



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS



Dissertação de mestrado

Jacqueline Cavalieri Nery

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES CONTENDO ALGINATO DE SÓDIO E QUITOSANA PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS

Belo Horizonte

Abril de 2014

Jacqueline Cavalieri Nery

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES CONTENDO ALGINATO DE SÓDIO E QUITOSANA PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS

Dissertação de mestrado apresentada por Jacqueline Cavalieri Nery, ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na linha de Pesquisa em Biomateriais, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior

Belo Horizonte

Abril de 2014

N456o Nery, Jacqueline Cavaliéri.
Obtenção e caracterização de filmes contendo alginato de sódio e quitosana para potencial aplicação no tratamento de lesões cutâneas. / Jacqueline Cavaliéri Nery. – 2014.
79 f. : il. ; tabs. ; grafs. –

Orientador: Ezequiel de Souza Costa Júnior.
Dissertação (mestrado) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Belo Horizonte, 2014.

Bibliografia.

1. Alginato de sódio. 2. Quitosana. 3. Pele - lesões. I. Costa Júnior, Ezequiel de Souza. II. Título.

CDD: 610.28



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

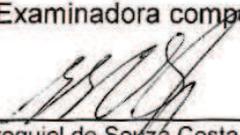
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**“OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES
CONTENDO ALGINATO DE SÓDIO E QUITOSANA
PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NO TRATAMENTO
DE LESÕES CUTÂNEAS”**

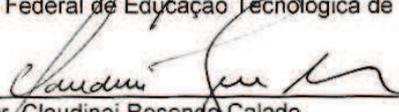
Autora: Jacqueline Cavalieri Nery

Orientador: Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior

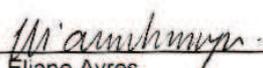
A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:



Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG



Prof. Dr. Claudinei Resende Calado
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG



Profª. Drª. Éliane Ayres
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 11 de abril de 2014.

***À minha família pelo amor,
dedicação e segurança.***

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela oportunidade, pelo consentimento de sabedoria, de paciência e perseverança, por guiar e abençoar minha vida, minha mente e minhas mãos.

A minha mãe, Carmem, meu aconchego, por seu amor incondicional. Ao meu pai, Ivan, meu herói, pelo carinho, amor e apoio.

A minha irmã Carol, a minha querida avó Marly pelo carinho, aos meus avôs Osvaldo, Leonardo e Terezinha que estão descansando no paraíso pelo exemplo de vida e determinação me proporcionando inspiração.

Ao meu namorado, Gustavo, pela compreensão, paciência e incentivo.

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET-MG pelo apoio financeiro e ao Departamento de Engenharia de Materiais – DEMAT.

Aos professores do CEFET-MG, Patrícia Santiago de Oliveira Patrício, Claudinei Rezende Calado, Fátima de Cássia Oliveira Gomes, Joel Romano Brandão, Hermes de Souza Costa, Sidney Nicodemos da Silva, Lívio Bruno, Paulo Renato Perdigão de Paiva pelos ensinamentos passados e aos funcionários Bruno Cordeiro Silva, Alisson Luiz e Ivete Maria Aires pela colaboração contribuindo para a conclusão dessa etapa na minha vida profissional.

Ao meu orientador, Ezequiel de Souza Costa Júnior, pelos ensinamentos, dedicação e paciência dispensados no auxílio a concretização desse trabalho.

As minhas amigas, Ana Pacheli, Talita Martins, Layla Mosqueira, Helane Lúcia, Sandra Regina, Nayara Fernandes, Liliane Cruz e Andréia Grossi pelo companheirismo, horas de estudo, aflições, ansiedades, experiências, alegrias e conquistas, enfim pelos bons e inesquecíveis momentos que vivemos juntas.

É preciso ter perseverança para alcançar seus objetivos e fé para não desistir nunca. Pois, ...“fé é a certeza de coisas que se esperam, e a convicção de fatos que se não vêem”.
(Bíblia Shedd - Hb 11.1)

RESUMO

As lesões cutâneas prejudicam a função de proteção da pele e tornam o organismo suscetível à entrada de agentes causadores de patologias, portanto é imprescindível que a cura ocorra o mais rápido possível. Para a engenharia de tecidos o desenvolvimento de filmes contendo alginato de sódio e quitosana é bastante interessante, pois ambos são biocompatíveis e biodegradáveis com propriedades antimicrobianas. A quitosana é um polissacarídeo de origem natural obtido pela desacetilação alcalina da quitina, é hemostática, fungicida, antibacteriana e antitumoral. O alginato também um polissacarídeo natural é extraído das algas e possui propriedade antibacteriana. A associação destes polímeros aprimoram as propriedades destes tornando-os excelentes materiais para o desenvolvimento de aparatos cujo objetivo principal é auxiliar no tratamento das lesões cutâneas por impedir a contaminação das mesmas e proporcionar recuperação mais rápida e eficiente. O foco do presente trabalho foi à caracterização dos polímeros em pó através do seu comportamento térmico, da análise dos grupos químicos e da cristalinidade. Além disso, filmes contendo alginato de sódio e quitosana, no qual somente a quantidade de quitosana foi modificada foram obtidos e submetidos à caracterização visual, química, física, mecânica e biológica. A caracterização da matéria-prima evidenciou que o alginato de sódio possui 2 tipos de água em sua estrutura, provável temperatura de transição vítrea a -25°C , 3 etapas de perda de massa e grau de cristalinidade estimado em 16%. A quitosana apresenta um processo de desidratação e degradação com pico a 180°C e 303°C respectivamente, temperatura de transição vítrea de 60°C , 2 etapas de perda de massa e grau de cristalinidade estimado em 24%. Os resultados mostraram que os diferentes filmes obtidos quando submetidos aos testes de caracterização apresentaram diferenças moduláveis nas suas propriedades físicas, químicas, mecânicas, morfológicas e biológicas evidenciando que diferentes quantidades de quitosana são capazes de modular essas propriedades. Além disso, os filmes apresentam características que os habilitam a estudos adicionais visando sua utilização como biomaterial no tratamento de lesões cutâneas.

Palavras-chave: Quitosana. Alginato de sódio. Lesões cutâneas.

