

Hidrogéis Semi-IPN Baseados em Rede de Alginato-Ca²⁺ com PNIPAAm Entrelaçado: Propriedades Hidrofílicas, Morfológicas e Mecânicas

Márcia R. de Moura, Adley F. Rubira, Edvani C. Muniz
Departamento de Química, UEM

Resumo: Neste trabalho, a termossensibilidade dos hidrogéis do tipo semi-IPN baseados em rede de alginato-Ca²⁺ com poli(*N*-isopropil acrilamida) (PNIPAAm) entrelaçado, com diferentes teores de alginato e de PNIPAAm, foi caracterizada por meio de medidas de grau de intumescimento (*Q*), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e propriedades mecânicas [tensão máxima de compressão (σ), densidade aparente de reticulação (v_c) e módulo de elasticidade (*E*)]. Os valores de *Q* variam inversamente com v_c . Para o parâmetro v_c contribuem as concentrações de retículos alginato-Ca²⁺ e de cadeias de PNIPAAm. Hidrogéis com maiores valores de *Q* possuem maiores poros. Resultados de propriedades mecânicas demonstraram que hidrogéis com maior v_c apresentam maior rigidez e resistência à compressão, sendo este efeito mais intenso acima da LCST do PNIPAAm. O controle dessas propriedades nesses hidrogéis termos-sensíveis torna esses materiais potencialmente viáveis para aplicação em sistemas carreadores para liberação controlada e/ou prolongada de fármacos e substratos para crescimento e cultura de célula.

Palavras-chave: Hidrogéis, alginato, PNIPAAm, LCST, propriedades mecânicas.

Semi-IPN Hydrogels Based on Alginate-Ca²⁺ Network and PNIPAAm: Hydrophilic, Morphological and Mechanical Properties

Abstract: In this study, the thermosensitivity of semi-IPN hydrogels based on alginate-Ca²⁺ network and having PNIPAAm entangled was characterized by swelling degree (*Q*), scanning electron microscopy (SEM) and mechanical properties [compressive stress (σ), apparent cross-linking density (v_c) and modulus of elasticity (*E*)]. The *Q* values change inversely to the v_c ones. The concentrations of the alginate-Ca²⁺ cross-linking and of the PNIPAAm chains contribute to the v_c parameter. Higher values of *Q* correlate to larger pores size in the hydrogel. Hydrogels richer in alginate and PNIPAAm were more rigid, highly resistant to deformation because of their higher compressive modulus of elasticity. This is more intense at temperatures above the LCST of PNIPAAm in water (32-35 °C). The control of thermosensitive properties by tailoring the alginate-Ca²⁺/PNIPAAm ratio and temperature allows the hydrogels studied in this paper to be applied as drug delivery devices and/or as substrate for cell growth.

Keywords: Hydrogels, alginate, PNIPAAm, LCST, mechanical properties.

Introdução

Estruturalmente, os hidrogéis são constituídos por uma ou mais redes poliméricas tridimensionais, formadas por cadeias macromoleculares interligadas^[1,2]. Os hidrogéis caracterizam-se por apresentar forte afinidade pela água devido à presença de grupos hidrofílicos, tais como: -OH, -COOH, -CONH₂, -SO₃H, entre outros.

Os hidrogéis podem ser formados por polímeros naturais^[3-5] tais como ácido hialurônico, alginato, quitosana; por polímeros naturais modificados^[6], por exemplo dextrana reticulada, galactomanana metacrilatada; e por polímeros sintéticos^[7] tais como poli(acrilamida) (PAAm), poli(hidroxietil metacrílico) (HEMA), poli(*N*-isopropil acrilamida) (PNIPAAm), entre outros. Os hidrogéis podem ser classificados como neutro ou iônico, dependendo da natureza dos grupos lateralmente ligados às cadeias poliméricas. A rede pode ser formada por homopolímeros ou copolíme-

ros. Os hidrogéis podem ser ambientes responsivos, ou seja, podem variar seu volume por alteração do pH, força iônica e temperatura do meio externo de intumescimento^[8,9].

