



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 – TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Desenvolvimento de filmes à base de quitosana e amido de milho incorporados com cúrcuma

Emille Wittmann Schaefer

Orientadoras: Prof. Débora Jung Luvizetto Faccin

Prof. Isabel Cristina Tessaro

Coorientadoras: Cláudia Leites Luchese

Julia Frick Pavoni

Porto Alegre, Dezembro de 2018.

Agradecimentos

Às minhas orientadoras e coorientadoras Débora, Isabel, Cláudia e Julia pelo inestimável auxílio, apoio, ensinamentos e tempo disponibilizado durante todas as etapas desse trabalho.

A toda equipe dos laboratórios LATEM, LASEM e LAPFA. Aos funcionários e técnicos do Departamento de Engenharia Química pela estrutura disponibilizada e pela contribuição para realização do trabalho. À Juliana Engel, que prestativamente disponibilizou seu tempo para me auxiliar durante as análises microbiológicas.

Aos meus pais, por todo apoio, incentivo e por estarem ao meu lado em qualquer situação, sempre acreditando no meu potencial.

Resumo

Curativos são utilizados para a oclusão de lesões cutâneas, minimizando o contato do ferimento com o ambiente externo, facilitando o processo de cicatrização. Diante do preocupante cenário relacionado à escassez de recursos fósseis e ao descarte inadequado de materiais plásticos, o uso de biopolímeros vem ganhando destaque, inclusive na área biomédica, pela semelhança com a matriz extracelular, além da aceitação pelos sistemas biológicos que previnem reações imunológicas, muitas vezes detectadas com o uso de polímeros sintéticos. A quitosana é um polímero natural com elevado potencial de aplicação como biomaterial devido às suas propriedades, tais como: atoxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade e atividade antimicrobiana. O amido pode ser utilizado como termoplástico em diversas aplicações, devido ao seu baixo custo de comercialização e elevada disponibilidade. Diante desse contexto, o presente trabalho visa o desenvolvimento de filmes à base de quitosana e amido de milho incorporados com cúrcuma para potencial aplicação como curativo. A inserção da cúrcuma justifica-se pelas suas excelentes propriedades farmacológicas, como atividade antioxidante e antimicrobiana, além de acelerar o processo de cicatrização. Os filmes foram produzidos pelo método de *casting* e foram caracterizados de acordo com a morfologia, propriedades físicas e térmicas, atividade antimicrobiana, adesividade, ensaio de migração assim como, propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. Observou-se que filmes à base de quitosana e amido sem e com adição de cúrcuma apresentaram valores intermediários de umidade (38 %) e alta absorção de água (1841 - 1939 %) em relação aos filmes de amido e quitosana puros. A inserção da cúrcuma aumentou a hidrofobicidade dos filmes. Todos os filmes contendo quitosana em sua formulação apresentaram *halo* de inibição para o microrganismo *Staphylococcus aureus* e maior aderência à mucosa suína utilizada como corpo de prova. Com relação aos testes de migração, observou-se maior absorbância para as soluções que ficaram em contato com os filmes contendo o agente bioativo, em relação ao respectivo filme sem a presença da cúrcuma, sugerindo que houve a liberação deste composto. A inserção da cúrcuma nos filmes de amido e quitosana não promoveu alterações nas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. Assim, pode-se concluir que os filmes de amido e quitosana sem e com adição de cúrcuma apresentaram potencial para utilização como curativos, sendo a presença da cúrcuma relevante em virtude da liberação de compostos de interesse.

Palavras-chave: curativos, atividade antimicrobiana, adesividade, migração, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitosana a partir de resíduos de casca de crustáceos e representação da estrutura química da quitina e quitosana.....	7
Figura 2.2. Representação da estrutura química da curcumina.....	11
Figura 4.1. Aspecto visual dos filmes: (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma.....	21
Figura 4.2. Análise de morfologia por microscopia óptica por transmitância com aproximação de 5x. (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (e) filme de quitosana, amido e cúrcuma..	22
Figura 4.3. Resultados da análise térmica: (a) filme de quitosana (b) filme de quitosana e cúrcuma (c) filme de amido (d) filme de amido e cúrcuma (e) filme de amido e quitosana (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma..	26
Figura 4.4. Análise de atividade antimicrobiana após 24 h de incubação: (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma. Os testes foram realizados utilizando <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)..	27
Figura 4.5. Avaliação qualitativa da adesividade dos filmes. (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma.....	29
Figura 4.6. Valores de absorbância em função dos diferentes comprimentos de onda para os filmes de quitosana (Q), amido (A), quitosana-amido (Q_A), quitosana-cúrcuma (Q_C), amido-cúrcuma (A_C) e quitosana-amido-cúrcuma (Q_A_C).....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Composição das formulações estudadas e respectiva sigla para identificação das amostras.....	14
Tabela 4.1. Resultados das análises de propriedades físicas: espessura (mm), teor de umidade (%), solubilidade em água (%), ângulo de contato (°) e absorção de água (%) para todas as formulações.....	23
Tabela 4.2. Avaliação da permeabilidade ao vapor de água ($\text{g } \mu\text{m dia}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ mmHg}^{-1}$) e das propriedades mecânicas: tensão de ruptura (MPa), alongamento (%) e módulo elástico (MPa) para os filmes de quitosana e amido (Q_A) e quitosana, amido e cúrcuma (Q_A_C)..	33

LISTA DE SÍMBOLOS

A_{PVA} – área de permeação do filme referente à análise de permeabilidade ao vapor de água (m^2)

e – espessura média do corpo de prova (mm)

KCl – cloreto de potássio

KH_2PO_4 – fosfato monopotássico

Na_2HPO_4 – fosfato dissódico

NaCl – cloreto de sódio

v/v – relação volume/volume (m^3/m^3)

w/v – relação massa/volume (kg/m^3)

μm – micrometro

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM – *American Society for Testing and Materials* (Sociedade Americana de Testes e Materiais)

LAPFA – Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos pertencente ao Instituto de Ciência e Tecnologia da UFRGS

LASEM – Laboratório de Processos de Separação por Membranas pertencente ao Departamento de Engenharia Química da UFRGS

LATEM – Laboratório de Tecnologia de Embalagens e Desenvolvimento de Membranas pertencente ao Departamento de Engenharia Química da UFRGS

PBS - phosphate buffered saline

PCA – plate count agar

pH – potencial de hidrogênio

PHA - polihidroxicarboxilatos

pKa – constante de dissociação

PLA – poli (ácido láctico)

PVA – permeabilidade ao vapor de água

SUMÁRIO

1	<i>INTRODUÇÃO.....</i>	<i>1</i>
2	<i>FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</i>	<i>2</i>
2.1	CURATIVOS	2
2.2	MATERIAIS POLIMÉRICOS.....	4
2.2.1	Biopolímeros.....	5
2.3	QUITOSANA.....	6
2.4	AMIDO.....	9
2.5	CÚRCUMA.....	11
2.6	CONSIDERAÇÕES	12
3	<i>MATERIAIS E MÉTODOS.....</i>	<i>13</i>
3.1	MATÉRIAS-PRIMAS	13
3.2	OBTENÇÃO DOS FILMES	13
3.3	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	15
3.3.1	Análise morfológica	15
3.3.2	Espessura	15
3.3.3	Teor de umidade	15
3.3.4	Solubilidade em água	16
3.3.5	Caráter hidrofílico	16
3.3.6	Absorção de água.....	17
3.3.7	Propriedades térmicas	17
3.3.8	Análise de atividade antimicrobiana	18
3.3.9	Adesividade	18
3.3.10	Testes de migração	18
3.3.11	Propriedades mecânicas.....	19

3.3.12	Permeabilidade ao vapor de água	20
3.3.13	Análise estatística	20
4	Resultados e discussão	21
4.1	ASPECTO VISUAL E MORFOLOGIA.....	21
4.2	PROPRIEDADES FÍSICAS	22
4.3	PROPRIEDADES TÉRMICAS	26
4.4	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	27
4.5	ADESIVIDADE DOS FILMES	28
4.6	ENSAIO DE MIGRAÇÃO	29
4.7	PROPRIEDADES MECÂNICAS E BARREIRA AO VAPOR DE ÁGUA	31
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	34
	REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

O expressivo emprego dos plásticos nas mais diversas aplicações vem produzindo uma grande quantidade de resíduos, gerando considerável impacto ambiental devido a não biodegradabilidade desses materiais. Estima-se que, desde a década de 50, 8,3 bilhões de toneladas de material plástico tenham sido produzidas, sendo 6,3 milhões somente entre os anos de 2015 e 2017. Atrelado a isso, estima-se que somente 9 % de toda essa produção foi reciclada, sendo o restante descartado em aterros ou enviado para incineração (GEYER, LAW e JAMBECK, 2017). Nesse contexto, alternativas ao uso de polímeros sintéticos estão sendo propostas, e as pesquisas relacionadas ao uso de biopolímeros biodegradáveis vêm se destacando. Recentemente, esse tipo de material tem sido estudado em aplicações como biomaterial, em especial na confecção de curativos.

Esses biopolímeros são relevantes em termos farmacológicos, por serem compatíveis com o leito da ferida evitando a rejeição pelo organismo, e em termos ambientais, pelo baixo impacto. Pesquisas recentes nessa área, normalmente, aliam o biomaterial a um composto bioativo com propriedades específicas para uma determinada aplicação de interesse. Aloe vera, cúrcuma e metais nobres como a prata são alguns exemplos de compostos bioativos que têm sido reportados na prevenção e terapia de infecções das lesões cutâneas.

Diante do exposto, o objetivo principal do presente trabalho foi avaliar o potencial de filmes à base de quitosana e amido de milho com incorporação de cúrcuma para aplicação como curativos. Para isso, foi necessário produzi-los e caracterizá-los em relação à morfologia, umidade, solubilidade e absorção de água, propriedades térmicas e mecânicas, assim como, atividade antimicrobiana e analisar a influência das diferentes formulações nas propriedades de interesse. Filmes à base de quitosana já vêm sendo estudados como possível aplicação no recobrimento de lesões cutâneas, assim como outros biopolímeros e polímeros incorporados com cúrcuma. Entretanto, na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos acerca de filmes de quitosana e amido de milho incorporados com cúrcuma. A escolha do composto bioativo levou em consideração suas excelentes propriedades farmacológicas, além da sua disponibilidade e baixo custo de comercialização no Brasil.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O presente capítulo tem por objetivo contextualizar a pesquisa, apresentando informações básicas a respeito dos materiais a serem empregados no desenvolvimento dos filmes. São também abordados os principais fundamentos relacionados a lesões cutâneas, curativos e as características desejadas no desenvolvimento de filmes para essa aplicação específica.

2.1 CURATIVOS

A pele é o órgão externo do corpo humano que reveste e delimita o organismo, representando a primeira barreira entre os órgãos internos e o ambiente circundante. Sua principal função é proporcionar um ambiente equilibrado entre o organismo e o meio externo, protegendo o corpo contra ameaças externas (BLANES, 2004). Uma ferida é definida como uma lesão ou rompimento da estrutura anatômica da pele, prejudicando sua função. Essas lesões cutâneas podem ser causadas por diversas razões, como doenças genéticas, traumas causados por exposição ao calor, agentes químicos, fricção, intervenções cirúrgicas ou até mesmo feridas crônicas (VELNAR, BAILEY e SMRKOLJ, 2009; GIRARD *et al.*, 2017).

Sabe-se que os microrganismos estão presentes no dia-a-dia, podendo ser encontrados no ar, no solo, e, inclusive, no corpo humano. Assim, o estado de equilíbrio do corpo acaba sendo perturbado na ocorrência de um ferimento, levando a diversos riscos de infecção. Torna-se necessário, portanto, o recobrimento da lesão com um curativo que seja capaz de minimizar as perdas das funções essenciais da pele (HARPER, MCNAUGHT e YOUNG, 2014; NASERI-NOSAR *et al.*, 2017).

Agentes tópicos e curativos são os dois grandes grupos de produtos utilizados no tratamento de feridas. Agentes tópicos são medicamentos aplicados diretamente no local da lesão, podendo também ser utilizados para a limpeza da região lesionada. Enquanto os curativos consistem em produtos utilizados para a oclusão da ferida, favorecendo o processo de cicatrização e evitando agressões do ambiente externo. Os curativos podem ser classificados em primários, quando utilizados em contato direto com o ferimento ou em secundários, quando dispostos sobre o curativo primário (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003).