ABSTRACT

Cutaneous lesions impair the protective function of the skin and make the body susceptible to the entry of agents causing diseases. The healing as soon as possible is essential to avoid the complications. For tissue engineering to develop films containing sodium alginate and chitosan is quite interesting, because both are biocompatible and biodegradable with antimicrobial properties. Chitosan is regarded as a natural origin polysaccharide obtained by alkaline deacetylation of chitin, which besides the properties mentioned above is hemostatic, fungicidal, antibacterial and has antitumor activity. Alginate is also a natural polysaccharide that is extracted from algae and has antibacterial property. The association of these polymers improves these properties making them excellent materials for the development of devices whose primary purpose is to assist in the treatment of skin lesions for preventing contamination of injuries and provides a fast and efficient recovery. The focus of this work was the characterization of polymer powders through its thermal behavior, the analysis of chemical groups and crystallinity. Additionally, films containing alginate and chitosan in which only the amount of chitosan was modified were obtained and subjected to visual, chemical, physical, mechanical and biological characterization. The characterization of the feedstock showed that the sodium alginate has two types of water in their structure, a possible glass transition temperature at -25°C , three steps of mass loss and estimated degree of crystallinity of 16%. Chitosan has a dehydration process and degradation at 180°C and 303°C respectively, in glass transition temperature of 60°C , 2 phases of mass loss and degree of crystallinity estimated at 24%. The results showed that different films obtained during characterization tests had moldable differences in their physical, chemical, mechanical, morphological and biological properties, realizing that chitosan's different amounts are capable to change these properties. Furthermore, the films has characters that allow additional researches about it utilization as biomaterial in skin's lesions treatment.

Keywords: Chitosan. Sodium alginate. Cutaneous lesions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração representativa das camadas e componentes da pele.	18
Figura 2 - Estrutura da quitosana.	26
Figura 3 - Representação da estrutura dos meros e do polímero natural alginato. ..	29
Figura 4 - Modelo da formação da rede entre os íons cálcio e o alginato.	30
Figura 5 - Fluxograma das etapas de trabalho.	33
Figura 6 - Curva DSC do alginato de sódio em pó entre 0°C e 250°C (1ª corrida). ..	42
Figura 7 - Curva DSC do alginato de sódio em pó entre -50°C e 150°C (2ª corrida). ..	43
Figura 8 - Curva TGA do alginato de sódio em pó.	44
Figura 9 - Curva DSC da quitosana em pó entre 0°C e 500°C (1ª corrida).	45
Figura 10 - Curva DSC da quitosana em pó entre 0°C e 150°C (2ª corrida).	46
Figura 11 - Curva TGA da quitosana em pó.	47
Figura 12 - Espectro do infravermelho do alginato de sódio em pó com seus respectivos grupos químicos.	48
Figura 13 - Espectro do infravermelho da quitosana em pó com seus respectivos grupos químicos.	50
Figura 14 - Difratoograma do alginato de sódio em pó.	51
Figura 15 - Difratoograma da quitosana em pó.	52
Figura 16 - Aspecto visual dos diferentes filmes obtidos.	53
Figura 17 - Morfologia da superfície dos filmes.	55
Figura 18 - Perfil de intumescimento dos filmes em solução tampão de pH(4±0,5). ..	56
Figura 19 - Perfil de intumescimento dos filmes em solução tampão de pH(7±0,5). ..	57
Figura 20 - Dispositivo utilizado para medida da transmissão do vapor d'água.	58
Figura 21 - Curva DSC dos filmes obtidos.	60
Figura 22 - Curva TGA dos diferentes filmes obtidos.	61
Figura 23 - Espectro do infravermelho dos filmes obtidos.	64
Figura 24 - Difratoograma dos diferentes filmes obtidos.	65
Figura 25 - Gráfico da tensão máxima de tração dos filmes obtidos.	67
Figura 26 - Gráfico do diâmetro de inibição dos filmes obtidos.	68
Figura 27 - Atividade antimicrobiana dos diferentes filmes obtidos.	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado da TGA e DSC do alginato de sódio.	44
Tabela 2 – Resultado da TGA e DSC envolvendo a desidratação e a decomposição da quitosana em pó.	47
Tabela 3 - Bandas de absorção na região do infravermelho para o alginato de sódio em pó e seus respectivos grupos químicos.	49
Tabela 4 - Bandas de absorção na região do infravermelho para a quitosana em pó e seus respectivos grupos químicos.	50
Tabela 5 - Valores das espessuras dos diferentes filmes.	54
Tabela 6 - Valores da taxa de transmissão de vapor d'água dos filmes.	58
Tabela 7 – Resultado da TGA e DSC para análise do comportamento térmico (desidratação e decomposição) das amostras dos diferentes filmes obtidos.	62
Tabela 8 - Tenacidade, tensão máxima de tração e módulo de elasticidade dos filmes.	66
Tabela 9 – Diâmetro de inibição dos diferentes filmes obtidos.	68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação e conceito das feridas.....	19
Quadro 2 - Procedimentos para obtenção das amostras.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

a = Área do filme

AP = Área dos picos

ASTM = American Society for Testing and Materials

AT = Área total

BHI = Infuso de cérebro e coração - (Brain heart infusion)