Os hidrogéis, em geral, apresentam propriedades mecânicas pobres, quando comparados aos demais materiais poliméricos^[10]. Porém, é possível a obtenção de hidrogéis com boas propriedades mecânicas a partir da formação de redes interpenetrantes (IPN) ou redes semi- interpenetrantes (semi – IPN)^[11,12]. Um hidrogel do tipo rede semi-IPN pode ser formado pela combinação de dois polímeros diferentes, um na forma reticulada e outro na forma linear.

O *N*-isopropil acrilamida (NIPAAm) é um monômero que ao ser polimerizado forma o PNIPAAm, um polímero não tóxico e hidrofílico a baixas temperaturas. O PNIPAAm apresenta, em água, diagrama de fase tipo LCST (do inglês Lower Critical Solution Temperature) cuja temperatura consoluta inferior é de cerca de 32 °C^[13,14]. Ou seja, a separação

de fases situa-se entre 32-35 °C. Nessa transição, a estrutura hidrofílica do PNIPAAm passa para uma estrutura hidrofóbica, tornando-se um material insolúvel em água^[15-17].

Neste trabalho foram sintetizados hidrogéis termo-sensíveis baseados em rede de alginato-Ca²⁺ e tendo o PNIPAAm entrelaçado. O controle da hidrofiliabilidade dos hidrogéis por ajuste da razão alginato-Ca²⁺/PNIPAAm e da temperatura tornam os materiais extremamente atrativos para aplicação em sistemas carreadores para liberação controlada e/ou prolongada de fármacos e substratos para crescimento e cultura de célula.

Experimental

Síntese do PNIPAAm

Inicialmente, o monômero NIPAAm (Aldrich) foi recristalizado em hexano (Sigma). Em um béquer contendo 100 mL de água destilada/deionizada foram adicionados 44,2 mmols de NIPAAm e 0,4 g de persulfato de sódio (Aldrich), utilizado como iniciador. Esta mistura permaneceu sob agitação até a completa dissolução. Em seguida, a solução foi desoxigenada borbulhando N₂ por 30 minutos. Após, foi adicionado 0,7 mL de tetrametiletilenodiamina (TEMED 0,57 mmol/mL, Aldrich), utilizado como catalisador. O frasco foi fechado e permaneceu sob agitação por mais 24 horas, a temperatura ambiente. O PNIPAAm assim obtido foi purificado por precipitação em água, a 60 °C.

Preparação dos hidrogéis tipo semi-IPN

Em um béquer, contendo solução aquosa de PNIPAAm, foi adicionado alginato de sódio (AS) (M_v = 1,3 x 10⁶ g.mol⁻¹, Aldrich) até atingir a concentração de 1 ou de 2% (m/v). Após a dissolução do alginato, a solução foi transferida para uma placa de vidro quadrada (12 x 12 cm) com bordas de borracha de 1,5 cm de largura e com espessura de aproximadamente 0,3 cm. O sistema (placa + solução polimérica) foi imerso em solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) (Synth-Brasil), sendo a concentração de Ca²⁺ mantida em 1% (m/v). Desta forma ocorre reticulação do alginato, formando a rede

Tabela 1. Concentrações de alginato de sódio (A), cloreto de cálcio (C) e PNIPAAm (P) utilizadas nas diferentes formulações designadas como (A-C-P).

Hidrogéis	Alginato (x10 ⁻⁹ mol mL ⁻¹)	Cloreto de cálcio (μmol mL ⁻¹)	PNIPAAm (mmol mL ⁻¹)
(1-1-0)	7,7	90,1	0
(1-1-1,3)	7,7	90,1	220,9
(1-1-2,5)	7,7	90,1	441,8
(1-1-5,0)	7,7	90,1	883,7
(2-1-0)	15,4	90,1	0
(2-1-1,3)	15,4	90,1	220,9
(2-1-2,5)	15,4	90,1	441,8
(2-1-5,0)	15,4	90,1	883,7

alginato-Ca²⁺. Após 24 horas a membrana formada foi transferida para um béquer contendo 500 mL de água destilada/deionizada, para remover o excesso de íons Ca²⁺. A membrana permaneceu imersa por 24 horas à temperatura ambiente. A notação (A-C-P) foi utilizada para identificar os hidrogéis de alginato-Ca²⁺ contendo PNIPAAm sendo A, C e P as concentrações nominais (em % m/v) de AS, CaCl₂ e PNIPAAm, respectivamente. Na Tabela 1 são apresentados os valores de AS, CaCl₂ e PNIPAAm utilizados nas diversas formulações preparadas neste estudo.