As principais propriedades que os curativos podem apresentar para um bom desempenho da sua função estão descritas a seguir.

- Biocompatibilidade: o curativo não deve conferir toxicidade ao ferimento.
- Capacidade de absorção de fluidos: a remoção de excesso de exsudado da ferida é essencial, uma vez que o mesmo contém nutrientes que podem contribuir para o aumento dos riscos relacionados ao desenvolvimento de microrganismos.
- Permeabilidade ao vapor de água: requer otimização, uma vez que, taxas de permeação muito elevadas podem promover a desidratação da lesão, levando à formação de cicatrizes; enquanto, taxas muito baixas podem levar ao acúmulo de exsudado, aumentando o risco de infecção.
- Permeabilidade a gases: necessária somente para processos reparativos que necessitam da presença de oxigênio.
- Atividade antimicrobiana: importante para evitar o desenvolvimento e a proliferação de microrganismos.
- Adesão: essa propriedade deve ser avaliada para cada caso, uma vez que uma adesão muito forte pode tornar a ferida suscetível à ocorrência de novas lesões após a remoção do curativo (ARCHANA, DUTTA e DUTTA, 2013; NASERI-NOSAR *et al.*, 2017), no entanto, uma adesão fraca é sempre desejada para evitar contato direto com o meio externo.

Historicamente, pastas de mel, fibras de plantas e gordura animal eram utilizados como curativos (MAJNO, 1975). No início do século XX, basicamente agentes tópicos com ação antimicrobiana e coberturas secas para proteção da pele eram os principais tratamentos utilizados em feridas. Nesse período, álcool etílico e antissépticos metálicos também eram muito utilizados. A partir de 1950 surgiram os primeiros estudos acerca da eficácia da cicatrização de feridas em ambiente úmido. A partir de então foi observado um aumento expressivo no desenvolvimento de coberturas que permitem proporcionar um ambiente adequado para o processo de cicatrização (GOMES e CARVALHO, 2002).

A classificação mais comum dos curativos está baseada na sua natureza de ação e é dividida em três grupos: passivos, interativos e bioativos. O primeiro grupo compreende os curativos tradicionais, como as gazes, e age apenas como uma cobertura da ferida para que a mesma possa se recuperar. O segundo grupo são materiais interativos compostos de materiais poliméricos e/ou espumas que são na sua maioria transparentes, permeáveis ao vapor de água e ao oxigênio e impermeáveis aos microrganismos; ácido hialurônico, hidrogéis e cobertura de espumas são exemplos dessa categoria e são recomendados para uso em feridas com baixo índice de exsudação. O último grupo compreende os curativos que são capazes de liberar substâncias ativas durante o processo de cicatrização das feridas, seja pela liberação de compostos bioativos ou pela composição do curativo contendo materiais com atividade endógena. Como por exemplo: hidrocoloides, alginatos, colágenos e quitosana (DISSEMOND *et al.*, 2014; PEREIRA e BARTOLO, 2016; ABRIGO, MCARTHUR e KINGSHOTT, 2014).

Atualmente, há uma busca pelo desenvolvimento de curativos cada vez mais eficazes, específicos para cada tipo de ferida e que sejam economicamente viáveis. Neste contexto, o uso de materiais de fonte natural, como biopolímeros, tem recebido grande atenção para utilização em aplicações farmacêuticas, devido à biocompatibilidade e menor impacto ambiental (BAI *et al.*, 2016).

2.2 MATERIAIS POLIMÉRICOS

Polímeros são macromoléculas compostas de unidades estruturais menores ligadas umas às outras para formar estruturas lineares, ramificadas ou reticuladas. Alguns dos polímeros mais comumente utilizados para fabricação de curativos, como por exemplo, o poliuretano e silicone, são de origem sintética (DAVIS e SONG, 2006). Apesar dos benefícios oferecidos, esses materiais têm despertado atenção devido ao elevado impacto ambiental gerado após o descarte incorreto. Devido ao processo de degradação ser extremamente lento, o problema ambiental pode persistir por séculos levando muito provavelmente à escassez de locais para disposição final e crescentes níveis de poluição terrestre e dos recursos hídricos. Além disso, a escassez dos recursos fósseis e as atuais alterações climáticas globais, têm se destacado como amplos problemas ambientais (HASAN *et al.*, 2008; MOCK, CHIN e LAN, 2008; SUN, 2013).

Diante desse cenário, os polímeros naturais estão sendo cada vez mais estudados como uma alternativa à crescente demanda de substituição de polímeros não-biodegradáveis produzidos a partir de compostos petroquímicos. Aliado a isso, alguns consumidores também estão mais atentos para a aquisição de produtos, buscando materiais atóxicos e com baixo impacto ambiental. No entanto, esta realidade está fortemente atrelada ao preço final do produto e ao desempenho do material, que deve ser similar ou superior ao material produzido a partir dos polímeros provenientes de fonte fóssil (BASTOS, 2007; GALIANO *et al.*, 2018).

2.2.1 Biopolímeros

Biopolímeros são polímeros obtidos a partir de fontes renováveis; um exemplo é o hidrocarboneto eteno, monômero do polietileno, que pode ser obtido do álcool da cana-de-açúcar. Nesse caso, apesar do polímero produzido ser um biopolímero, o mesmo continua sendo não biodegradável. O contrário também ocorre: o poli(ácido láctico) (PLA) é um polímero biodegradável, entretanto o ácido láctico utilizado na sua produção pode ser obtido tanto por fermentação, como do petróleo, caracterizando, nesse caso, um polímero obtido de fonte fóssil, mas biodegradável. Portanto, é possível classificar os materiais plásticos com base na sua fonte de matéria-prima e na sua biodegradabilidade em quatro classes: polímeros convencionais, biopolímeros, polímeros biodegradáveis e biopolímeros biodegradáveis (GÓMEZ e MICHEL, 2013).

Segundo SINGH e SHARMA (2008), o termo biodegradação pode ser definido como uma transformação bioquímica do material polimérico em compostos mineralizados pela ação de microrganismos. O tempo para que essa ação ocorra depende de alguns fatores tais como a estrutura do polímero, as características dos microrganismos, as condições ambientais (temperatura, pH, umidade, teor de oxigênio), as quais o material e os microrganismos estão submetidos, entre outros.

Os biopolímeros apresentam uma longa lista de aplicações, mas nos últimos dez anos diversos trabalhos foram publicados com foco em aplicações biomédicas (GALIANO *et al.*, 2018, KNILL *et al.*, 2004, BERCE *et al.*, 2018, TUMMALAPALLI *et al.*, 2016). Os biopolímeros são bastante utilizados na confecção de curativos, devido à semelhança com a matriz extracelular, além da aceitação satisfatória pelos

sistemas biológicos que previnem as reações imunológicas, muitas vezes detectadas no uso de polímeros sintéticos (NASERI-NOSAR e ZIORA, 2018). Os estudos para aplicação como biomateriais são justificados pela sua elevada biocompatibilidade, biodegradabilidade e atividade biológica, além do baixo impacto ambiental. Os polihidroxicanoatos (PHA), que se referem à família de poliésteres produzidos por microrganismos a partir de vários substratos de carbono, poli(ácido láctico) (PLA), gelatina, pectina, amido e quitosana são alguns exemplos de biopolímeros (BRITO *et al.*, 2011).

Os polissacarídeos são um tipo de biopolímero formado por monossacarídeos. Podem ser denominados homopolissacarídeos, quando contêm um único tipo de monossacarídeo na sua estrutura, como é o caso do amido, ou heteropolissacarídeos, quando contêm diferentes átomos, como, por exemplo, a quitosana (NASERI-NOSAR e ZIORA, 2018). A quitosana e o amido são os biopolímeros de interesse deste trabalho e suas características serão detalhadas a seguir.

2.3 QUITOSANA

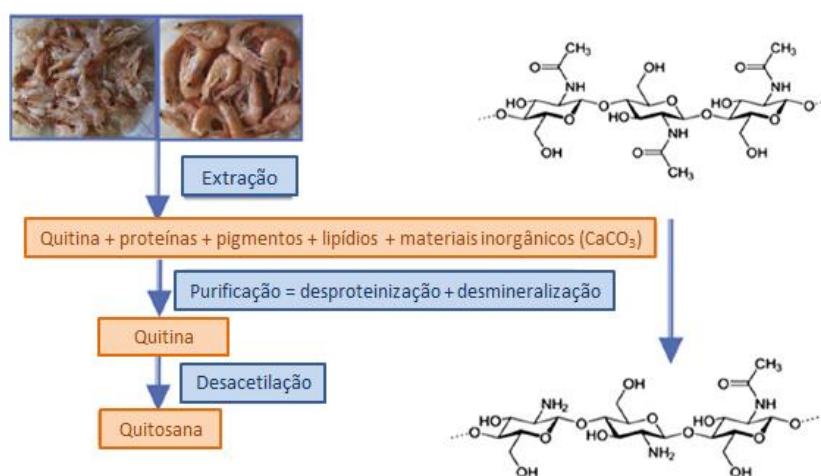
A quitosana é um polímero natural obtido a partir da quitina, polissacarídeo de cadeia linear constituído predominantemente por unidades de 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose unidas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$. A quitosana é o segundo polissacarídeo mais abundante, ficando atrás apenas da celulose, mas com a vantagem de apresentar uma taxa de reposição duas vezes superior (BATTISTI e CAMPANA-FILHO, 2008).

As principais fontes comerciais da quitina são carapaças de camarões e caranguejos (HASSAINIA, SATHA e BOUFI, 2018). Apesar de ser muito abundante e possuir excelentes propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioatividade, a utilização da quitina é limitada devido à baixa solubilidade em meios aquosos e na maioria dos solventes. Nesse caso, destacam-se os estudos utilizando a quitosana, principal derivado da quitina (MUXICA *et al.*, 2017).

A quitina e a quitosana diferem quanto à solubilidade e à proporção relativa de unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose. Enquanto a quitosana é predominantemente formada pelo segundo

composto e é solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos, a quitina é basicamente composta pelo primeiro composto e insolúvel na maioria dos solventes (CAMPANA e SIGNINI, 2001). Na Figura 2.1 está representado um fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitosana a partir da quitina, bem como as estruturas químicas desses biopolímeros.

Figura 2.1 Fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitosana a partir de resíduos de casca de crustáceos e representação da estrutura química da quitina e quitosana (Fonte: MATI-BAOUCHE et al., 2014).



O grau de desacetilação, a distribuição de massa molar e o conteúdo total de impurezas da quitosana dependem das fontes naturais de matéria-prima e dos métodos de obtenção (LARANJEIRA e FÁVERE, 2009). Esses fatores também influenciam nas propriedades físico-químicas da quitosana, como por exemplo, na solubilidade, constante de dissociação (pKa) e viscosidade (COSTA SILVA, DOS SANTOS e FERREIRA, 2006).

O emprego da quitosana em áreas como agricultura, indústria alimentícia e farmacêutica, desenvolvimento de cosméticos e biomateriais têm aumentado significativamente, principalmente devido à sua atoxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (COSTA SILVA, DOS SANTOS e FERREIRA, 2006).

A presença de um elevado número de grupos hidroxila e amino na estrutura da quitosana confere a esse polímero uma elevada hidrofiliabilidade, o que permite sua utilização como biomaterial na forma de micropartículas, gel ou membrana em uma

série de aplicações: veículo de liberação de fármacos, bandagens, géis injetáveis e membranas periodontais são alguns exemplos (LARANJEIRA e FÁVERE; 2009).

Outra propriedade muito importante da quitosana é a sua atividade antimicrobiana. Ao ser dissolvida em meio ácido, os grupos amino presentes na estrutura provavelmente são protonados, tornando o polímero catiônico e, conseqüentemente, promovendo à interação com as membranas celulares de microrganismos carregadas negativamente, resultando na aglutinação das células microbianas e inibição do crescimento (MUXICA *et al.*, 2017).

Em virtude das propriedades citadas, a quitosana tem sido estudada como um possível material para a confecção de curativos. O uso desse biopolímero pode auxiliar no processo de cicatrização de feridas ativando os fibroblastos, regulando a deposição e disposição das fibras de colágeno, facilitando a migração celular e estimulando a granulação e a vascularização. NASERI-NOSAR *et al.* (2017) desenvolveram curativos constituídos por duas camadas de quitosana, que demonstraram boa cicatrização de feridas após avaliações *in vitro* e *in vivo*. A subcamada era composta de quitosana na forma de esponja objetivando absorver o exsudado da ferida, enquanto a camada superior, na forma de filme, objetivava evitar a penetração bacteriana e a desidratação da ferida (NASERI-NOSAR *et al.*, 2017).