DE = Deformação específica

DRX = Difração de raios X

DSC = Calorimetria exploratória diferencial

E = Módulo de elasticidade

FTIR = Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

g = Peso transmitido

GC = Grau de cristalinidade

GD = Grau de desacetilação

GI = Grau de intumescimento

M = Molar

M_0 = Massa inicial das amostras

M0= Massa inicial

MEV = Microscopia eletrônica de varredura

Mi = Massa úmida das amostras no tempo

MI= Massa inicial da amostra em cada etapa

MF= Massa final da amostra em cada etapa

MW = Massa molar

N_2 = Nitrogênio

PECs = Complexos polieletrólitos

rpm = Rotações por minuto

t = Tempo em horas

TGA = Termogravimetria

TVA = Transmissão do vapor d'água

σ = Tensão máxima de tração

$\Delta \sigma$ = tensão de tração

$\Delta \epsilon$ = deformação do material

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 Pele	17
3.2 Feridas.....	19
3.3 Cicatrização	20
3.4 Curativos para lesões de pele	23
3.5 Biomateriais.....	25
3.5.1 Quitosana.....	26
3.5.2 Alginato de Sódio.....	28
3.6 Complexos polieletrólitos (PECs)	31
4 METODOLOGIA.....	33
4.1 Etapas do desenvolvimento do trabalho.....	33
4.2 Análise Estatística	33
4.3 Materiais	33
4.4 Preparação dos filmes contendo alginato de sódio	34
4.5 Preparação dos filmes contendo quitosana.....	34
4.6 Preparação dos filmes constituídos de alginato de sódio e quitosana	35
4.7 Caracterização da matéria-prima	36
4.7.1 Análise térmica dos polímeros em pó	36
4.7.2 Análise dos grupos químicos dos polímeros em pó.....	37
4.7.3 Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos polímeros em pó	37
4.8 Caracterização dos filmes	38
4.8.1 Aspecto visual dos filmes.....	38
4.8.2 Espessura dos filmes.....	38
4.8.3 Análise morfológica dos filmes.....	38
4.8.4 Perfil de hidratação dos filmes	38
4.8.5 Medida da transmissão do vapor d'água (TVA) dos filmes.....	39
4.8.6 Análise térmica dos filmes	39
4.8.7 Análise dos grupos químicos dos filmes	40

4.8.8	Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos filmes	40
4.8.9	Caracterização das propriedades mecânicas dos filmes	40
4.9	Caracterização biológica dos filmes in vitro	41
4.9.1	Análise da atividade antimicrobiana dos filmes	41
5	RESULTADOS	41
5.1	Caracterização da matéria-prima	41
5.1.1	Análise térmica do alginato de sódio em pó	41
5.1.2	Análise térmica da quitosana em pó	45
5.1.3	Análise dos grupos químicos dos polímeros em pó	47
5.1.4	Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos polímeros em pó	51
5.2	Caracterização dos filmes	52
5.2.1	Aspecto visual dos filmes	52
5.2.2	Espessura dos filmes	54
5.2.3	Análise morfológica dos filmes	54
5.2.4	Perfil de hidratação dos filmes	55
5.2.5	Medida da transmissão do vapor d'água (TVA) dos filmes	57
5.2.6	Análise térmica dos filmes	59
5.2.7	Análise dos grupos químicos dos filmes	62
5.2.8	Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos filmes	64
5.2.9	Caracterização das propriedades mecânicas dos filmes	65
5.3	Caracterização biológica dos filmes in vitro	67
5.3.1	Análise da atividade antimicrobiana dos filmes	67
6	CONCLUSÕES	70
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	72
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1 INTRODUÇÃO

O prejuízo na integridade epitelial acarreta um déficit na função principal de proteção da pele podendo ocasionar um desequilíbrio fisiológico com possível prejuízo da capacidade funcional e até mesmo levar a morte (CLARK et al., 2007).

As lesões cutâneas mais comuns e significativas são causadas por queimaduras, traumas e úlceras secundárias crônicas ocasionadas por doenças preexistentes como diabetes e doenças venosas (CLARK et al., 2007). Estas lesões são classificadas quanto à origem, profundidade, extensão e perda do tecido epitelial. A presença de infecções, doenças e o uso de medicamentos podem contribuir na redução do processo de cura (PAUL; SHARMA, 2004).

A obtenção de curativos com custo mais baixo é interessante, pois favoreceria os pacientes mais carentes (RODRIGUES, 2008), pois curativos comerciais possuem custos elevados e exigem troca frequente (DALLAN, 2005). A busca pelo curativo ideal é antiga, crescente e tem como pré-requisito a manutenção do ambiente limpo e úmido, boa união ao leito da ferida permitindo a saída do líquido inflamatório e a difusão do ar. Além disso, como requisito integrante eles devem ser atraumáticos, atóxicos, confortáveis e de simples manutenção. Portanto, a utilização de polímeros de origem natural como a quitosana e o alginato é bastante atraente, pois ambos são biocompatíveis, biodegradáveis, bioadesivos, bioativos e são capazes de formar filmes flexíveis e resistentes possibilitando a sua utilização no tratamento de lesões cutâneas (RODRIGUES, 2008).

A quitosana é um polissacarídeo de baixo custo, de origem natural, atóxica, com grande importância econômica e ambiental, é derivada da desacetilação alcalina da quitina, composta pelo seguimento linear de açúcares monoméricos do tipo β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glicose (N-acetilglicosamina) (CRAVEIRO et al., 1999; MUZZARELLI et al., 1988). Apresenta propriedades biológicas, como a biocompatibilidade, a biodegradabilidade, a propriedade hemostática, fungicida, antibacteriana e antitumoral, capacidade de estimular a migração e a propagação celular e reorganizar a arquitetura das células (PAUL; SHARMA, 2004; MI et al., 2003). Contudo, ela apresenta baixa resistência mecânica o que limita a sua aplicação na forma de filme, por isso a sua associação a outros polímeros é necessária com intuito de alterar e/ou melhorar as suas propriedades mecânicas (COSTA JÚNIOR; MANSUR, 2008).

O alginato também é um polissacarídeo natural obtido principalmente das algas marrons, é utilizado na medicina, nas indústrias farmacêuticas e alimentícias (CHAN et al., 2002). Considerado biocompatível e biodegradável, possui a capacidade de formar dispositivos porosos a partir de um gel com características mucoadesivas (PAUL; SHARMA, 2004; FAN et al., 2006).

A interação espontânea ocorre quando polímeros de cargas opostas são misturados em solução aquosa formando um complexo polieletrólítico (PECs). A força motriz para este processo é entrópica e acontece pela forte interação entre o grupo amino da quitosana (NH_3^+) e o grupo carboxil do alginato (COO^-) (VERMA et al., 2011).

A mistura formada pelo alginato e quitosana acontece devido à rápida interação entre ambos, por isso para se obter um coacervado fino e uniforme alguns parâmetros devem ser controlados durante a preparação, como a velocidade de adição da solução de quitosana à solução de alginato, a velocidade de agitação, o tempo da reação, a temperatura de secagem, a concentração dos polímeros (PRAJATI; SAWANT, 2009), a composição química do alginato, o pH do meio, a massa molar e o grau de desacetilação da quitosana (BECHERÁN-MARÓN et al., 2004).