Medidas de grau de intumescimento (Q)

Para medir o grau de intumescimento (Q), cada hidrogel foi colocado em contato com água e deixado intumescer até equilíbrio, nas temperaturas de 25, 30, 35, 40, 45 e 50 °C. Neste trabalho, o grau de intumescimento (Q) foi determinado por meio da Equação:

$$Q = \frac{W_w}{W_d} \quad (1)$$

onde W_w e W_d são, respectivamente, a massa do hidrogel intumescido, em equilíbrio, e a massa do hidrogel seco.

Propriedades morfológicas dos hidrogéis

Membranas dos hidrogéis foram imersas em água nas temperaturas de 25, 30 e 40 °C, durante 24 horas. Após esse período, as membranas foram removidas e em seguida foram congeladas em nitrogênio líquido. As membranas congeladas foram liofilizadas utilizando o equipamento *Christ gefriertrocknungsanlagen*. Durante a liofilização a temperatura foi mantida em -55 °C. O processo de liofilização durou cerca de 24 horas. As micrografias foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura Shimadzu, modelo SS-550 Superscan. Todas as micrografias foram obtidas da superfície de fratura dos hidrogéis liofilizados. O tamanho médio de poros foi determinado utilizando como referência a barra indicativa da ampliação, inserida em cada micrografia medindo-se o tamanho de 10 diferentes poros, para que uma média de tamanho fosse calculada.

Determinação das propriedades mecânicas dos hidrogéis

A tensão de compressão de hidrogéis foi determinada em texturômetro (Stevens-L.F.R.A) mantendo-se a profundidade de indentação de 1 mm e com velocidade descendente do corpo de prova de 0,2 mm seg⁻¹. A tensão máxima de compressão, σ_{max}, foi obtida por meio da Equação 2, e foi considerada como a força máxima requerida para que haja a deformação elástica do gel fixada em 1 mm.

$$\sigma = \frac{f}{S_0} = E(\lambda - \lambda^{-2}) \quad (2)$$

onde σ é a tensão aplicada, em Pa m⁻², f é o valor da força exercida, S₀ é a área do corpo de prova que comprime o hidrogel e λ é a deformação relativa λ = (L₀ + ΔL)/L₀ < 1,10.

O módulo de elasticidade (E) de cada hidrogel foi determinado com base na Equação 2, em diferentes temperaturas. A densidade aparente de reticulação, v_e , foi determinada utilizando a seguinte Equação 3^[18].

$$\sigma = RT \left(\frac{\phi_{p,0}}{\phi_p} \right)^{2/3} \phi_p v_e (\lambda - \lambda^{-2}) \quad (3)$$

onde $\phi_{p,0}$ e ϕ_p são, respectivamente, as frações volumétricas de polímero no gel no estado relaxado (logo após a polimerização) e no estado intumescido. A fração volumétrica do polímero, ϕ , foi obtida a partir da Equação 4:

$$\phi = [1 + \delta_p \delta_s^{-1} (m_{eq} \cdot m_s^{-1}) - \delta_p \delta_s^{-1}]^{-1} \quad (4)$$

onde δ_p é a densidade do polímero, δ_s densidade do solvente, m_{eq} massa do hidrogel em equilíbrio (intumescido) e m_s é a massa do hidrogel seco.