Além das propriedades intrínsecas da quitosana, podem ser formados conjugados de quitosana, combinando as propriedades das substâncias, uma vez que a solubilização desse material pode ser feita em meio ácido. Quando o ácido láctico é utilizado, o complexo formado apresenta propriedades como baixíssima citotoxicidade, elevada biocompatibilidade, hidrofiliçidade e excelentes propriedades antimicrobianas (MUXICA *et al.*, 2017).

Embora todas essas características sejam excelentes no desenvolvimento de curativos, baixos valores de propriedades mecânicas podem limitar sua aplicação. Nesse caso, a incorporação de outros biopolímeros biodegradáveis na matriz polimérica pode ser uma abordagem interessante, com o intuito de alterar algumas propriedades da quitosana, potencializando sua utilização e benefícios (JAGANATHAN *et al.*, 2018).

2.4 AMIDO

O grânulo de amido é sintetizado através da polimerização de moléculas de glicose, produzidas pela fotossíntese. Esse polissacarídeo é composto de unidades de glicose conectadas por ligações glicosídicas formando as cadeias de amilose e amilopectina (AHMED *et al.*, 2016; WONGMANEE, KHUANAMKAM e CHAIRAM, 2017).

A amilose possui uma estrutura essencialmente linear, com ligações α -(1-4), enquanto a amilopectina possui uma estrutura ramificada, com ligações α -(1-4) e ramificações em α -(1-6). Com relação à cristalinidade dos grânulos de amido, a parte linear das moléculas de amilopectina é responsável pelas regiões cristalinas dos grânulos, enquanto as regiões amorfas são constituídas pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina (SOUZA e ANDRADE, 2000; HEMAMALINI e DEV, 2018).

As principais fontes de amido são diversas sementes de cereais, tais como milho, trigo, arroz, aveia, cevada e centeio e também tubérculos e raízes, como por exemplo, batata, batata-doce e mandioca. Conforme a fonte vegetal de origem, o teor de amilose nos grânulos pode variar; enquanto o amido de milho contém entre 25 e 28 %, o amido de mandioca apresenta valores variando entre 17 e 26 % (WEBER, COLLARES-QUEIROZ e CHANG, 2009). Além da fonte vegetal, o teor de amilose também será influenciado pelas condições climáticas e o tipo de solo utilizado para o cultivo (SINGH *et al.*, 2003).

O processo de transformação do amido granular em uma pasta viscoelástica é denominado gelatinização. Na presença de excesso de água e aquecimento, o grânulo absorve água e incha, devido à hidratação e à solubilização, ocorre o rompimento da estrutura granular e mudanças irreversíveis nas propriedades. Durante esse processo ocorre a liberação da amilose, que migra para a solução, contribuindo para o aumento da viscosidade. O inchamento das regiões amorfas dentro dos grânulos desestabiliza a estrutura cristalina, resultando na quebra de ligações de hidrogênio. Como a amilopectina absorve grande quantidade de água durante o processo de aquecimento, a mesma é a principal responsável pelo

inchamento do grânulo (SOUZA e ANDRADE, 2000; HEMAMALINI e DEV, 2018; GALLANT, BOUCHET e BALDWIN, 1997).

O amido gelatinizado pode sofrer um processo denominado de retrogradação, que consiste na reassociação e recristalização das cadeias de polissacarídeos, favorecendo a formação de uma estrutura mais ordenada. Nesse caso, o amido retorna para a sua característica de insolubilidade em água fria. Esse fenômeno ocorre quando as soluções são resfriadas à temperatura ambiente ou congeladas. A retrogradação da amilose é maior que a da amilopectina devido a sua cadeia longa e linear, que tende a se alinhar e recristalizar mais rapidamente, enquanto as ramificações da amilopectina impedem e dificultam a aproximação das cadeias por efeito estérico (HEMAMALINI e DEV, 2018; LUCHESE, 2018).

O amido possui aplicações em diversas áreas, nas indústrias alimentícia, de cosméticos, farmacêutica, de papel e têxtil. Devido ao baixo custo e à elevada disponibilidade, além da capacidade de produzir materiais biodegradáveis, o amido também está sendo utilizado como termoplástico em diversas aplicações de embalagens, potes para plantio e no desenvolvimento de biomateriais. Para que a estrutura termoplástica seja obtida, torna-se necessário destruir a estrutura semicristalina dos grânulos, dando origem a uma matriz polimérica essencialmente amorfa e homogênea (CORRADINI *et al.*, 2005; SOUZA e ANDRADE, 2000).

Devido às ligações de hidrogênio intra e intermoleculares entre os grupos hidroxila, o amido granular não apresenta comportamento termoplástico como alguns polímeros sintéticos. O processo térmico é utilizado para romper a estrutura semi-cristalina. Normalmente, essa transformação é realizada na presença de pequenas quantidades de substâncias chamadas de plastificantes (LIU *et al.*, 2009).

Os plastificantes são capazes de conferir aumento da flexibilidade dos filmes devido à capacidade de reduzir as ligações internas de hidrogênio entre cadeias poliméricas, além de aumentar o volume livre, permitindo maior mobilidade das cadeias. Eles também evitam o aparecimento de fissuras nos filmes e podem alterar algumas propriedades, tais como, permeabilidade ao vapor de água, permeância a gases e características de sorção (MALI *et al.*, 2005).

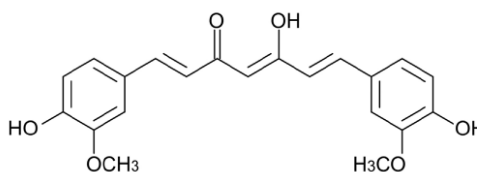
A água é o plastificante mais comumente utilizado, porém produz filmes com pouca aplicação, especialmente devido à fragilidade resultante da rápida retrogradação. Usualmente, os plastificantes mais eficazes possuem estrutura semelhante à do polímero que eles plastificam. Nesse caso, os plastificantes mais empregados em filmes à base de amido são polióis, como o glicerol e o sorbitol (LIU *et al.*, 2009; MALI *et al.*, 2005).

O amido é um biopolímero promissor para aplicações na área biomédica, como na confecção de curativos, já que é um material biocompatível, de baixo custo, amplamente disponível e que permite a obtenção de materiais biodegradáveis. O amido não apresenta atividade antimicrobiana em seu estado nativo e deve, portanto, ser funcionalizado com agentes antimicrobianos para prevenir infecções. Alguns estudos relatam melhoras nas propriedades dos materiais produzidos com amido pela incorporação de outros biopolímeros, como, por exemplo, a quitosana (NASERI-NOSAR e ZIORA, 2018; HADISI, NOURMOHAMMADI e NASSIRI, 2018; LUCHESE *et al.*, 2018a).

2.5 CÚRCUMA

Os curcuminoides são constituintes polifenólicos de baixa massa molar que podem ser isolados dos rizomas da *Curcuma longa*, da família *Zingiberaceae*. A curcumina, representada na Figura 2.2, é um pigmento amarelo e o principal composto ativo presente na planta (VENKATASUBBU e ANUSUYA, 2017).

Figura 2.2 Representação da estrutura química da curcumina (Fonte: VENKATASUBBU e ANUSUYA, 2017).



Alguns estudos relatam que cerca de 3,6 % de feridas expostas por menos de 30 min são infectadas, enquanto para tempos mais longos de exposição (mais de 5 h) ocorre um aumento no índice de infecção de aproximadamente 16,4 % (TUMMALAPALLI *et al.*, 2016). Portanto, na confecção de curativos interativos é recomendado realizar a incorporação de agentes antimicrobianos na matriz

polimérica, de maneira que esses componentes bioativos sejam capazes de interagir com as bactérias no local da ferida evitando sua proliferação. Dentre os agentes bacterianos fornecidos pela natureza, a cúrcuma é um dos mais facilmente disponíveis (TUMMALAPALLI *et al.*, 2016).

Este composto natural ganhou popularidade devido a sua notável aplicabilidade no tratamento de uma variedade de condições inflamatórias. Além de suas atividades terapêuticas excepcionais contra uma ampla variedade de doenças, a curcumina também é conhecida por acelerar a cicatrização de feridas, aplicação esta que tem recebido grande atenção nas duas últimas décadas. Estudos apontaram que membranas incorporadas com curcumina em quantidades variáveis exibem excelente atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (ANJUM *et al.*, 2016; HUSSAIN *et al.*, 2017).

Outras propriedades farmacológicas importantes do composto fenólico incluem fortes atividades antioxidantes, sequestro de radicais livres, atividades anti-infecciosas e anti-inflamatórias. Em relação à atividade antioxidante, a curcumina é muito conhecida por apresentar atividade comparável às vitaminas C e E sendo, portanto, capaz de aliviar as tensões oxidativas no local da ferida (HUSSAIN *et al.*, 2017; TUMMALAPALLI *et al.*, 2016).

2.6 CONSIDERAÇÕES

Diante do contexto discutido, optou-se pela união de dois polímeros biodegradáveis e de fonte renovável: amido e quitosana na confecção dos filmes para possível aplicação como curativo, devido às suas propriedades, características e ao baixo impacto ambiental relacionado à sua utilização e disposição final. A adição da cúrcuma como composto bioativo justifica-se pelas suas importantes atividades farmacológicas. Os filmes foram produzidos em escala laboratorial, pela técnica de *casting*, que consiste no espalhamento da solução polimérica em pequenos moldes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo tem por objetivo apresentar os materiais utilizados e a metodologia empregada na fase experimental do trabalho. Serão detalhadas as formulações, a técnica de fabricação dos filmes, as análises e os equipamentos utilizados para a caracterização das amostras. O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios LATEM (Laboratório de Tecnologia de Embalagens e Desenvolvimento de Membranas) e LASEM (Laboratório de Processos de Separação por Membranas) pertencentes ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Alguns testes de caracterização foram realizados no LAPFA (Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos) no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, também pertencente à UFRGS.

3.1 MATÉRIAS-PRIMAS

Utilizaram-se como principais matérias-primas dois biopolímeros comerciais: amido e quitosana. O amido de milho foi adquirido da empresa Delaware (RS, Brasil). O mesmo apresenta umidade percentual de $13,5 \pm 0,3$ % e percentual de amilose de aproximadamente 28,5 % (LUCHESE, SPADA e TESSARO, 2017). A quitosana foi adquirida da empresa Sigma-Aldrich e possui grau de desacetilação de 76 %. Para solubilização da quitosana, foi utilizada uma solução de ácido láctico PA (Synth, SP, Brasil). A cúrcuma, utilizada como agente bioativo, foi adquirida no Mercado Público de Porto Alegre (Porto Alegre, RS, Brasil). Foi utilizado glicerol grau PA (Nuclear, SP, Brasil) na preparação da solução de amido. Todas as matérias-primas ficaram estocadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C).

3.2 OBTENÇÃO DOS FILMES

As formulações utilizadas para o desenvolvimento dos filmes de amido e das estruturas de quitosana, sem adição de cúrcuma, foram previamente testadas e avaliadas por LUCHESE *et al.* (2018b). Para a preparação da solução de amido foram utilizados 3 g de amido de milho, 0,9 g do plastificante glicerol (30 % em massa em relação à massa de amido) e 100 mL de água destilada. As quantidades foram determinadas em balança analítica (Bel Engineering M214Ai) e o volume de água foi medido em proveta volumétrica. Os reagentes foram homogeneizados em

béquer com auxílio de um bastão de vidro e permaneceram em um banho na temperatura de 90 °C sob agitação constante durante 30 min para gelatinização do amido.

Na formulação da solução de quitosana foram utilizados 0,5 g de quitosana e 100 mL de solução de ácido láctico 1 % (v/v). A massa de quitosana foi determinada em balança analítica e o volume de ácido medido em proveta. Os reagentes permaneceram sob agitação durante 24 h para a completa solubilização da quitosana. Foram preparadas seis diferentes formulações para o desenvolvimento dos filmes, conforme descrito na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Composição das formulações estudadas e respectiva sigla para identificação das amostras.