Esta união promove alteração das características físicas, mecânicas e biológicas como, por exemplo, melhor estabilidade a alterações de pH, maior eficácia no controle de liberação de fármacos e melhor absorção dos fluidos das lesões (WANG et al., 2001; RODRIGUES, 2008). Além disso, esta união tem sido amplamente usada para obtenção de microcápsulas, membranas e matrizes estruturais tridimensionais (scaffolds) na regeneração de tecidos (BECHERÁN-MARÓN et al., 2004).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo geral a obtenção, a caracterização e a avaliação de diferentes filmes contendo alginato de sódio e quitosana, no qual somente a quantidade de quitosana foi modificada, com potencial aplicação no tratamento de lesões cutâneas.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterização do alginato de sódio e da quitosana em pó empregando-se as técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC), de termogravimetria (TGA), de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e de difração de raios X (DRX).
- Obtenção de filmes de alginato de sódio, quitosana e filmes contendo alginato de sódio e quitosana no qual a quantidade de alginato foi mantida constante e a de quitosana variada.
- Caracterização dos diferentes filmes obtidos empregando o aspecto visual, a espessura, a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a termogravimetria (TGA), a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), a difração de raios X (DRX), a microscopia eletrônica de varredura (MEV), o grau de intumescimento (GI), a transmissão do vapor d'água (TVA) e o ensaio de tração.
- Avaliação do desempenho dos filmes produzidos em testes *in vitro* através da atividade antimicrobiana dos mesmos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Pele

O tecido epitelial equivale a 16% do peso corporal, sendo o maior órgão do corpo humano. Uma das suas principais funções é o recobrimento de toda superfície do corpo e a proteção do organismo. Além disso, possui também as funções de termorregulação, de nutrição, do controle hídrico, iônico e sanguíneo, da filtração dos raios ultravioletas e exerce um importante papel na socialização do indivíduo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005; VEIGA, 2009).

A pele possui propriedades especiais para cumprir suas funções, sendo relativamente impermeável à água, resistente, flexível, além de possuir uma evidente aptidão de autoregeneração (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Como barreira natural de proteção do corpo, a pele esta predisposta a várias agressões ambientais o que pode levar a vulnerabilidade do organismo e a entrada de possíveis micro-organismos (ALMEIDA, 2009; VEIGA, 2009). Portanto, após a lesão, o processo de cicatrização deve ocorrer o mais rápido possível evitando assim a exposição do organismo a outros micro-organismos e a possíveis complicações e intercorrências. Porém, alguns fatores como idade, imobilidade, estado nutricional, diabetes, medicamentos, localização anatômica da ferida e presença de infecções podem retardar esse processo (BLANES, 2004). Quando a lesão torna-se crônica, a cicatrização natural é comprometida, pois houve uma perda tecidual significativa. A cura destes tipos de lesões é um objetivo a ser alcançado pelos profissionais e pesquisadores da saúde (PAUL; SHARMA, 2004).

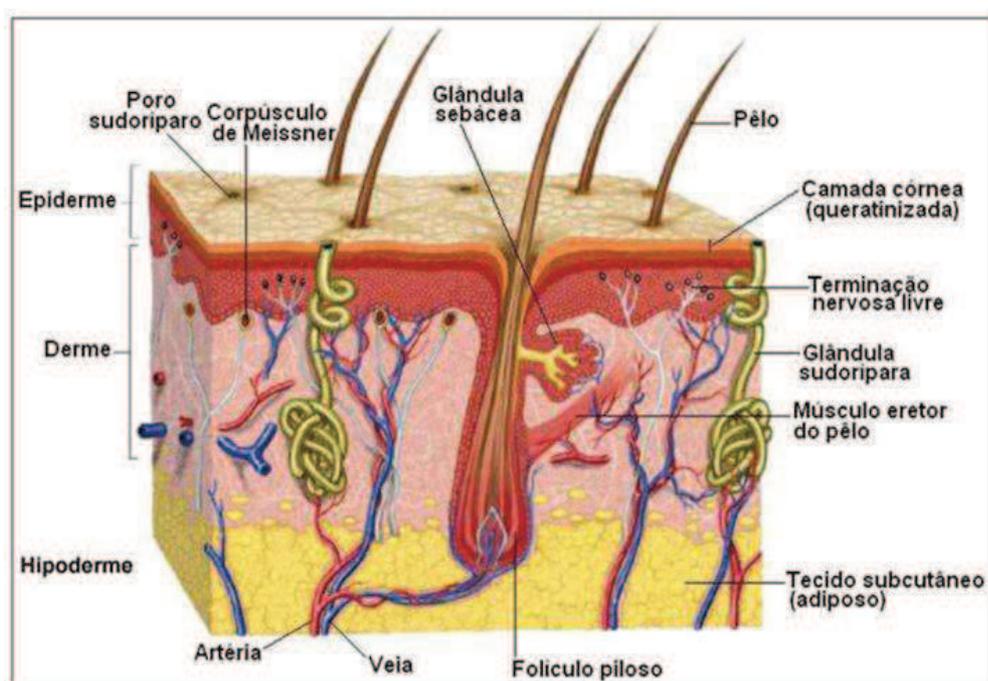
A pele é composta por três camadas distintas, a epiderme que é a camada mais externa, a derme localizada mais profundamente e a hipoderme que possui um grande conteúdo de energia e é formada especialmente por tecido adiposo (BAUMANN; WEISEBERG, 2002; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

A epiderme é uma camada que sofre constante renovação, é formada pelas camadas germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea. A camada córnea é a mais superficial e possui queratinócitos que exercem a função de proteção contra traumas e micro-organismos (BLANES, 2004).

A derme é dividida em camada papilar e reticular formando uma camada densa de tecido conjuntivo com fibras elásticas e colágenas, nesta camada encontram-se diversas células sanguíneas, vasos linfáticos, nervos e terminações nervosas que geram a interação com o meio ambiente (ARNOLD et al., 1994).

A hipoderme possui um grande conteúdo de tecido adiposo e tem propriedades protetoras e térmicas com intensa vascularização (SOUZA, 2003). A pele também possui em sua constituição glândulas sudoríparas, sebáceas e pilosas responsáveis por liberar secreções e por abrigar o folículo piloso, além disso, é composta por água, sódio, magnésio, cloro, carboidratos, lipídeos e proteínas (SOUZA, 2003). Na figura 1 estão representadas as camadas e componentes da pele.