Resultados e Discussão

Na Figura 1 é apresentada a dependência do grau de intumescimento em função da temperatura para hidrogéis com formulação geral (1-1-P). Pode ser observado que os hidrogéis tornam-se gradativamente menos hidrofílicos à medida que a temperatura é aumentada de 25 °C para 40 °C. Pode ser observado em torno de 32-35 °C uma transição na curva de Q vs. T para o hidrogel (1-1-5,0) indicando a LCST do PNIPAAm. O decréscimo do grau de intumescimento torna-se mais acentuado devido a transição de fase (de hidrofílica para hidrofóbica) do polímero PNIPAAm. Apesar do decréscimo nos valores de Q ser maior no hidrogel com menor quantidade de PNIPAAm, (1-1-1,3), a transição é mais evidente no hidrogel (1-1-5,0). Este fato é devido à menor compactação do hidrogel (1-1-1,3). O hidrogel (1-1-1,3) apresentou maiores valores de Q quando comparado aos demais hidrogéis (1-1-P), em temperaturas abaixo e acima da LCST do PNIPAAm. Isto significa que o aumento da concentração de PNIPAAm nas soluções precursoras dos hidrogéis conduz a materiais menos

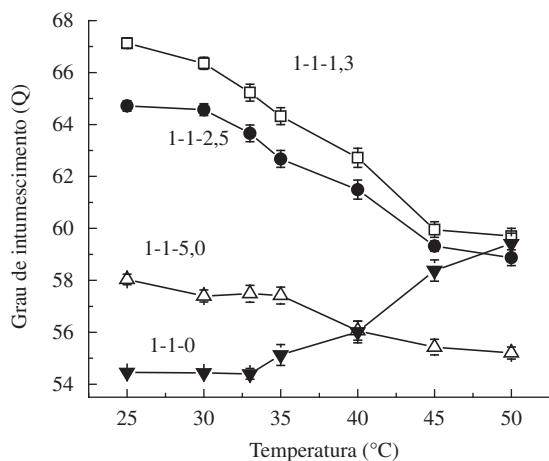


Figura 1. Dependência do grau de intumescimento de hidrogéis (1-1-P), tipo semi-IPN, em função da temperatura.

hidrofílicos. Em temperaturas abaixo da LCST do PNIPAAm, o hidrogel (1-1-0), constituído somente de alginato-Ca²⁺, apresenta menores valores de Q do que os respectivos hidrogéis semi-IPNs. A partir dessas observações, pode-se inferir que o PNIPAAm, abaixo da LCST, é mais hidrofílico que o alginato. Ainda, observa-se aumento nos valores de Q com aumento da temperatura para o hidrogel (1-1-0). Isto representa evidente aumento da hidrofílicidade das cadeias de alginato-Ca²⁺ com o aumento da temperatura.

Na Figura 2 é apresentada a dependência do grau de intumescimento em função da temperatura para hidrogéis com formulação geral (2-1-P).

A partir das curvas da Figura 2, pode-se verificar que a redução em Q para os hidrogéis semi-IPN do tipo (2-1-P) é menor que a observada para os respectivos hidrogéis (1-1-P) (compare com as curvas da Figura 1). Esse comportamento pode ser interpretado baseando-se na mobilidade das cadeias de PNIPAAm. Devido à formação da rede com maior quantidade de alginato-Ca²⁺ nos hidrogéis (2-1-P), a mobilidade das cadeias de PNIPAAm é diminuída e a contração do hidrogel não ocorre com tanta intensidade como em uma matriz com menor quantidade de alginato (1-1-P). Esse fato é comprovado pois os hidrogéis (1-1-P) apresentam maiores valores de grau de intumescimento se comparados com os hidrogéis (2-1-P) em todas as temperaturas analisadas. Os valores de Q do hidrogel (1-1-1,3) nas temperaturas abaixo (de 25 a 35 °C) e acima da LCST do PNIPAAm (40 a 50 °C) estão em torno de 65 e 60, respectivamente. Para o hidrogel (2-1-1,3) os valores correspondentes de Q para as faixas de temperaturas acima reportadas são 35 e 31. Em adição, os valores de Q para hidrogéis (1-1-0) e (2-1-0) são, aproximadamente, 54-60 e 29-34.