FORMULAÇÃO	SIGLA
Solução de Quitosana	Q
Solução de Amido	A
Solução de Quitosana e Amido (1:1, v/v)	Q_A
Solução de Quitosana e Cúrcuma	Q_C
Solução de Amido e Cúrcuma	A_C
Solução de Quitosana, Amido e Cúrcuma (1:1, v/v)	Q_A_C

Nos filmes de amido com incorporação do agente bioativo foram adicionados 0,3 g de cúrcuma para cada 100 mL de solução de amido de milho. A cúrcuma foi adicionada antes da gelatinização do amido, de maneira a proporcionar uma melhor dispersão na matriz polimérica. Para as formulações contendo os dois biopolímeros (amido e quitosana) com adição de cúrcuma, foram misturados 100 mL de cada solução, totalizando 200 mL; neste caso, a concentração de cúrcuma foi de 0,15 g de cúrcuma para 100 mL de solução. No caso da formulação contendo somente quitosana e cúrcuma, também foram adicionados 0,3 g a cada 100 mL de solução de quitosana.

Os filmes foram produzidos pela técnica de *casting*. As soluções foram dispostas em placas de Petri de polietileno e diferentes massas foram pesadas (14 g, 19 g e 30 g, obtendo-se gramaturas de 0,2; 0,34 e 0,4 g cm⁻², respectivamente) de modo a obter gramaturas adequadas para a posterior execução

das análises de caracterização. Todas as placas contendo as soluções foram colocadas em estufa (DeLeo, Brasil) a 35 °C, durante 24 h para a secagem e, posteriormente, foram dispostas em uma câmara com atmosfera controlada (T ~ 25 °C e UR ~ 55 %) É importante ressaltar que cada 100 mL de solução permite preencher cerca de 8 placas de Petri (dependendo da gramatura utilizada). Além disso, cada formulação filmogênica, conforme disposto na Tabela 1, foi produzida em triplicata, totalizando 24 amostras disponíveis para a realização das análises, que serão descritas a seguir.

3.3 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

3.3.1 Análise morfológica

Através de microscopia óptica metalográfica (Microscópio Metalográfico Serie Bioptika B100) foi possível examinar e comparar a estrutura morfológica das diferentes formulações dos filmes. As imagens das amostras foram capturadas nos modos refletância e transmitância em uma escala de magnificação de 5 vezes. Pelo menos, duas amostras foram analisadas a fim de verificar a reprodutibilidade da técnica utilizada. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻².

3.3.2 Espessura

Para todas as formulações foram determinadas as espessuras utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo, modelo IP 65, Japão). As medições foram feitas em 6 pontos aleatórios de 1 amostra de cada formulação e determinou-se a média e o desvio padrão dos valores encontrados. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻².

3.3.3 Teor de umidade

O teor de umidade das amostras foi determinado pela metodologia AOAC 930.04 (AOAC, 1990). Foram utilizadas pelo menos 3 amostras de cada formulação com dimensões de 2,5 cm de comprimento e 2,5 cm de altura. O método é baseado na determinação da diferença de massa (Bel Engineering M214Ai) das amostras após as mesmas permanecerem em estufa por um período de 24 h na temperatura

de 105 °C. Através da medida gravimétrica é possível determinar o teor de umidade em base seca. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻².

3.3.4 Solubilidade em água

Através do método proposto por HOSSEINI, RAZAIVI e MOUSAVI (2009) determinou-se a solubilidade das amostras em água. Foram utilizadas pelo menos 3 amostras (aproximadamente 6,2 cm²) de cada formulação. Para tanto, as amostras foram imersas em copos de béquer contendo aproximadamente 50 mL de água destilada durante 24 h. O experimento foi realizado sob temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C). Após esse período, as amostras foram removidas da água, dispostas em cápsulas de alumínio e colocadas novamente em estufa por 24 h na temperatura de 105 °C. Posteriormente, as cápsulas foram colocadas em dessecador para evitar incorporação de umidade até que as mesmas atingissem a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C). O teor de umidade é então obtido a partir da relação entre a massa inicial da amostra e a massa após a secagem estufa. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻².

3.3.5 Caráter hidrofílico

O caráter hidrofílico das amostras foi determinado por medidas de ângulo de contato (método da gota séssil) utilizando 1 amostra de cada formulação. Fotografias das amostras foram obtidas após o gotejamento de água na superfície dos filmes e o ângulo de contato foi determinado utilizando-se o software Image J (domínio livre). O método para determinação do caráter hidrofílico consiste basicamente na deposição, com auxílio de uma microsseringa, de uma gota de água deionizada sobre a amostra a ser analisada. Verifica-se então o ângulo de contato formado na interface sólido, líquido e ar. Baixos ângulos de contato (menores que 90 °) indicam que a amostra possui maior afinidade pela água, podendo classificá-la como hidrofílica. Ângulos superiores a 90 ° indicam baixa afinidade pela água e, nesse caso, as amostras podem ser classificadas como hidrofóbicas (LAZGHAB *et al.*, 2005). Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻².

3.3.6 Absorção de água

A determinação da absorção de água foi realizada com base na norma ASTM D 570 (1998). Amostras com dimensões de 2,5 cm de comprimento por 2,5 cm de altura tiveram suas massas previamente determinadas e foram submersas em copos de béquer contendo aproximadamente 100 mL de água destilada durante diferentes intervalos de tempo (2,5; 5; 10; 15; 30; 60; 90 e 120 min). Em cada tempo, as amostras eram retiradas, o excesso de água era removido com papel absorvente e a massa das amostras era determinada em balança analítica (Bel Engineering M214Ai); após, as amostras eram novamente colocadas na água e o procedimento foi repetido para cada tempo. Aquelas amostras cuja estrutura apresentou desintegração visual aparente, ou nos casos em que as medidas de massa estabilizaram antes do término do tempo indicado, tiveram suas massas determinadas até o período em que foi possível. A análise foi realizada para, pelo menos, 3 amostras de cada formulação. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de $0,4 \text{ g cm}^{-2}$.

3.3.7 Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos filmes foram avaliadas por análise termogravimétrica (TGA). Uma amostra de cada formulação foi analisada. Essa técnica consiste na determinação da variação da massa da amostra com a temperatura em uma termobalança. Este equipamento combina uma microbalança eletrônica com um forno, associado a um programador de temperatura (LUCAS, SOARES e MONTEIRO, 2001). Para esta análise utilizou-se a termobalança de marca Instrument: SDT Q600 V20.9 Build 20 e as amostras foram aquecidas de 25 °C a 800 °C , a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} em atmosfera de gás nitrogênio a uma vazão de 20 mL min^{-1} . A técnica fornece dados quantitativos a respeito da cinética de decomposição térmica do material, possibilitando a avaliação da estabilidade térmica das amostras (CROMPTON, 2013). Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de $0,34 \text{ g cm}^{-2}$.

3.3.8 Análise de atividade antimicrobiana

Testes qualitativos para verificação da atividade antimicrobiana dos filmes foram realizados em duplicata para cada uma das formulações utilizando amostras de 1,5 cm de diâmetro. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de $0,4 \text{ g cm}^{-2}$. Em placas de Petri contendo Agar Padrão (PCA) (Merck Millipore, Germany) foram espalhados 0,1 mL de uma suspensão de *Staphylococcus aureus*, organismos aeróbios gram-positivos e que fazem parte da microbiota humana (ATCC 25923), preparada em 0,1 % (w/v) de uma solução de peptona bacteriológica (BD Biosciences, USA). As amostras dos filmes foram então dispostas sobre as placas e incubadas (TE381, Tecnal Equipamentos Científicos, Brazil) na temperatura de 37 °C por 24 h. Ao final do ensaio, avalia-se o crescimento microbiano na superfície das amostras e/ou a presença de *halo* de inibição de crescimento de microrganismos.

3.3.9 Adesividade

A maioria das metodologias encontradas na literatura para a análise de adesividade está baseada na avaliação da força de adesão, isto é, a força necessária para o rompimento da ligação entre uma amostra modelo e o material adesivo. A análise de adesividade foi realizada com base na metodologia descrita pela FINAT, método número 2 e conduzida em um texturômetro (Stable Micro System, modelo TA.XT Plus) utilizando uma superfície modelo. Foram utilizados 4 corpos de prova de cada formulação com dimensões de 60 mm de altura por 25 mm de largura. O equipamento avalia a força necessária para remoção completa dos filmes da superfície modelo (pele suína) utilizando uma velocidade constante. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de $0,34 \text{ g cm}^{-2}$.

3.3.10 Testes de migração

Para avaliar a migração do composto bioativo da matriz dos filmes fabricados, foram realizados ensaios de migração para todas as formulações que tiveram incorporação de cúrcuma. Três amostras de cada formulação com dimensões de 2,5 cm de comprimento e 2,5 cm de altura foram imersas em solução tampão de PBS (Phosphate buffered saline) com pH 7,4 durante 7 dias na temperatura de

35 °C, conforme metodologia adaptada de PERUMAL *et al.* (2017). Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻². A solução de PBS foi selecionada a fim de expor os filmes a uma solução com composição e concentração salina próxima à do corpo humano (GIRATTA, 2011). A solução de PBS foi preparada dissolvendo-se 800 g de NaCl, 20 g de KCl, 144 g de Na₂HPO₄ e 24 g de KH₂PO₄ em 8 L de água destilada. Após completa solubilização, o volume final da solução foi levado ao volume de 10 L, adicionando-se água destilada; o pH da solução final é de 6,8. Para realização dos testes, diluiu-se a solução em 10x e determinou-se o pH com o pHmetro (Digimed DM20) cujo valor atingiu 7,4 conforme esperado.

Após o período de imersão previamente estabelecido, os filmes foram removidos e a absorvância das soluções foi determinada através de medidas em espectrofotômetro UV – vis (PG Instruments, modelo T80) fazendo-se uma varredura entre os comprimentos de onda de 200 e 800 nm.

3.3.11 Propriedades mecânicas

A fim de avaliar as propriedades mecânicas, as amostras foram submetidas à análise de tração em texturômetro (Stable Micro System, modelo TA.XT Plus), utilizando-se como base a norma ASTM D882-12 (2012). A partir desta análise foi possível determinar valores de tensão de ruptura (MPa), percentual de alongamento (%) e módulo de elasticidade (MPa) para as amostras das formulações Q_A e Q_A_C. Foram feitos testes utilizando 5 corpos de prova. Para estas análises utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻². A tensão de ruptura refere-se à resistência que o material oferece no ponto de ruptura. O alongamento trata-se da relação percentual entre o alongamento do corpo de prova e o seu comprimento inicial. Por fim, o módulo de elasticidade, também conhecido como módulo de Young, é um indicativo da rigidez do filme relacionando a tensão e a alongação na região elástica, na qual a resposta do filme à deformação é crescente e linearmente proporcional à tração a qual é submetido (SARANTOPÓULOS *et al.*, 2002). Nos ensaios realizados utilizaram-se corpos de prova de dimensões fixas (60 mm de altura por 25 mm de largura) e espessuras inferiores a 1 mm. A separação inicial das garras utilizada foi de 50 mm. As mesmas foram separadas a uma velocidade constante de 0,8 mm s⁻¹.

3.3.12 Permeabilidade ao vapor de água

A determinação da permeabilidade ao vapor de água foi realizada com base na norma ASTM E96 (2000). As amostras foram dispostas em células de permeação de alumínio previamente preenchidas com sílica gel, cuja umidade relativa é de aproximadamente 0 %. Para que seja possível a transferência de vapor de água, um diferencial de pressão de vapor de vapor deve ser estabelecido. Para tanto, as células foram colocadas em uma câmara de vidro com condições controladas de temperatura e umidade relativa (aproximadamente 70 % em virtude da presença de solução saturada de cloreto de sódio). A análise foi realizada para, pelo menos, 3 amostras de cada formulação. Durante a análise as temperaturas ficaram entre 20 °C e 25 °C e a umidade relativa do equilíbrio entre 55 e 65 %. As amostras permaneceram na câmara por períodos de 24 h ou 48 h e o ganho de massa depois de atingido o equilíbrio foi determinado (Bel Engineering M214Ai). Utilizou-se como padrão filmes contendo gramatura de 0,34 g cm⁻². A permeabilidade ao vapor de água foi então calculada utilizando a seguinte equação:

$$PVA = \frac{w}{t APVA} \frac{e}{ps(UR1 - UR2)}$$

sendo:

PVA: permeabilidade ao vapor de água (g mm h⁻¹ m⁻² kPa⁻¹); *w*: massa de água que permeou através do filme (g); *t*: tempo total de permeação (h); *APVA*: área de permeação (m²); *ps*: pressão de saturação do vapor de água na temperatura de análise (kPa); *UR1*: umidade relativa no interior da câmara (%); *UR2*: umidade relativa no interior das cápsulas de permeação (%); *e*: espessura média das amostras (mm).