Figura 1 - Ilustração representativa das camadas e componentes da pele.



Fonte: MARINHO (2010).

3.2 Feridas

As feridas também chamadas de lesões cutâneas se referem ao afastamento dos tecidos do organismo ou qualquer tipo de lesão tecidual que esteja localizada na região mucosa, órgãos ou pele, ocasionando dano de funções fundamentais (CENTER FOR MEDICAL EDUCATION, 1994). Portanto, as feridas ou as lesões cutâneas recebem este nome devido a falta de continuidade do tecido epitelial causado por doenças ou traumatismos. Os traumatismos, considerados fatores extrínsecos, podem ser causados por processos cirúrgicos, traumas mecânicos, físicos e químicos. As doenças pré-existentes como alterações vasculares, seja venosa ou arterial, as deficiências metabólicas e as neoplasias são considerados fatores intrínsecos (ARNOLD et al., 1994).

As lesões cutâneas são causas significativas de morbi/mortalidade no mundo. Uma pesquisa realizada nos Estados Unidos mostrou 35,2 milhões de casos de lesões cutâneas com perda tecidual tendo o custo do tratamento estimado em torno de 8 bilhões de dólares (CLARK et al., 2007). Já no Reino Unido a prevalência de úlceras nos membros inferiores está em torno de 1,48/1.000 pessoas sendo que este valor aumenta com a idade, e na Alemanha 2 milhões de dias de trabalho por ano são perdidos por causa das feridas (HOWELL-JONES et al., 2005; CLASEN et al., 2006). No Brasil estima-se que estes números sejam maiores quando comparados ao dos Estados Unidos (GIMENES et al., 2009).

As feridas são classificadas para promover o processo de avaliação e registro. Esta classificação considera a causa, extensão, progresso, tempo, tipo de cicatrização, grau de contaminação, entre outros aspectos (BLANES, 2004). O quadro 1 relaciona as principais classificações das feridas e o conceito de cada uma.

Quadro 1- Classificação e conceito das feridas.

CLASSIFICAÇÃO	CONCEITO
QUANTO À MORFOLOGIA	
Superficial	Comprometimento da epiderme, podendo abranger a derme.
Profunda	Comprometimento da epiderme, derme e tecido subcutâneo, podendo envolver músculos e ossos.
Aberta	Margens irregulares, com ou sem justaposição com tecido de granulação
Fechada	Margens justapostas.

Continuação do Quadro 1- Classificação e conceito das feridas.

QUANTO AO MECANISMO DA INJÚRIA	
Incisa	Causada por artefato cortante com deslocamento do instrumento sob pressão na pele. Ex: bisturi, faca.
Abrasivas	Perda superficial do epitélio causada por atrito. Ex: Escorregões e/ou quedas em superfície áspera.
Contusas	Danos primários aos tecidos subepiteliais com perda de epitélio por anóxia e necrose devido aos danos na vasculatura subcutânea. Ex: escoriações.
Corto-contusas	Geradas por instrumento pouco cortante que em decorrência do impacto causa solução de continuidade na pele. Ex: enxada.
Lácero-contusas	Esmagamento, tração e/ou compressão da pele. Ferida com bordas irregulares e perda tecidual. Ex: mordeduras; cercas.
Perfurantes	Geradas por instrumentos longos e pontiagudos produzindo feridas pequenas e profundas. Ex: agulha, alfinete, prego.
Pérfuro-contusas	Provocada por objeto pouco cortante que penetra profundamente nos tecidos devido ao impacto. Ex: arma de fogo.
Hematomas	Derramamento de sangue com formação de cavidade no subcutâneo, devido ruptura de capilares resultante de trauma. Ex: pode ser causada por trauma.
QUANTO AO GRAU DE CONTAMINAÇÃO	
Limpa	Causada em condições assépticas, sem contato com sistema digestório, respiratório ou gênito-urinário.
Limpa-contaminada	Ocorrida a menos de seis horas, contaminada pelo agente causador ou em cirurgias envolvendo sistemas contaminados.
Contaminada	Tempo entre trauma e atendimento superior a seis horas, com presença de contaminantes e reação inflamatória.
Infectada	Apresenta nitidamente sinais de inflamação, presença de agente infeccioso no local, tecido desvitalizado e exsudato purulento.
QUANTO AO TIPO DE CICATRIZAÇÃO	
Primeira intenção	Margens das feridas aproximadas e justapostas, sem perda tecidual.
Segunda intenção	Perda tecidual sem probabilidade de união das bordas. Cicatrização lenta e ocorre por preenchimento do espaço.
Terceira intenção	Ferida evoluindo por segunda intenção com bordas coaptadas após a formação do tecido de granulação.
QUANTO À EVOLUÇÃO	
Aguda	Feridas recentes com cicatrização em tempo adequado e sem complicações.
Crônica	Cicatrização mais demorada por causa de complicações.
QUANTO À APARÊNCIA DO LEITO DA FERIDA	
Necrótica	Presença de placa necrótica dura ou tecido necrosado.
Infectada	Processo inflamatório e exsudação supurativa presente.
Com crosta	Exsudação modificada, composta de células mortas, retarda a cicatrização.
Granulosa	Concepção de tecido vascular neoformado e matriz de colágeno.
Epitelizada	Desenvolvimento e migração de células epiteliais sobre a superfície durante a cicatrização.

Fonte: DIAS (2010).

3.3 Cicatrização

Qualquer que seja a causa da lesão cutânea, imediatamente após a sua ocorrência inicia o processo de restauração dos tecidos, podendo passar pela fase de regeneração ou pelo processo de cicatrização. A fase de regeneração é caracterizada pela migração e proliferação celular de células iguais a do tecido que

foi lesionado com o intuito de fechar eficientemente a superfície da ferida. Já a fase de cicatrização é um processo que envolve várias fases e pode ser por primeira, segunda ou terceira intenção. Neste processo complexo o tecido fibroso ou cicatricial formado no lugar do dano possui uma pequena força de tensão sendo mais frágil do que a pele natural (HESS, 2002).

A cicatrização por primeira intenção ocorre quando o tecido epitelial não foi perdido e os limites da pele estão próximos, a por segunda intenção ocorre quando a pele foi parcialmente perdida e os limites afastados, a por terceira intenção é quando a ferida instalada permanece aberta por um tempo ocorrendo a cicatrização por segunda intenção seguida pela de primeira intenção (BLANES, 2004).