Na Figura 3 é apresentada a micrografia da superfície do hidrogel com formulação (1-1-5,0) liofilizado a 25 °C. Pode-se observar que a matriz do hidrogel composto de alginato-Ca²⁺/PNIPAAm, do tipo semi-IPN, apresenta uma morfologia folheada, semelhante à apresentada pelo hidrogel constituído somente pela rede de alginato de cálcio, mostrado na Figura 4, porém pouco menos folheada. Pode ser observa-

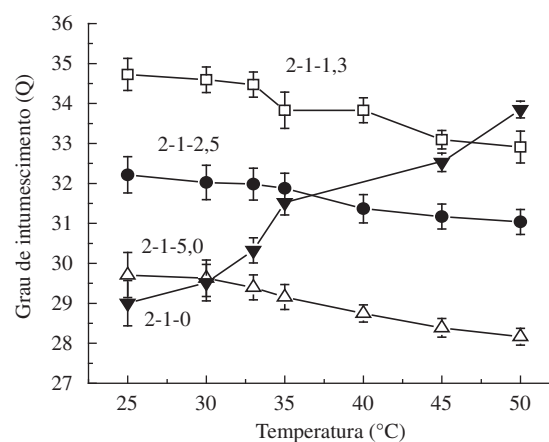


Figura 2. Dependência do grau de intumescimento de hidrogéis (2-1-P), tipo semi-IPN, em função da temperatura.

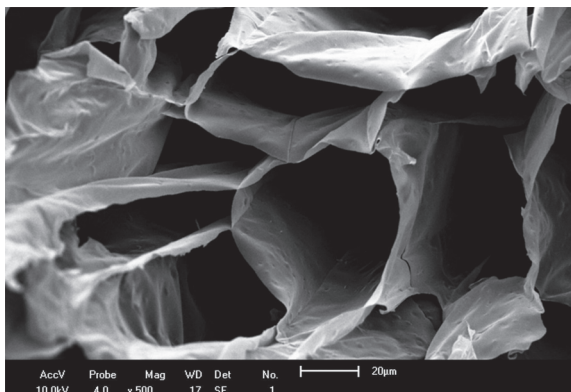


Figura 3. Micrografia, obtida por MEV, da superfície do hidrogel (1-1-5) semi-IPN, liofilizado após intumescimento na temperatura de 25 °C. A micrografia possui magnitude de 500x.

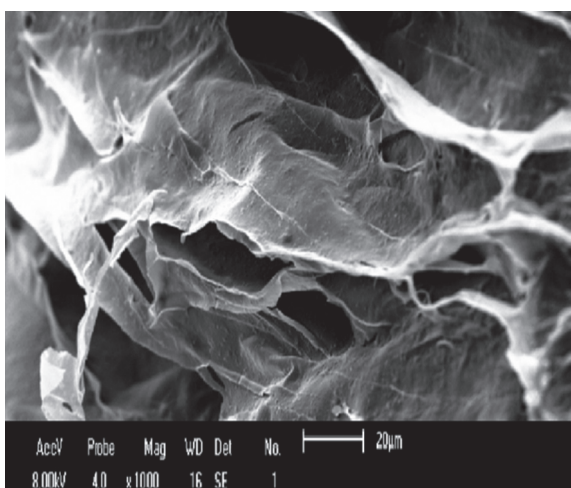


Figura 4. Micrografia, obtida por MEV, da superfície do hidrogel (1-1-0) semi-IPN, liofilizado após intumescimento na temperatura de 25 °C. A micrografia possui magnitude de 1.000x.

do também que a matriz é extremamente porosa e seus poros possuem formas bem definidas, com uma estreita distribuição de tamanho de poros.

A morfologia observada para hidrogéis semi-IPN pode ser assim interpretada: na formação dos hidrogéis do tipo semi-IPN as cadeias do PNIPAAm, que não possuem ramificações, permanecem entrelaçadas na rede de alginato, não influenciando na estrutura dessa rede. O tamanho médio dos poros, ξ , para os hidrogéis semi-IPN do tipo (1-1-P) foi calculado selecionando diversas áreas e são mostrados em função da temperatura na Tabela 2.

De acordo com os dados da Tabela 2 pode-se afirmar que os hidrogéis do tipo semi-IPN não apresentam variação sig-

Tabela 2. Valores de tamanho médio de poros, ξ , nas temperaturas de 25, 33 e 40 °C, para diversos hidrogéis do sistema (1-1-P), semi-IPN, constituídos de alginato-Ca²⁺ e PNIPAAm. Os valores de ξ são dados em μm .