3.3.13 Análise estatística

Para avaliar a significância das diferenças entre as amostras foi realizada uma análise estatística. Para tanto, o teste de Tukey foi utilizado para múltiplas comparações no software STATISTICA 13 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA) com nível de confiança de 95 %.

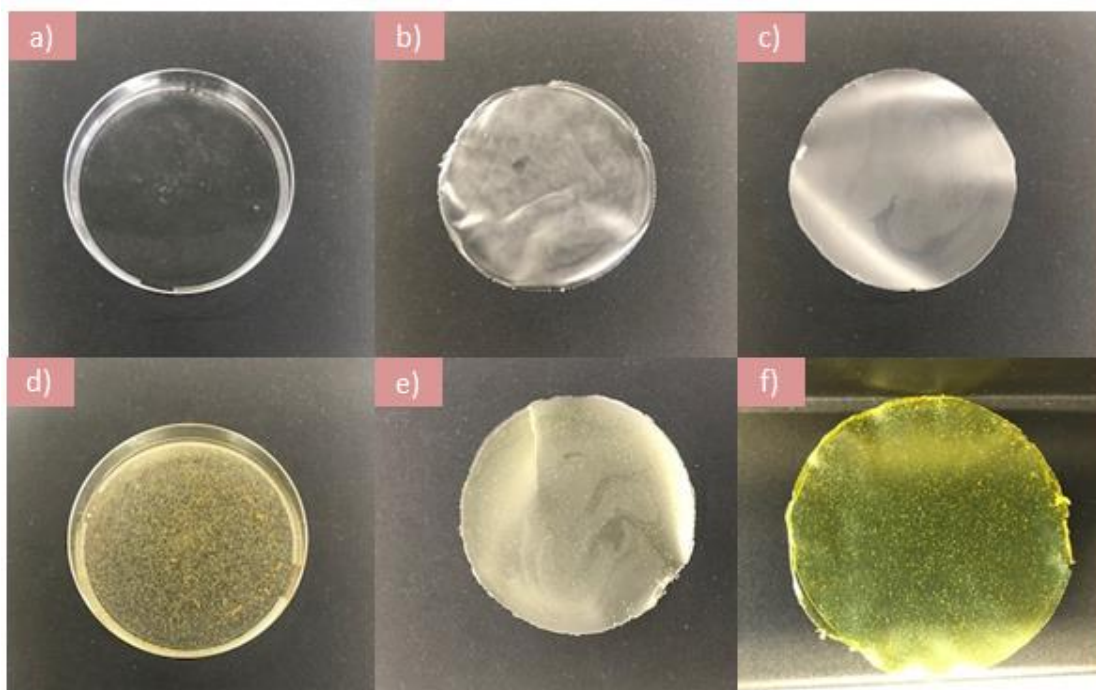
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente capítulo serão apresentados e discutidos os resultados das análises de caracterização descritas nos materiais e métodos.

4.1 ASPECTO VISUAL E MORFOLOGIA

Na Figura 4.1 estão apresentadas as fotografias dos filmes produzidos. Macroscopicamente, a partir de uma análise visual, pode-se dizer que as formulações que não continham o agente bioativo formaram filmes mais homogêneos. Também pode ser observado que a presença do agente bioativo nos filmes confere uma coloração amarela, característica da curcumina (VENKATASUBBU e ANUSUYA, 2017).

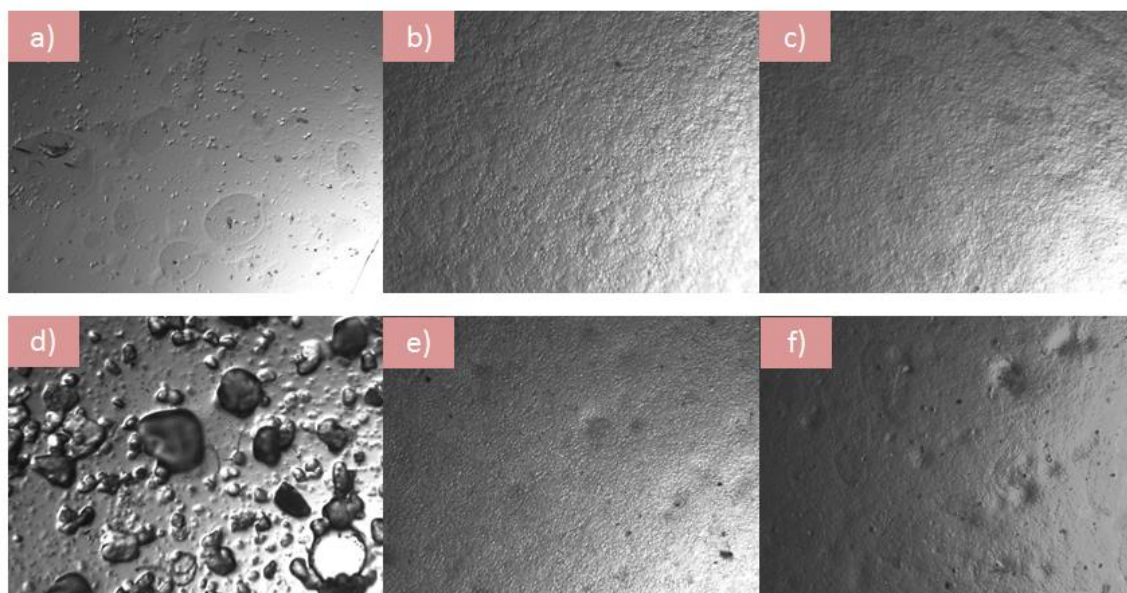
Figura 4.1 Aspecto visual dos filmes: (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma.



Na Figura 4.2 são apresentadas as imagens obtidas através da análise de morfologia em microscópio óptico para todas as amostras. Pode-se perceber que as partículas de cúrcuma apresentaram dispersão mais homogênea nas formulações contendo amido. Provavelmente, este resultado está relacionado com o fato de que,

nos filmes com amido, a cúrcuma foi adicionada antes do processo de gelatinização, possibilitando melhor dispersão na matriz polimérica. A comparação entre as imagens das figuras 4.2 (a) e (d) evidencia a diferença na morfologia dos filmes de quitosana sem e com incorporação de cúrcuma. Além disso, todas as formulações contendo o agente bioativo apresentaram maior heterogeneidade do que a respectiva formulação sem cúrcuma, o que também pode ser visualizado na Figura 4.2, corroborando os resultados de aspecto visual apresentados na Figura 4.1

Figura 4.2. Análise de morfologia por microscopia óptica por transmitância com aproximação de 5x. (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma.



4.2 PROPRIEDADES FÍSICAS

Os resultados das análises de caracterização física, tais como espessura, teor de umidade, solubilidade em água, ângulo de contato e absorção de água para todas as formulações estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Resultados das análises de propriedades físicas: espessura (mm), teor de umidade (%), solubilidade em água (%), ângulo de contato (°) e absorção de água (%) para todas as formulações.

	Espessura (mm)	Teor de umidade (%)	Solubilidade em água (%)	Ângulo de Contato (°)	Absorção de água (%)
Q	0,04 ± 0,01 ^c	51 ± 2 ^a	Solúvel	93 ± 3 ^a	Solúvel
Q_C	0,08 ± 0,01 ^b	41 ± 2 ^b	Solúvel	72 ± 2 ^b	Solúvel
A	0,12 ± 0,01 ^a	28 ± 1 ^c	17 ± 1 ^b	54 ± 1 ^c	199 ± 1 ^b
A_C	0,14 ± 0,02 ^a	26 ± 1 ^c	17 ± 1 ^b	95 ± 2 ^a	93 ± 1 ^b
Q_A	0,09 ± 0,01 ^b	38 ± 2 ^b	22 ± 1 ^a	78 ± 1 ^b	1841 ± 1 ^a
Q_A_C	0,08 ± 0,01 ^b	38 ± 1 ^b	19 ± 1 ^a	92 ± 3 ^a	1939 ± 5 ^a

* Letras distintas na mesma coluna indicam que houve diferença estatística pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). Siglas referentes às formulações de Q: quitosana, Q_C: quitosana e cúrcuma, A: amido, A_C: amido e cúrcuma, Q_A: quitosana e amido, Q_A_C: quitosana, amido e cúrcuma.

Comparando os filmes Q e A, contendo somente quitosana ou amido na formulação, respectivamente, percebe-se que o filme de quitosana apresenta menor valor de espessura, mesmo tendo sido disposta a mesma quantidade de massa nas placas de Petri durante o processo de *casting*. Esse comportamento também pode ser verificado nos filmes de amido e quitosana, que apresentaram espessura intermediária entre os filmes contendo os biopolímeros individualmente. Este resultado está relacionado com a baixa concentração do polímero em solução (0,5 g de quitosana em 100 mL), acarretando em dificuldades no manuseio dos filmes de quitosana em comparação com as formulações contendo amido.

O aumento da espessura pela adição de cúrcuma foi perceptível somente nos filmes de quitosana, provavelmente devido à baixa dispersão do agente bioativo na matriz polimérica. Os valores de espessura encontrados para os filmes de amido e quitosana foram semelhantes aos relatados por outros autores (LUCHESE *et al.*, 2018b e BANGYEKAN, AHT-ONG e SRIKULKIT, 2016).

Em relação ao teor de umidade, observou-se que os filmes de quitosana apresentaram os maiores valores (aproximadamente 50%). Em parte, esse resultado pode estar relacionado com a permanência do ácido láctico, utilizado na solubilização da quitosana, na estrutura do filme após a secagem (PAVONI, 2018). A estrutura da macromolécula de quitosana contém grupos amino, caracterizados por ligações covalentes N-H. A eletronegatividade dessas ligações gera sítios de

elevada polaridade, favorecendo o rearranjo de moléculas de águas nas proximidades. A presença constante de umidade na estrutura desse polissacarídeo provoca o inchamento da matriz e conseqüente desagregação (ASSIS, 2010). Este comportamento é confirmado pelos elevados percentuais de absorção de água obtidos para os filmes de amido e quitosana, independente da adição de cúrcuma (Q_A: 1841 % e Q_A_C: 1939 %); como também, com o resultado da análise de solubilidade em água dos filmes de quitosana e quitosana com cúrcuma. Percentuais de absorção de água de 2000 % foram encontrados para curativos feitos de alginato, valor semelhante ao encontrado no presente trabalho para filmes de quitosana e amido com e sem cúrcuma (MOGOSANU e GRUMEZESCU, 2014).

Observou-se que a adição do composto bioativo diminuiu o teor de umidade do filme de quitosana. Segundo CARVALHO (2014), apesar de suas diversas atividades farmacológicas, a curcumina apresenta a desvantagem de possuir pouca afinidade com a água, o que provavelmente promoveu a diminuição da umidade dos filmes. Para as demais formulações, a adição do composto bioativo não influenciou nesta propriedade.

Nos filmes de amido, o teor de umidade é principalmente influenciado pela quantidade de plastificante adicionado, visto que o mesmo favorece a adsorção de água na matriz do filme, formando ligações de hidrogênio (MALI, KARAM e PEREIRA-RAMOS, 2004, CHANG *et al.*, 2006; GODBILLOT *et al.*, 2006, MÜLLER *et al.*, 2009). Valores similares de umidade e solubilidade para filmes de amido de milho foram encontrados por LUCHESE, SPADA e TESSARO (2017). Os filmes de amido e quitosana apresentaram maiores valores de umidade e solubilidade em relação aos filmes de amido, provavelmente devido às características da quitosana.

O caráter hidrofílico dos filmes pode influenciar a capacidade de retenção de água. Filmes mais hidrofóbicos possuem poucos sítios disponíveis para a sorção de água em sua matriz polimérica, aumentando a resistência à transferência de vapor de água (CHENG *et al.*, 2008; VALENZUELA *et al.*, 2013). A hidrofilicidade também melhora facilita a liberação controlada do agente incorporado (PERUMAL *et al.*, 2017).

