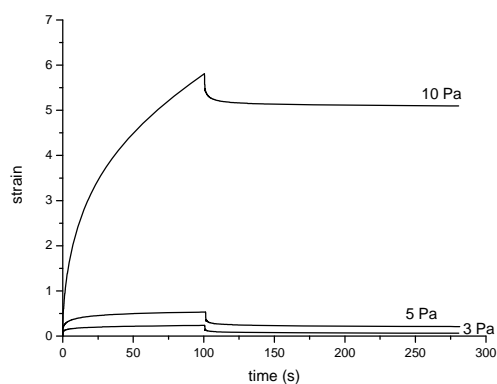


Figura 7. Deformação em função do tempo para o gel QSW em três diferentes valores de tensão.

A % de recuperação pode ser calculada pela Equação 1, em que J_m é a máxima compliância, medida imediatamente antes de a tensão ser removida que neste caso é em 100 s e J_i é a compliância irreversível, sendo o valor obtido no fim do ensaio.

$$\left(\frac{J_m - J_i}{J_m} \right) * 100 \quad (1)$$

Os valores de recuperação para os géis QSW e QMW nas diferentes tensões aplicadas estão listados na Tabela 1.

Tabela 1: % de recuperação para os géis QSW, QMW e QUI.

Gel	% recuperação		
	3 Pa	5 Pa	10 Pa
QSW	70,3	60,0	12,2
QMW	52,2	29,0	10,7
QUI	0	0	0

O gel preparado com nanotubos de parede múltipla tem valores de recuperação menor para valores de tensão de 3 e 5 Pa do que aqueles calculados para o gel

QSW. Isso deve estar relacionado a formação de uma estrutura de gel diferente com a quitosana em função da parede do nanotubo. Quando o valor de tensão de 10 Pa é utilizado, os valores são próximos, indicando que altos valores de tensão atuam da mesma forma na deformação dos géis.

Conclusão

A adição dos nanotubos de carbono na mistura de géis de quitosana/nanotubos altera as propriedades reológicas, tornando os géis com característica mais elástica. Esta formação de uma estrutura mais elástica que viscosa é confirmada pelos resultados de frequência e temperatura, pois para os géis QSW e QMW, os valores de G' foram maiores que G'' . Além disso, os valores de viscosidade aumentam com a adição dos nanotubos, bem como os valores de recuperação nos ensaios de fluência.

Agradecimentos

Ao PNP/Capes pela bolsa concedida (M.M.H.).

Referências

- [1] Bae MS, Yang DH, Lee JB, Heo DN, Kwon YD, Youn IC, Choi K, Hong JH, Kim GT, Choi YS, Hwang EH, Kwon IK. Photo-cured hyaluronic acid-based hydrogels containing simvastatin as a bone tissue regeneration scaffold. *Biomaterials*, 2011; 32: 8161-8171.
- [2] Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 2011; 36:981-1014.
- [3] Croisier F, Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 2013; 49: 780-792.
- [4] Venkatesan J, Kim SK. Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering—An Overview. *Marine Drugs*, 2010; 8: 2252-2266.
- [5] Beg S, Rizwan M, Sheikh AM, Hasnain MS, Anwer K, Kohli K. Advancement in carbon nanotubes: basics, biomedical applications and toxicity. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 2011; 63: 141-163.
- [6] Venkatesan J, Ryu B, Sudha P N, Kim S K. Preparation and characterization of chitosan-carbon nanotube scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012; 50: 393-402.
- [7] Horn MM, Martins VCA, Plepis AMG. Interaction of anionic collagen with chitosan: Effect on thermal and morphological characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 2009; 77: 239-243.
- [8] Wang SF, Shen L, Zhang WD, Tong YJ. Preparation and mechanical properties of chitosan/carbon nanotubes composites. *Biomacromolecules*, 2005; 6: 3067-3072.
- [9] Deng G, Tang C, Li F, Jiang H, Chen Y. Covalent Cross-Linked Polymer Gels with Reversible Sol-Gel Transition and Self-Healing Properties. *Macromolecules*, 2010; 43: 1191-1194.