O processo de cicatrização é dividido em fase inflamatória, proliferativa e de remodelação. No decorrer do processo de coagulação vários eventos celulares e tissulares resultantes da ativação celular pela ação dos mediadores químicos ocorrem e por isso, para facilitar a compreensão alguns estudiosos nomeiam didaticamente às fases da cicatrização (MANDELBAUM et al., 2003; BALBINO et al., 2005), porém essas fases ocorrem de maneira dinâmica e são sobrepostas uma na outra (BALBINO et al., 2005).

A fase inflamatória é caracterizada pela vasoconstrição reflexa por alguns minutos na tentativa de obstrução dos vasos lesados devido à ação de descargas adrenérgicas e de mediadores liberados pela desgranulação de mastócitos. No decorrer deste processo os sinais flogísticos, tumor, calor, rubor e dor podem ser observados (BLANES, 2004). Além do fato mencionado acima, plaquetas são recrutadas, depositadas e infiltradas por fibrinas formando uma rede fibrinosa na qual os eritrócitos ficam presos constituindo um trombo vermelho cuja função é fechar o vaso rompido. Posteriormente, essas plaquetas são ativadas por substâncias agonistas da matriz subendotelial e da corrente sanguínea. Uma das consequências desta ativação é a liberação de fatores de crescimento como o TGF- β e o PDGF que promovem uma atração quimiotática orientando a migração das células (neutrófilos, monócitos e fibroblastos). Os neutrófilos exercem um papel primário eliminando possíveis micro-organismos e são considerados como sendo as células mais abundantes no sangue e as que primeiro chegam à região do processo inflamatório. Em seguida, os macrófagos surgem desempenhando um importante papel e ganhando espaço no processo inflamatório, pois auxilia os neutrófilos na eliminação de possíveis micro-organismos, elimina fragmentos teciduais e

neutrófilos que tiveram sua função perdida, fazem a ligação entre a imunidade inata e a adaptativa, fabricam e permitem a saída de mediadores, proteínas e enzimas envolvidas na recuperação do dano instalado (BALBINO et al., 2005).

Na fase proliferativa ocorre a formação do tecido de granulação que é composto por fibroblastos, substâncias fibroblásticas, vasos sanguíneos neoformados e macrófagos. Concomitante a isso, também ocorre à ampliação, a separação e a migração celular da camada basal da epiderme por cima da área de reparação do tecido conjuntivo adjacente visando à formação do tecido epitelial que apresenta espaços vazios e passa por modificações ao longo das fases de cicatrização (BLANES, 2004). Os fibroblastos presentes apresentam grandes quantidades de fibronectina que fixam a célula, o ácido hialurônico que também está presente nesta fase confere uma resistência à compressão a este tecido. À medida que este processo evolui ocorre uma diminuição do ácido hialurônico e um aumento dos proteoglicanos e de substâncias contendo glicosaminoglicanos sulfatadas levando as células a exibirem fenótipos maduros, por exemplo, as células endoteliais passam a serem células de revestimento e os fibroblastos produzem e liberam colágeno em grande abundância. Durante esta etapa de mudança de fenótipo, os fibroblastos localizados ao redor da ferida passam a ser miofibroblastos com função semelhante às células que estão contidas nos músculos lisos, promovendo união e força de tensão na nova matriz extracelular formada, ajudando na contração e no processo de secagem da ferida. Quando a ferida está coberta e preenchida, o fenótipo original das células e a circulação são restabelecidos, o tecido de granulação rico em colágeno confere à ferida o aspecto de cicatriz (BALBINO et al., 2005; BLANES, 2004).

Por conseguinte na fase de remodelamento a maioria das células e dos vasos neoformados são diminuídos, as fibras colágenas são rearranjadas e endireitadas ocorrendo à remodelagem do colágeno com regressão endotelial. Ao término desta fase a cicatriz presente possui menos que 70% da resistência da pele normal, pois este processo de reparação tecidual é lento e pode durar anos. É possível observar também que a reestruturação dos folículos pilosos e das glândulas ocorre até certo tempo e a cicatriz formada exibe um aspecto esbranquiçado e pobremente vascularizada devido a ausência dos vasos neocapilares que irrigavam a região (BALBINO et al., 2005).

A cicatrização pode se tornar lenta ou prejudicada devido a fatores como idade, estado nutricional, vascularização, condições sistêmicas, infecção, fatores mecânicos, corpos estranhos e linhas de tensão (BLANES, 2004). E por se tratar de um processo sistêmico que abrange alterações e respostas biológicas, químicas e fisiológicas, o foco essencial é a restituição da integridade corporal (KUMAR et al., 2005), bem como da integridade física e psíquica. Portanto quanto mais rápido ocorrer esse processo melhor a qualidade de vida e menor a chance de possíveis complicações, por isso é interessante à realização de tratamentos tópicos tendo como alvo uma reparação tecidual mais eficiente (BLANES, 2004).

3.4 Curativos para lesões de pele

Os polímeros naturais empregados na área da saúde têm como objetivo a produção de curativos modernos, devido a biocompatibilidade e a biodegradabilidade (YUDANOVA; RESHETOV, 2006). O interesse no estudo destes materiais se deve ao fato destes polímeros serem utilizados no tratamento de traumas, queimaduras e feridas agudas e crônicas (CAMPOS et al., 2005).

A engenharia de tecidos considera aptos os biopolímeros sintéticos e naturais, que são biocompatíveis e que possuem propriedades mecânicas apropriadas para promover um suporte mecânico para migração e proliferação celular (CLARK et al., 2007) visando a reparação e regeneração de lesões. Dentre os biopolímeros sintéticos pode-se citar o poli(ácido lático-co-glicólico), o poli(etileno glicol), o poli(álcool vinílico) e o poliuretano. Os naturais são elementos estruturais de seres vivos que apresentam semelhança química e biológica aos tecidos naturais do ser humano e sua degradação ocorre naturalmente, dentre eles podemos citar o alginato, a gelatina, o colágeno, o amido, a quitina, a quitosana e a celulose (KIM et al., 2008).