O filme de amido de milho apresentou características hidrofílicas, com ângulo de contato de 54 °. Ângulos de contato variando entre 35 ° e 51 ° foram encontrados por LUCHESE (2018) para esse tipo de filme. BIALOPIOTROWICZ (2003) e SILVA *et al.* (2007) também analisaram o ângulo de contato de filmes de amido de milho (4% em massa) utilizando glicerol como plastificante e encontraram valores de $43 \pm 3^\circ$ e $82 \pm 2^\circ$, respectivamente. Um aumento significativo dos valores de ângulo de contato dos filmes com a adição de quitosana (78,4 °) foi verificado, indicando uma menor afinidade desses filmes pela água em comparação com o filme de amido (54 °). A adição de cúrcuma tanto nos filmes de amido como nos filmes de amido e quitosana promoveu uma redução do caráter hidrofílico dessas amostras, visto que esse composto bioativo possui características hidrofóbicas (PEREIRA e STRINGHETA, 1998).

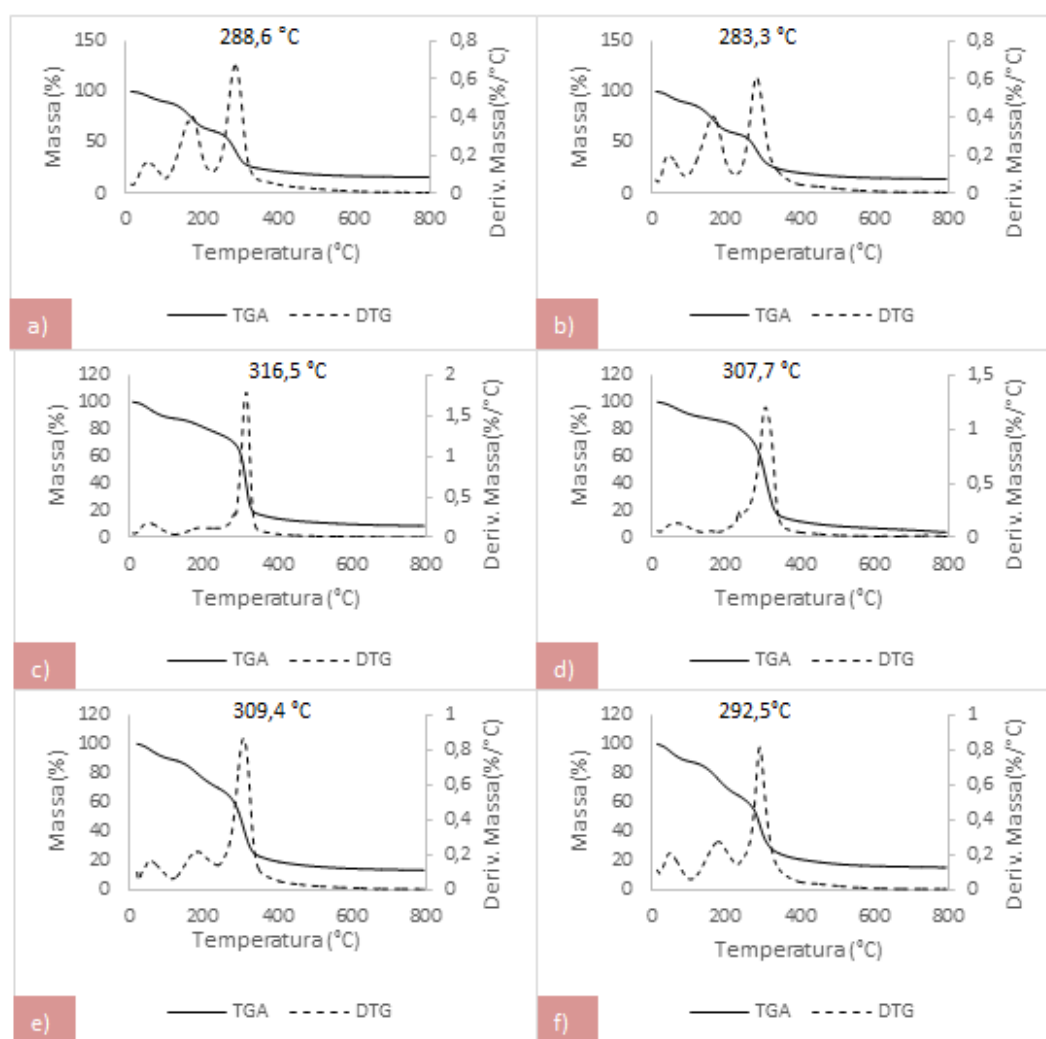
O ácido utilizado na solubilização da quitosana pode influenciar nas propriedades finais. Segundo resultados obtidos por PAVONI (2018), filmes de quitosana preparados com solução de ácido acético apresentaram características hidrofóbicas, enquanto filmes preparados com solução de ácido láctico apresentaram características hidrofílicas, com ângulos inferiores a 90 °. Para o filme de quitosana e para a formulação contendo quitosana, amido e cúrcuma, os ângulos de contato foram superiores a 90 °. No trabalho de PAVONI (2018) foi observado, durante a análise de ângulo de contato, que após um curto período de tempo em contato com a gota de água, o filme sofre deformação, corroborando com os resultados da análise de solubilidade e absorção, nas quais as amostras sofreram inchamento e desintegração, após poucos minutos imersas em água destilada.

Observa-se também que os filmes de amido e quitosana apresentaram maior absorção de água do que os filmes de amido, valores 10 a 20 vezes superiores, o que confirma a elevada afinidade da quitosana pela água. LUCHESE *et al.* (2018b) encontraram valores variando entre 157 % e 177 % de absorção de água para filmes de amido de milho após 1 h de imersão, semelhante ao valor encontrado no presente trabalho.

4.3 PROPRIEDADES TÉRMICAS

As curvas de perda de massa (TGA) e da derivada da perda de massa (DTG) em relação à temperatura para as diferentes formulações estão apresentadas na Figura 4.3.

Figura 4.3. Resultados da análise térmica: (a) filme de quitosana (b) filme de quitosana e cúrcuma (c) filme de amido (d) filme de amido e cúrcuma (e) filme de amido e quitosana (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma.



Pode-se observar que para os filmes contendo quitosana ocorrem três eventos térmicos distintos. O primeiro deles, com uma ligeira perda de massa, refere-se à perda de água. O segundo, à degradação do ácido láctico e o terceiro à máxima perda de massa, correspondente à degradação da quitosana (BRITTO e CAMPANA-FILHO, 2007). Enquanto para os filmes contendo somente o amido, dois eventos térmicos podem ser observados. O primeiro deles novamente está

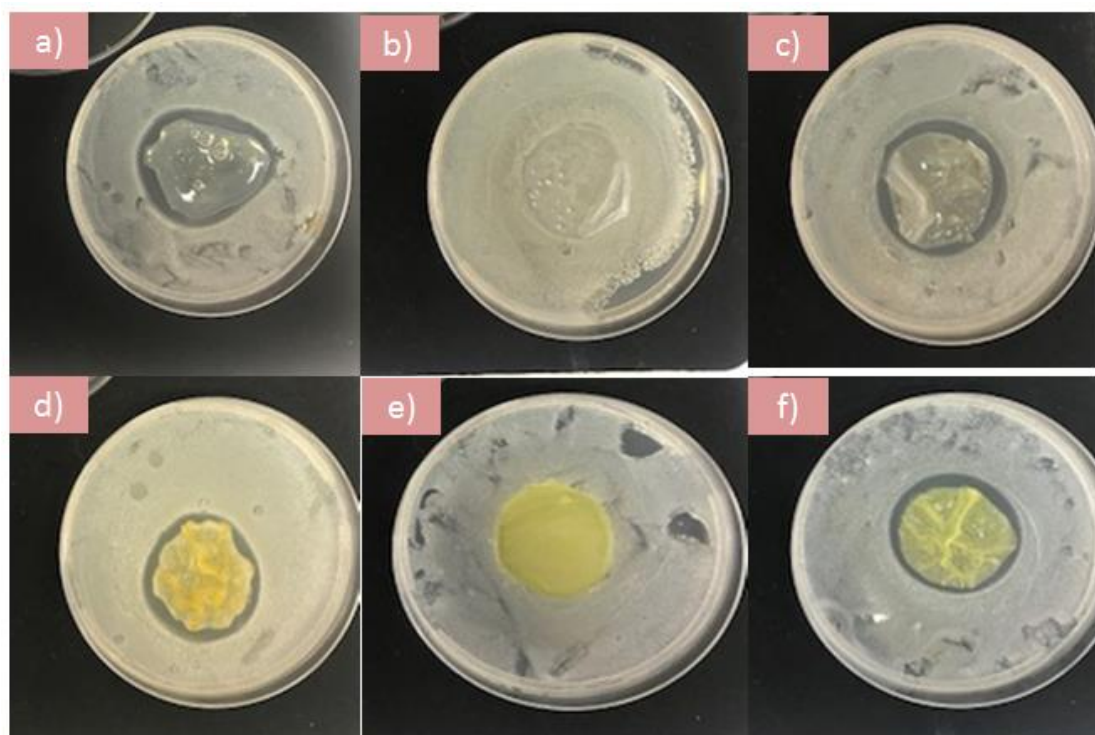
associado à perda de água livre e o segundo relaciona-se com à degradação do amido (SURIYATEM, AURAS e RACHTANAPUN, 2018).

Observou-se que a adição da quitosana ao filme de amido diminuiu a estabilidade térmica, reduzindo a temperatura de máxima degradação de 316,5 °C para 309,4 °C. Além disso, a adição da cúrcuma também diminuiu a estabilidade térmica dos filmes. Ainda, a partir desta análise é possível verificar a máxima temperatura a qual estes materiais podem ser submetidos durante o processo de fabricação e/ou aplicação, de modo a minimizar processos de degradação.

4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Na Figura 4.4 estão apresentados os resultados da análise qualitativa da atividade antimicrobiana após 24 h de incubação das amostras na presença do microrganismo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Figura 4.4. Análise de atividade antimicrobiana após 24 h de incubação: (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma. Os testes foram realizados utilizando *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).



Todos os filmes contendo quitosana na formulação apresentaram a presença de um *halo* de inibição de crescimento do microrganismo, evidenciando a capacidade antibacteriana (*Staphylococcus aureus*) das amostras.

Apesar de diversos estudos relatarem excelentes atividades antimicrobianas para a cúrcuma (ANJUM *et al.*, 2016), os filmes de amido contendo o agente bioativo não apresentaram *halos* de inibição para o microrganismo testado. TUMMALAPALLI *et al.* (2016) estudaram curativos feitos de pectina e gelatina com incorporação de cúrcuma. Para concentrações de 40 % em massa do agente bioativo nos filmes foram percebidas zonas de inibição na análise realizada utilizando o mesmo microrganismo (*S. aureus*). Como a curcumina é hidrofóbica, a lixiviação do meio nutriente circundante é difícil, resultando em pequenas zonas de inibição. Acredita-se, portanto, que o não aparecimento do *halo*, nesse caso, pode ter relação com a baixa concentração de cúrcuma nos filmes desenvolvidos. Sendo assim, o aparecimento dos *halos* de inibição nas amostras apresentadas na Figura 4.4 (a), (c), (d) e (f) ocorreu devido à presença de quitosana na formulação.

4.5 ADESIVIDADE DOS FILMES

Filmes de quitosana têm sido muito empregados como bioadesivos, expressão que caracteriza polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, capazes de unir duas superfícies, sendo pelo menos uma delas um tecido vivo. Os filmes de quitosana podem ser então aplicados no recobrimento de feridas cutâneas, por serem excelentes muco-adesivos que aderem em tecidos duros e moles (MATI-BAOUCHE *et al.*, 2014).