Hidrogéis	Temperatura (°C)		
	25	33	40
Semi-IPN(1-1-1,3)	67,8 ± 3,2	65,9 ± 4,0	63,8 ± 4,1
Semi-IPN(1-1-2,5)	62,0 ± 5,2	61,2 ± 4,5	59,3 ± 3,9
Semi-IPN(1-1-5,0)	56,0 ± 4,4	55,0 ± 3,2	55,1 ± 3,6

nificativa no tamanho de poros com a temperatura. Ainda, ao serem aquecidos acima da LCST esses hidrogéis não se contraem significativamente, portanto a porosidade permanece praticamente constante. Como o valor do grau de intumescimento decresce com o aumento da temperatura, seria de esperar que houvesse também significativa contração nesses hidrogéis. A redução na hidrofiliidade dos hidrogéis é explicada pela formação do complexo que ocorre entre os grupos carboxílicos, do alginato, e os grupamentos amidas, do PNIPAAm^[19]. A formação do complexo é mais favorável acima da LCST, pois nessas condições a exposição dos grupamentos isopropílicos, apolares, do PNIPAAm passam a revestir os poros do hidrogel, diminuindo a sua interação com a água.

Na Figura 5 é apresentada a dependência da tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) com a temperatura para os hidrogéis com formulação geral (1-1-P). Pode-se observar que os hidrogéis do tipo (1-1-P) praticamente não apresentam variação nos valores de $\sigma_{\text{máx}}$ com a temperatura. Assim, como discutido anteriormente, esses hidrogéis não apresentam contração significativa com o aumento da temperatura externa do meio de intumescimento, mesmo acima da LCST do PNIPAAm. A tensão máxima de compressão aumenta com a concentração de PNIPAAm. Diferentemente dos outros hidrogéis tipo (1-1-P) o hidrogel (1-1-1,3), que possui baixa concentração de cadeias de PNIPAAm, apresentou um leve aumento nos valores de $\sigma_{\text{máx}}$ com o aumento da temperatura: $\sigma_{\text{máx}} = 8,6 \pm 0,3 \text{ kPa}$ (25 °C); $\sigma_{\text{máx}} = 10,7 \pm 0,4 \text{ kPa}$ (40 °C). Os hidrogéis (1-1-2,5) e (1-1-5,0), apresentaram $\sigma_{\text{máx}}$ iguais a $16,1 \pm 0,2 \text{ kPa}$ e $20,7 \pm 0,6 \text{ kPa}$, respectivamente, na faixa de temperatura analisada. Os hidrogéis compostos apenas por alginato apresentam propriedade mecânica muito pobre. Isso é prejudicial, uma vez que os hidrogéis estão sendo aplicados em larga escala na área médica^[20], necessitando de um material com propriedade mecânica satisfatória.

O módulo de elasticidade (E) é a medida da rigidez do material, ou seja, para grandes valores de E menores são as deformações, para um mesmo nível de tensão. A dependência de E com a temperatura para os hidrogéis semi-IPN é

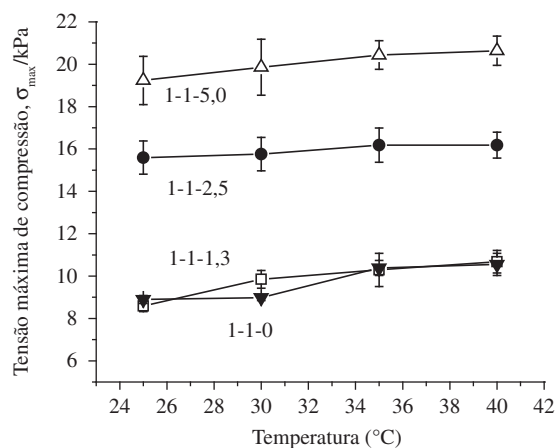


Figura 5. Dependência da tensão máxima de compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) com a temperatura para diferentes hidrogéis semi-IPN do sistema (1-1-P).

mostrada na Figura 6. Hidrogéis com maiores concentrações de PNIPAAm são mais rígidos, o que é refletido nos valores de E . Assim, os hidrogel (1-1-5,0) possui E maior que o hidrogel (1-1-2,5) mas a maior diferença ocorre entre este hidrogel e o hidrogel (1-1-1,3). Ainda, dentre os hidrogéis do tipo (1-1-P), o hidrogel (1-1-1,3) foi o que apresentou maior variação nos valores de E quando a temperatura passa de 25,0 °C ($10,9 \pm 0,4$ kPa) para 40,0 °C ($15,4 \pm 0,7$ kPa). Essa grande variação nos valores de E pode ser atribuída ao colapso das cadeias de PNIPAAm acima da LCST (32-35 °C). É importante ressaltar que as cadeias de PNIPAAm colapsadas são suportadas mecanicamente pela rede de alginato-Ca²⁺.