Muitos curativos existentes no mercado são à base de poliuretano puro ou associados com ágar, gelatina ou carboximetilcelulose (CLASEN et al., 2006). Para as lesões cutâneas crônicas estes curativos não são tão eficientes por não acelerarem a cicatrização. Por isso, o desenvolvimento de novos curativos que podem agilizar o atendimento e o tratamento têm ganhado ênfase. Para que isso ocorra, os curativos precisam ter características importantes como, ser moldável, atraumático, evitar contato com a ferida (CLASEN et al., 2006; YUDANOVA;

RESHETOV, 2006), não causar nenhum tipo de irritação ou efeitos tóxicos, ser esterilizável, confortável, de manutenção e remoção fácil, controlar o crescimento de micro-organismos e ser acessíveis à toda população (YUDANOVA; RESHETOV, 2006). Além disso, é necessário que o curativo seja capaz de conservar o canal da ferida úmido, de retirar o líquido inflamatório em excesso, de permitir a entrada e saída de gases, de isolar termicamente a ferida, de prevenir infecções, de não possuírem contaminantes e de serem transparentes permitindo a visualização constante da ferida (BLANES, 2004). Alguns destes curativos possuem medicamentos que são expelidos durante o seu uso para melhorar ainda mais o processo de cicatrização (YUDANOVA; RESHETOV, 2006).

Existem curativos feitos somente de alginato ou de quitosana que são conhecidos no mercado e utilizados no tratamento de feridas extensas. Como exemplo de curativos de alginato, existe: Nu-Derm[®] comercializado pelo Johnson e Johnson nos EUA, Curasorb[®] pela Kendall, AlgiSite[®] pela Smith e Nephew nos EUA (MALAFAYA et al., 2007). Dentre alguns curativos de quitosana, estão: fibras de quitosana feitos pela Japanese Unitika Co., quitosana em gel (Tegasorb[®]) e um hidrocolóide (Tegaderm[®]) feito pela 3M americana, membranas de quitosana HemCon[®] feitas nos Estados Unidos e Chitoskin feitas na Alemanha (MALAFAYA et al., 2007; PAUL; SHARMA, 2004). Todos esses curativos são de alto custo por isso, pesquisas em novos curativos estão sempre sendo desenvolvidas para que seja aprimorada a eficácia dos mesmos e que futuramente exista um curativo que tenha em sua composição a quitosana e o alginato juntos (VEIGA, 2009; RODRIGUES, 2008; DALLAN, 2005).

Trabalhos anteriores evidenciam que a utilização de curativos baseados em hidrogéis favorece o bloqueio da transmissão nervosa, diminuindo e inibindo o estímulo doloroso e promovendo a cicatrização de queimaduras (MARTINEAU; SHEK, 2006) e feridas cutâneas (RODRIGUES, 2008). Assim, o desenvolvimento de um curativo que tem em sua composição polímeros naturais de baixo custo e fácil obtenção torna o tratamento mais satisfatório e econômico (DALLAN, 2005; CLARK et al., 2007), por isso membranas de quitosana e alginato apresentam potencial para esta aplicação (RODRIGUES, 2008).

3.5 Biomateriais

A engenharia de tecidos visa à restauração, manutenção e melhora da função tecidual perdida devido a diversas condições ou patologias desenvolvendo dispositivos biológicos e tecidos de reconstrução no qual os biomateriais estão em evidência (DHANDAYUTHAPANI et al., 2011).

Os biomateriais podem ter sua origem na natureza ou serem sinteticamente produzidos (MARK; CALVERT, 1994). São caracterizados como sendo dispositivos localizados no interior ou no exterior do organismo que possuem uma relação direta com os líquidos corporais, podendo ser de maneira ininterrupta ou alternada. Em geral, os biomateriais devem ser atóxicos, anticarcinogênicos, antimutagênicos e não desencadearem uma resposta imune, pois são desenvolvidos com o intuito de restabelecer parcialmente ou totalmente a funcionalidade do organismo (LYMAN; ROWLAND, 1989). São considerados como bioestáveis ou permanentes e bioabsorvíveis ou temporários. Os bioestáveis são empregados por tempo indeterminado, como próteses, válvulas cardíacas e lentes intraoculares. Já os biomateriais temporários ou bioabsorvíveis são utilizados até que ocorra a completa regeneração tecidual (TÖRMÄLÄ et al., 1998).

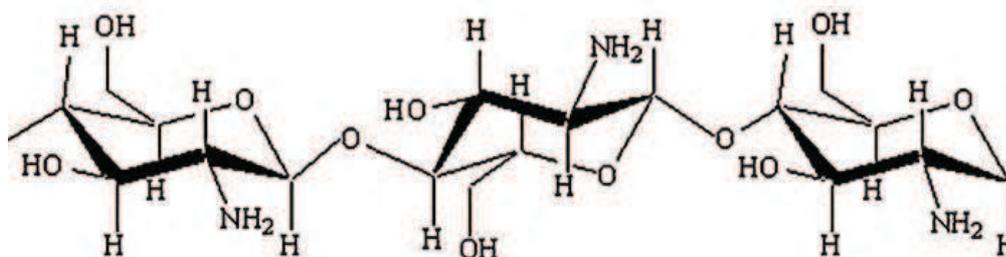
Na engenharia de tecidos os biomateriais são utilizados na forma de filmes, espumas, géis ou membranas (CRAVEIRO; CRAVEIRO, 2000) e precisam exibir atributos básicos como ser inodoro, leve, impermeável a micro-organismos, permeável ao oxigênio e ao vapor d'água, de fácil processamento, biodegradável e biocompatível (DALLAN, 2005).

Pesquisadores são responsáveis por aprimorar e desenvolver biomateriais que sejam funcionais, biocompatíveis, biodegradáveis, bioreabsorvíveis e bioabsorvíveis visando melhorar as propriedades físico-químicas destes dispositivos com o intuito de aumentar a expectativa, a qualidade de vida e o bem-estar dos pacientes (DALLAN, 2005). Por isso, polímeros de origem natural têm sido utilizados no desenvolvimento de potenciais curativos para o tratamento de lesões cutâneas, dentre eles a quitosana e o alginato possuem grande relevância (VEIGA, 2009).