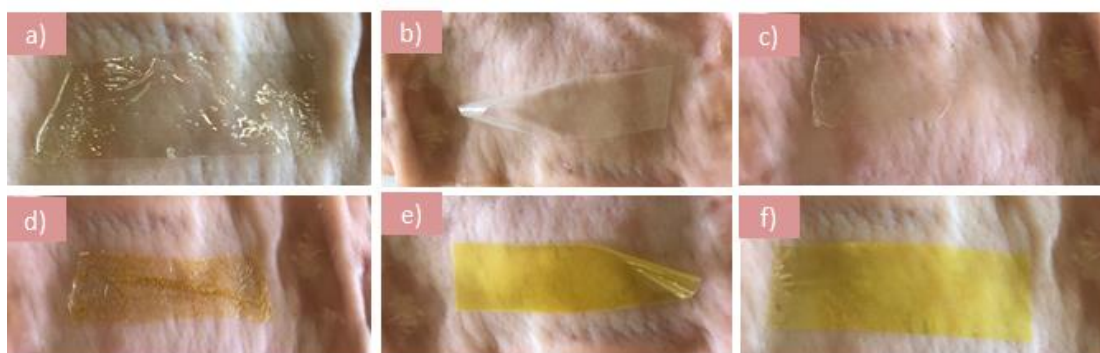
Durante a realização da análise de adesividade no texturômetro foram encontradas algumas dificuldades, uma vez que o equipamento era pouco sensível às baixas forças medidas. Os filmes de quitosana e amido (Q_A) foram os que apresentaram maior adesividade, com forças variando entre 0,6 N e 0,7 N. Os filmes de quitosana, amido e cúrcuma (Q_A_C) foram os segundos com maior aderência, porém com forças bem menores que o caso anterior, entre 0,25 N e 0,3 N.

Na Figura 4.5 estão apresentadas as fotografias ilustrando de forma qualitativa a adesão dos materiais desenvolvidos em contato com a pele suína. Verifica-se que os filmes de amido-quitosana (Figura 4.5c) e amido-quitosana-

cúrcuma (Figura 4.5f) permanecem bem aderidos à mucosa suína, enquanto os filmes de amido (Figura 4.5b) e amido com cúrcuma (Figura 4.5e) desprendem-se da pele em poucos segundos. Para esses casos, o equipamento não reproduziu adequadamente as forças, uma vez que os filmes descolaram do corpo de prova antes do início da análise.

Como pode ser confirmado pelas imagens, os filmes de quitosana (Figura 4.5a) e quitosana com cúrcuma (Figura 4.5d) aderem à mucosa. No entanto, devido à elevada elasticidade desses filmes, a análise de adesividade no texturômetro foi prejudicada. À medida que a garra se afastava da pele suína segurando o filme, este sofria deformação. Nesse caso, a força medida permaneceu praticamente constante e quase nula, não sendo possível mensurar a adesividade dessas amostras.

Figura 4.5. Avaliação qualitativa da adesividade dos filmes. (a) filme de quitosana (b) filme de amido (c) filme de quitosana e amido (d) filme de quitosana e cúrcuma (e) filme de amido e cúrcuma (f) filme de quitosana, amido e cúrcuma.



4.6 ENSAIO DE MIGRAÇÃO

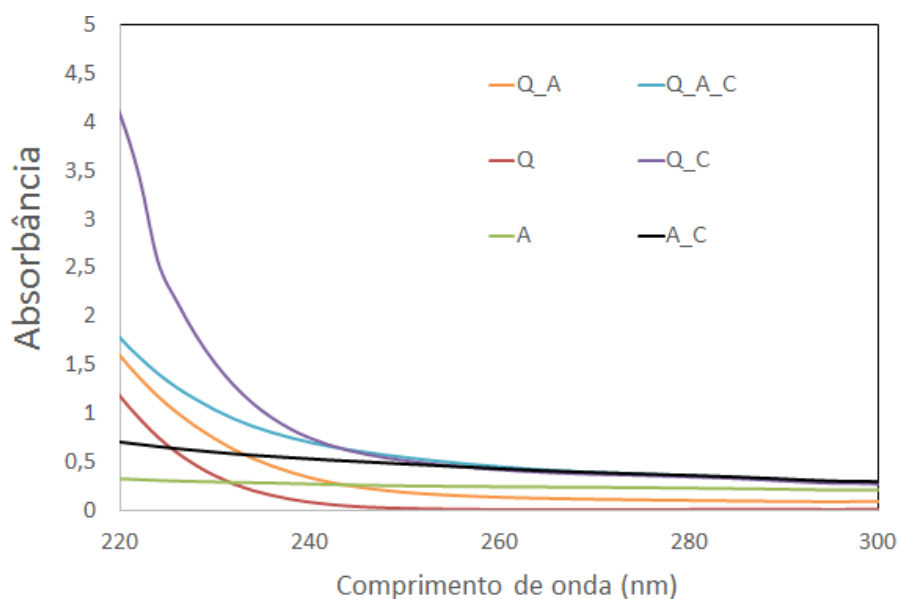
Devido às propriedades farmacológicas de interesse da cúrcuma para a aplicação de curativos, faz-se necessário avaliar a migração dos compostos presentes no agente bioativo. Após 7 dias de imersão, as soluções de PBS em contato com os filmes contendo cúrcuma apresentaram coloração ligeiramente amarelada, indicando que provavelmente houve migração da curcumina, pigmento amarelo e principal composto ativo presente na planta (VENKATASUBBU e ANUSUYA, 2017).

Na Figura 4.6 está apresentada a variação da absorbância em função do comprimento de onda para cada solução tampão de PBS após imersão dos diferentes filmes, conforme descrito no Capítulo 3 (seção 3.3.10). É possível perceber que as soluções que continham os filmes incorporados com cúrcuma, em comparação com seus respectivos filmes sem a presença do agente bioativo, apresentaram maior intensidade de absorbância. Este fato indica que, provavelmente, ocorreu a migração de algum composto da matriz do filme para a solução de PBS.

PERUMAL *et al.* (2017) constataram a liberação de $21 \mu\text{g mL}^{-1}$ do agente bioativo em curativos feitos à base de poli(ácido láctico) e cúrcuma, após 72 h em contato com solução de PBS na temperatura de 37°C .

Estudos realizados por TUMMALAPALLI *et al.* (2016) constataram um mecanismo de liberação bifásica em filmes de gelatina e pectina incorporados com cúrcuma. Segundo os autores, o agente bioativo difunde através da matriz quando a estrutura da rede está inchada, ocorrendo a erosão da matriz biopolimérica seguida pela difusão do fármaco. Foi verificada também uma liberação inicial acentuada, seguida de liberação constante, sendo um mecanismo esperado para o efetivo controle e prevenção das diversas etapas de cura de um ferimento.

Figura 4.6. Valores de absorbância em função dos diferentes comprimentos de onda para os filmes de quitosana (Q), amido (A), quitosana-amido (Q_A), quitosana-cúrcuma (Q_C), amido-cúrcuma (A_C) e quitosana-amido-cúrcuma (Q_A_C).



Tendo como base os resultados discutidos até o momento, as análises de propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água foram realizadas somente para os filmes de quitosana e amido (Q_A) e quitosana, amido e cúrcuma (Q_A_C), dado que as essas formulações apresentaram os resultados mais promissores e elevado potencial para uma possível aplicação como curativo.

4.7 PROPRIEDADES MECÂNICAS E BARREIRA AO VAPOR DE ÁGUA

Na Tabela 4.2 são apresentados os resultados das análises de propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. A inserção da cúrcuma nos filmes não alterou os valores de tensão, alongação na ruptura e módulo elástico dos filmes.

LUCHESE *et al.* (2018b) encontraram valores similares de alongamento da tração (108 ± 7 %) para filmes de amido e quitosana. No entanto, obtiveram maiores valores de tensão na ruptura ($5,3 \pm 0,8$ MPa) e módulo elástico (44 ± 11 MPa), provavelmente devido a utilização de diferentes quantidades de amido e quitosana nas soluções poliméricas. Segundo PEH, KHAN e CH'NG (2000), o ácido láctico age como plastificante, produzindo filmes mais elásticos.

LUCHESE (2018) obteve valores para tensão de ruptura, alongamento da tração e módulo elástico para filmes de amido de milho de aproximadamente 2,9 MPa, 103 % e 48 MPa, respectivamente. Enquanto PAVONI (2018) obteve valores para tensão de ruptura, alongamento da tração e módulo elástico para filmes de quitosana com ácido láctico de aproximadamente 1,05 MPa, 202 % e 0,83 MPa, respectivamente. Valores intermediários a esses foram encontrados no presente trabalho, indicando que houve interação entre os materiais. PELISSARI *et al.* (2009) relataram significativa redução no módulo elástico em filmes de amido de milho quando incorporados com quitosana solubilizada com ácido láctico.

SHOJAEI *et al.* (2015) encontraram valores inferiores, em comparação com o presente trabalho, de tensão de ruptura e alongamento (0,4 MPa e 64 %, respectivamente) para filmes de ovalbumina para aplicação como curativos. A flexibilidade dos filmes é fundamental para permitir a conformação de superfícies irregulares da lesão cutânea (SHOJAEI *et al.*, 2015).

WANG *et al.* (2002) afirmam que a resistência à tração da pele normal varia de 2,5 a 16 MPa. Nesse caso, os filmes avaliados poderiam ser considerados adequados para aplicação como curativo.

Destaca-se ainda que a grande variabilidade nos ensaios de tração acaba dificultando a comparação direta dos dados obtidos com os disponíveis na literatura.

Em relação às propriedades de barreira, pode-se observar que a permeabilidade ao vapor de água não foi alterada pela adição da cúrcuma apesar do fato da adição do agente bioativo poder gerar pontos de descontinuidade no filme. Nesse caso, a presença de espaços livres entre as cadeias poliméricas poderia facilitar a passagem do vapor de água.

A pele saudável perde água em um fluxo de aproximadamente $240 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, enquanto a perda de água para a pele lesada depende do tipo de ferida. Para queimaduras de primeiro grau, o fluxo varia em $279 \pm 26 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e para feridas granulares, $5.138 \pm 202 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ (GIRATTA, 2011).

O consenso não é claro em relação à quantidade ideal de drenagem que um curativo deve possuir. Sabe-se que valores muito elevados podem causar a desidratação da lesão, e valores muito baixos promovem o acúmulo de exsudado. Alguns autores afirmam que curativos com drenagem variando entre 2.000 e $2.500 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ seriam ideais, enquanto outras fontes relatam valores próximos a $5.000 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ como ideais para curativos utilizados em lesões com elevado grau de exsudato (GIRATTA, 2011).

Os resultados encontrados no presente trabalho foram menores do que os descritos como ideais na literatura. Convertendo os valores apresentados na Tabela 4.2 para facilitar a comparação, obteve-se $222 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e $252 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para os filmes de quitosana e amido (Q_A) e quitosana, amido e cúrcuma (Q_A_C), respectivamente. Entretanto, é importante ressaltar que o incremento de plastificantes hidrofílicos nos filmes de amido, como é o caso do glicerol, tende a aumentar a permeabilidade ao vapor de água (MALI *et al.*, 2010). Nesse caso, trata-se de um parâmetro que poderia ser modificado para otimização desse resultado.

Tabela 4.2. Avaliação da permeabilidade ao vapor de água ($\text{g } \mu\text{m dia}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ mmHg}^{-1}$) e das propriedades mecânicas: tensão de ruptura (MPa), alongamento (%) e módulo elástico (MPa) para os filmes de quitosana e amido (Q_A) e quitosana, amido e cúrcuma (Q_A_C).

	Q_A	Q_A_C
Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g } \mu\text{m dia}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ mmHg}^{-1}$)	979 ± 66^a	1021 ± 44^a
Tensão de ruptura (MPa)	$2,0 \pm 0,4^a$	$1,5 \pm 0,6^a$
Alongamento (%)	$104,0 \pm 0,1^a$	$83,0 \pm 0,3^a$
Módulo elástico (MPa)	6 ± 2^a	6 ± 2^a

* Letras distintas nas linhas indicam que houve diferença estatística pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Filmes à base de amido de milho e quitosana com incorporação de cúrcuma foram desenvolvidos com sucesso. Análises de caracterização e ensaios específicos para avaliação do potencial uso desses filmes em aplicações biomédicas tais como curativos, apresentaram resultados promissores.

Os resultados da análise de morfologia permitiram constatar que a adição do agente bioativo apresentou melhor dispersão na matriz polimérica dos filmes contendo amido, devido à incorporação de cúrcuma antes do processo de gelatinização.