A densidade aparente de reticulação (v_e) foi determinada através do módulo de elasticidade e das frações volumétricas de polímero no gel intumescido, utilizando a Equação 3. Na Figura 7 é apresentada a dependência de v_e com a temperatura para hidrogéis semi-IPN, tipo (1-1-P).

Pode ser observado que os maiores valores de v_e são obtidos para os hidrogéis com maiores quantidades de PNIPAAm. Também observa-se que há incremento em v_e com o acréscimo da temperatura, em todos os semi-IPNs. Isto foi obser-

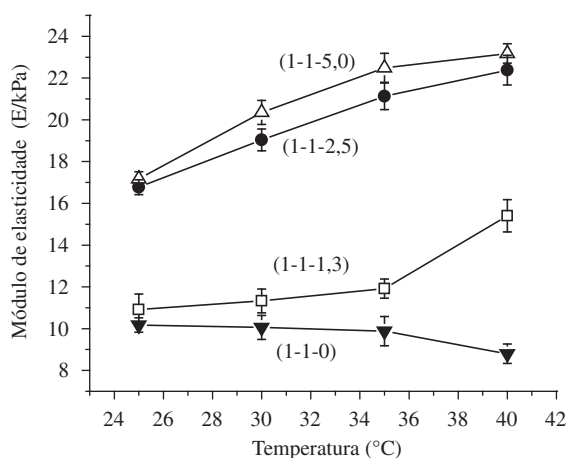


Figura 6. Dependência do módulo de elasticidade (E) com a temperatura para diferentes hidrogéis semi-IPN do sistema (1-1-P).

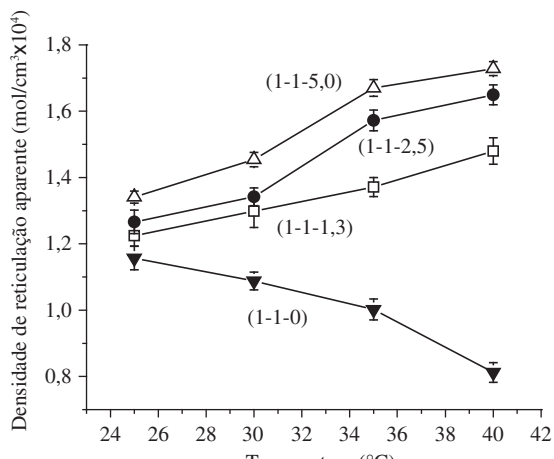


Figura 7. Dependência da densidade aparente de reticulação (v_e) com a temperatura para diferentes hidrogéis semi-IPN do sistema (1-1-P).

vado também por Muniz e Geuskens^[21] para hidrogéis semi-IPN de poli(acrilamida) (PAAm) contendo PNIPAAm e pode ser correlacionado com a rigidez do material, manifestada pelos maiores valores de E , como já mencionado anteriormente. Dois fatores contribuem primordialmente para que os hidrogéis semi-IPNs se tornem mais rígidos: 1) o colapso das cadeias de PNIPAAm em temperaturas superiores a LCST; 2) as contrações, embora pequenas, apresentadas pelo hidrogéis semi-IPN devido ao colapso da cadeias do PNIPAAm. No entanto, pode-se inferir que a contribuição deste último é menor que o do primeiro fator.

Conclusões

Foi possível obter hidrogéis semi-IPN termo-sensíveis constituídos de PNIPAAm suportadas em matrizes de alginato-Ca²⁺. Medidas de grau de intumescimento mostraram que o grau de intumescimento (Q) varia inversamente com a concentração de cadeias de alginato e/ou PNIPAAm no hidrogel. Hidrogéis do tipo semi-IPN, contendo PNIPAAm, apresentaram redução do valor de Q com a temperatura. Ao correlacionar as micrografias dos hidrogéis, obtidas por MEV, com os dados de intumescimento conclui-se que os hidrogéis mais porosos apresentam, também, maior afinidade pela água. Ainda, resultados de propriedades mecânicas demonstraram que hidrogéis com maior concentração de alginato-Ca²⁺ e de PNIPAAm apresentam maior resistência à compressão, ou seja, maior rigidez. O controle dessas propriedades tornam esses hidrogéis semi-IPN, termo-sensíveis, potencialmente, viáveis para diferentes aplicações, por exemplo, como sistemas carreadores para liberação controlada e/ou prolongada de fármacos e substratos de crescimento de cultura de células.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- Guo, K. & Chu, C.-C. - *Biomaterials*, **28**, p.3284 (2007).
- Dispensa, C.; Fiandaca, C.; Lo Presti, C.; Piazza, C. & Spadaro, G. - *Radiat. Phys. Chem.*, **76**, p.1371 (2007).
- Boucard, N.; Viton, C.; Agay, D.; Mari, E.; Roger, T.; Chancerelle, Y. & Domard, A. - *Biomaterials*, **28**, p.3478 (2007).
- Tada, D.; Tanabe, T.; Tachibana, A. & Yamauchi, K. - *Mater. Sci. Eng., C*, **27**, p.870 (2007).
- Zhang, G-Q.; Zha, L-S.; Zhou, M.-H.; Ma, J.-H. & Liang B-R. - *Colloid Polym. Sci.*, **283**, p.431 (2005).
- Coviello, T.; Matricardi, P.; Marianecchi, C. & Alhaique, F. - *J. Controlled Release*, **119**, p.5 (2007).

7. Sedláková, Z.; Bouchal, K. & Ilavský, M. - Polymer Gels and Networks, **6**, p.163 (1998).
8. Singh, B.; Sharma, N. & Chauhan, N. - Carbohydr. Polym., p.631 (2007).
9. Zhang, R.; Tang, M.; Bowyer, A.; Eissenthal, R. & Hubble, J. - Biomaterials, **26**, p.4677 (2005).
10. Muniz, E. C. & Geuskens, G. - Macromolecules, **34**, p.4480 (2001).
11. Yoshinari, E.; Furukawa, H. & Horie, K. - Polymer, **46**, p.7741 (2005).
12. Ma, J.; Xu, Y.; Fan, B. & Liang, B. - Eur. Polym. J., **43**, p.2221 (2007).
13. Tanaka, T.; Ishiwata, S. I. & Ishimoto, C. - Phys. Rev. Lett., **38**, p.771 (1977).
14. Shi, J.; Alves, N. M. & Mano, J. F. - Macromol. Biosci., **6**, p.358 (2006).
15. Bell, C. L. & Peppas, N. A. - Adv. Polym. Sci, **22**, p.125 (1995).
16. Moura, M. R. de.; Aouada, F. A.; Guilherme, M. R.; Radovanovic, E.; Rubira, A. F. & Muniz, E. C. - Polym. Test., **25**, p.961 (2006).
17. Teli, S. B., Gokavi, G. S. & Aminabhavi, T. M. - Sep. Purif. Technol, **56**, p.150 (2007).
18. Gutowska, A.; Bae, Y. H.; Jacobs, H.; Feijen, J. & Kim, S. W - Macromolecules, **27**, p.4167 (1994).
19. Guilherme, M. R.; Moura, M. R. de.; Radovanovic, E.; Geuskens, G.; Rubira, A. F. & Muniz, E. C. - Polymer, **46**, p.2668 (2005).
20. Castro, G. R.; Panilaitis, B.; Bora, E. & Kaplan, D. L. - Mol. Pharmaceutics, **4**, p.33 (2007).
21. Muniz, E. C.; Geuskens, G. J. - Mater. Sci.: Mater. Med., **12**, p.879 (2001).

Enviado: 08/08/07

Reenviado: 18/10/07

Aceito: 29/10/07