Os resultados das análises das propriedades físicas permitem concluir que a presença da cúrcuma não alterou a espessura, a solubilidade em água, o conteúdo de umidade e a capacidade de absorção de água dos filmes. Entretanto, foi possível verificar que houve um aumento da hidrofobicidade e uma redução da estabilidade térmica dos filmes após a inserção do agente bioativo. Filmes contendo quitosana como único biopolímero na formulação, independente da adição de cúrcuma, não apresentaram características adequadas para aplicação como curativos, em função da completa solubilidade em água. Entretanto, é importante ressaltar que todas as formulações contendo quitosana apresentaram formação de *halo* de inibição, comprovando sua ação antimicrobiana ao microrganismo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Sendo assim, a presença da quitosana nas formulações foi fundamental para conferir atividade antibacteriana e aumentar a aderência dos filmes na matriz suína utilizada como corpo de prova durante as análises. Essas propriedades são essenciais para que os curativos desempenhem sua função adequadamente, justificando a utilização da blenda de biopolímeros, amido e quitosana.

Os resultados do ensaio de migração demonstraram que houve maior absorvância para as soluções de PBS que foram colocadas em contato com os filmes contendo cúrcuma na formulação, indicando que houve liberação do agente bioativo para a solução simulante. A incorporação da cúrcuma não promoveu alterações nas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água para os filmes de amido/quitosana.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que os filmes de amido/quitosana e amido/quitosana/cúrcuma apresentaram características promissoras para uma possível aplicação biomédica. A amostra produzida contendo o agente bioativo apresenta maior potencial de interesse para utilização como curativo, em virtude da possibilidade de migração dos compostos de interesse presentes na cúrcuma, os quais apresentam propriedades antioxidantes e cicatrizantes.

Para trabalhos futuros sugere-se o estudo da adição de maiores quantidades de cúrcuma nas formulações, a fim de verificar a influência desse composto na capacidade antimicrobiana das amostras, assim como identificar e quantificar a migração dos compostos de interesse. Sugere-se também avaliar outras técnicas de produção dos filmes, visando a fabricação em escala industrial.

REFERÊNCIAS

ABRIGO, M.; MCARTHUR, S. L.; KINGSHOTT, P. Electrospun nanofibers as dressings for chronic wound care: advances, challenges, and future prospects. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 6, p. 772-792, 2014.

AHMED, J. et al. Starch-based polymeric materials and nanocomposites: chemistry, processing, and applications. **CRC press**, first edition, 2016.

ANJUM, S. et al. Development of novel wound care systems based on nanosilver nanohydrogels of polymethacrylic acid with aloe vera and curcumin. **Materials Science and Engineering**, v. 64, p. 157–166, 2016.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis: 930.04**, [s. l.], n. 1, p. 40, 1990.

ASSIS, O. B. G. Alteração do caráter hidrofílico de filmes de quitosana por tratamento de plasma de hmDs. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 603-606, 2010.

ASTM (1998) - American Society for Testing and Materials - Water Absorption of Plastics – D 570; Annual Book of ASTM Standards, ASTM: Philadelphia.

ASTM (2000) - American Society for Testing and Materials - Water Vapour Permeability (WVP) - E96; Annual Book of ASTM Standards, ASTM: Philadelphia.

ASTM (2012) - American Society for Testing and Materials - Mechanical Properties - D882; Annual Book of ASTM Standards, ASTM: Philadelphia.

BAI, M. Y. et al. Foam dressing incorporating herbal extract: An all-natural dressing for potential use in wound healing. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers: Biomedical Applications**, v. 32, p. 293–308, 2016.

BANGYEKAN, C.; AHT-ONG, D.; SRIKULKIT, K. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. **Carbohydrate Polymers**, V. 63, p. 61–71, 2006.

BASTOS, V. D. Biopolímeros e polímeros de matérias primas renováveis alternativos aos petroquímicos. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 28, p. 201-234, 2007.

BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Química. Nova**, v. 31, n. 8, p. 2014-2019, 2008.

BERCE, C. et al. Cutaneous wound healing using polymeric surgical dressings based on chitosan, sodium hyaluronate and resveratrol. A preclinical experimental study. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 163, p. 155–166, 2018.

BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 141-147, 2003.

BLANES, L. Tratamento de feridas. Baptista-Silva JCC Editor. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo, 2004.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v. 6, n. 2, p. 127-139, 2011.

CAMPANA, S. P.; SIGNINI, R. Efeito de Aditivos na Desacetilação de Quitina. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 4, p. 169-173, 2001.

CARVALHO, D. M. **Avaliação da solubilidade da curcumina e caracterização de filme ativo incorporado com nanosuspensão de curcumina**. Dissertação (Dissertação em Engenharia de Alimentos) – UFG, 2014.

CHANG, Y.P.; KARIM, A.A.; SEOW, C.C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties on tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 1-8, 2006.

CHENG, L.; KARIM, A.; SEOW. Characterization of composite films made of konjac glucomannan (KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid. **Food Chemistry**, v. 107, p. 411-418, 2008.

CORRADINI, E. et al. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

COSTA SILVA, H. S. R.; DOS SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

CROMPTON, T. R. Thermal methods of polymer analysis. **Smithers RapraTechnology**, 2013.

DAVIS, G.; SONG, J. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. **Industrial Crops and Products**, v. 23, n. 2, p. 61-147, 2006.

DE BRITTO, D.; CAMPANA-FILHO, S. P. Kinetics of the thermal degradation of chitosan. **Thermochimica Acta**, v. 465, n. 1, p. 73–82, 2007.

DISSEMOND, J. et al. Modern wound care – practical aspects of non-interventional topical treatment of patients with chronic wounds. **JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v. 12, n. 7, p. 541-554, 2014.

GALIANO, F. et al. Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications. **Journal of Membrane Science**, v. 564, p. 562–586, 2018.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, p.177-191, 1997.

GEYER, R.; LAW, K. L.; JAMBECK J. R. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, n. 7, p. 1-5, 2017.

GIRARD, D. et al. Biotechnological management of skin burn injuries: Challenges and perspectives in wound healing and sensory recovery. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 23, p. 59-82, 2017.

GIRATTA, A. K. **Desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata.** Dissertação (Dissertação em Engenharia Química) – UNICAMP, 2011.

GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. (2006). Analysis of water binding in starch plasticized films. **Food Chemistry**, v. 96, p. 380-386.

GOMES, F.S.L.; CARVALHO, D.V. Tratamento de ferida: Revisão da literatura. **Rev. Min. Enf.**, v. 6, p. 67-72, 2002.

GÓMEZ, E. F.; MICHEL, F. C. Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, p. 2583-2591, 2013.

HADISI, Z.; NOURMOHAMMADI, J.; NASSIRI, S. M. The antibacterial and anti-inflammatory investigation of Lawsonialnermis-gelatin-starch nano-fibrous dressing in burn wound. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 2008–2019, 2018.

HARPER, D.; MCNAUGHT, C.; YOUNG, A. The Physiology of wound healing. **Surgery (Oxford)**, v. 32, p. 445–450, 2014.

HASAN, A. A. et al. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 3, p. 246-265, 2008.

HASSAINIA, A.; SATHA, H.; BOUFI, S. Chitin from *Agaricus bisporus*: extraction and characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p.1334–1342, 2018.

HEMAMALINI, T.; DEV, V. R. G. Comprehensive review on electrospinning of starch polymer for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 712–718, 2018.

HOSSEINI, M. H.; RAZAVI, S. H.; MOUSAVI, M. A. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and

cinnamon essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 33, n. 6, p. 727–743, 2009.

HUSSAIN, Z. et al. Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. **Materials Science and Engineering**, v. 77, p. 1316–1326, 2017.

JAGANATHAN, G. et al. Fabrication and characterization of Artocarpus heterophyllus waste derived lignin added chitosan biocomposites for wound dressing application. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 10, p. 27–32, 2018.

KNILL, C. J. et al. Alginate fibres modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosans for wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 65–76, 2004.

LARANJEIRA, M. C. M.; DE FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LAZGHAB, M. et al. Wettability assessment of finely divided solids. **Powder Technology**, v. 157, n. 1-3, p. 79-91, 2005.

LIU, H. et al. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 1348–1368, 2009.

LUCAS, E.F; SOARES, B.G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros**. Editora e-paper, p. 366, 2001.

LUCHESE, C. L. **Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de amido contendo subprodutos provenientes do processamento de alimentos**. Tese (Tese em Engenharia Química) – UFRGS, 2018.

LUCHESE, C. L. et al. Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 834–839, 2018a.

LUCHESE, C. L. et al. Effect of chitosan addition on the properties of films prepared with corn and cassava starches. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 8, p. 2963–2973, 2018b.

LUCHESE, C. L.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 619–626, 2017.

MAJNO, G. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World*. **Harvard University Press**, Cambridge, 1975.

MALI, S. et al. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 283–289. 2005.

MALI, L.B. KARAM, L. PEREIRA-RAMOS, M.V.E. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 7720-7725, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, p. 137-156, 2010.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78(4), p. 393-410, 2003.

MATI-BAUCHE, N. et al. Chitosan as an adhesive. **European Polymer Journal**, v. 60, p. 198–212, 2014.

MOCK, C. K.; CHIN, K. S.; LAN, H. An Internet-based intelligent design system for injection moulds. **Robotics and Computer Integrated Manufacturing**, v. 24, p. 1-15, 2008.

MOGOSANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International journal of pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127-136, 2014.

MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. (2009). Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, no5, p. 1328-1333.

MUXICA, A. et al. Chitosan as a bioactive polymer: processing, properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.105, p. 1358–1368, 2017.

NASERI-NOSAR M.; ZIORA Z. M. Wound dressings from naturally-occurring polymers: a review on homopolysaccharide-based composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 189, p. 379–398, 2018.

NASERI-NOSAR, M. et al. 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, 2017.

PAVONI, J. M. F. **Desenvolvimento de filmes densos de quitosana para aplicações como membranas e embalagens**. Tese (Tese em Engenharia Química) – UFRGS, 2018.

PEH, K.; KHAN, T.; CH'NG, H. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences**, v. 3, n. 3, p. 303–311, 2000.

PELISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch–Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil. **J. Agric. Food Chem**, v. 57, n. 16, p. 7499–7504, 2009.

PEREIRA, A.S.; STRINGHETA, P.C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafraão. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 102 -105, 1998.

PEREIRA, R. F.; BARTOLO, P. J. Traditional therapies for skin wound healing. **Advances in wound care**, v. 5, p. 208-229, 2016.

PERUMAL, G. et al. Synthesis and characterization of curcumin loaded PLA—Hyperbranched polyglycerol electrospun blend for wound dressing applications. **Materials Science and Engineering**, v. 76, p. 1196–1204, 2017.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. 1. ed. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267p.

SHOJAEI, M. et al. Fabrication and characterization of ovalbumin films for wound dressings applications. **Materials science and engineering: C**, v. 48, p. 158-164, 2015.

SILVA, W.A. et al. Determination of color, topographic superficial image and contact angle of the biofilms of different starch sources. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 154-163, 2007.

SINGH, B.; SHARMA, N. Mechanistic Implications of Plastic Degradation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 93, p. 561-584, 2008.

SINGH, N. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 23-219, 2003.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos Processos de Gelatinização e Extrusão de Amido de Milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

SUN, S. X. **Handbook of biopolymers and biodegradable plastics – properties, processing and applications**. Edited by Sina Ebnesajjad, 2013.

SURIYATEM, R.; AURAS, R. A.; RACHTANAPUN, P. Improvement of mechanical properties and thermal stability of biodegradable rice starch–based films blended with carboxymethyl chitosan. **Industrial Crops & Products**, v. 122 p. 37–48, 2018

TUMMALAPALLI, M. et al. Composite wound dressings of pectin and gelatin with aloe vera and curcumin as bioactive agents. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 104–113, 2016.

VALENZUELA, C.; ABUGOCH, L.; TAPIA, C. Quinoa protein-chitosan-sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 531-537, 2013.

VELNAR, T.; BAILEY, T.; SMRKOLJ, V. The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. **Journal of International Medical Research**, v. 37, p. 1528–1542, 2009.

VENKATASUBBU, G. D.; ANUSUYA, T. Investigation on Curcumin nanocomposite for wound dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 366–378, 2017.

WANG, L. et al. Chitosan-alginate PEC membrane as wound dressing: Assessment of incisional wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.63, p.610-618, 2002.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F.P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 748-753, 2009.

WONGMANEE, K.; KHUANAMKAM, S.; CHAIRAM, S. Gold nanoparticles stabilized by starch polymer and their use as catalyst in homocoupling of phenylboronic acid. **Journal of King Saud University – Science**, v. 29, p. 547–552, 2017.