3.5.1 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo catiônico, semicristalino, de cadeia linear (Figura 2) obtida pela N-desacetilação alcalina da quitina. É encontrada no exoesqueleto de crustáceos e artrópodes e na parede celular de alguns fungos, exibe em sua cadeia polimérica, unidades de (1-4)-2-acetamido-2-desóxi- β -D-glicose (N-acetil D-glicosamina) e unidades de (1-4)-2-amino-2-desóxi- β -D-glicose (D-glicosamina) (KHOR; LIM, 2003; DAMIAN et al., 2005; CROISIER; JÉRÔME, 2013).

Figura 2 - Estrutura da quitosana.



Fonte: JAYAKUMAR et al. (2010).

O Japão e os Estados Unidos são considerados atualmente os maiores produtores mundiais de quitosana, essa produção tem aumentado consideravelmente devido a sua crescente utilização em diversas áreas. No Brasil existe um grande potencial pesqueiro que tem despertado grande interesse no reaproveitamento dos resíduos desta indústria (FERRARI apud MOURA et al., 2006, p.37), que são na maioria das vezes rejeitados e considerados poluentes (MOURA et al., 2006). Para a produção industrial da quitosana, ocorre a separação da quitina dos outros componentes por meio de um pré-tratamento para retirada de materiais grosseiros e resíduos, da desmineralização com ácido clorídrico para diminuir o conteúdo de cinzas da matéria-prima, da desproteínização com hidróxido de sódio para amenizar o teor de nitrogênio protéico e desodorização com hipoclorito de sódio para atenuar o cheiro e remover algum pigmento extra. Após este processo ocorre à lavagem e secagem do produto numa temperatura de 80°C por quatro horas, em seguida os grupos acetil da quitina são removidos pela desacetilação

alcalina com hidróxido de sódio num reator com agitação e temperatura constante de 130°C por duas horas, posteriormente ocorre à purificação para remoção de impurezas obtendo-se assim a quitosana purificada (MOURA et al., 2006). A quitina desacetilada recebe o nome de quitosana quando o grau de desacetilação é de 60% (ACOSTA et al., 1993 apud CROISIER; JÉRÔME, 2013, p.2; GONSALVES et al., 2011). Segundo Dallan (2005) outra maneira de se obter a quitosana é pela desacetilação microbiológica através de micro-organismos ou enzimas exclusivas. O grau de desacetilação, que é representado pela percentagem de grupos amínicos livres, é um importante parâmetro que influencia nas propriedades físico-químicas e nas aplicações da quitosana estando compreendido entre 60 a 95% (MALAFAYA et al., 2007; DALLAN, 2005).

O grande número de grupos amínicos livres presente na cadeia da quitosana a torna susceptível a oscilações de pH, portanto a sua solubilidade em meios aquosos ácidos é promovida pela protonação destes grupos amínicos livres que passam de NH_2 para NH_3^+ (SILVA et al., 2006). Após a sua dissolução a quitosana atua como um polieletrólito catiônico viscoso possibilitando a obtenção de filmes, fibras, membranas e géis (NIEKRASZEWICZ, 2005). Esta característica físico-química de possuir cargas positivas, leva a quitosana a apresentar uma natureza básica com pKa variando de 6,3 a 7,2 (KUMAR, 2000) e a torna quimicamente desejável para interação com outros polímeros de cargas opostas (BUENO, 2010).

A quitosana apresenta grande versatilidade, podendo ser utilizada no meio ambiente, na indústria alimentícia, na indústria de cosméticos, farmacêutica e médica (DALLAN, 2005). A quitosana apresenta qualidades naturais de grande importância, como, a biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioatividade, bioadesividade, efeito antifúngico, antibacteriano e antitumoral, habilidade de ativar macrófago, ocasionar a migração e a proliferação celular e reorganizar a arquitetura das células (PAUL; SHARMA, 2004; MI et al., 2003; MUZZARELLI, 2009). Portanto, todas estas características singulares da quitosana, além de auxiliar no processo de coagulação estimulando a multiplicação de fibroblastos, o acúmulo organizado de colágeno, o aumento da síntese do ácido hialurônico na região da ferida (RODRIGUES, 2008; HEIN et al., 2008) e de possuir um efeito analgésico (SILVA et al., 2006) fazem dela um candidato excelente para aplicações biomédicas tornando-se uma alternativa para ser utilizada na cicatrização de feridas agudas e crônicas (CROISIER; JÉRÔME, 2013).

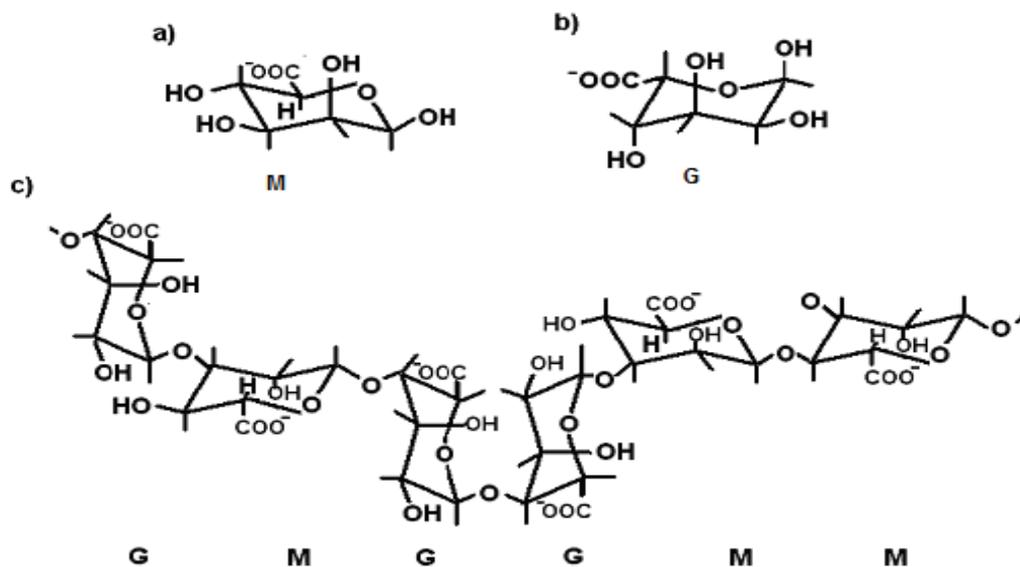
Membranas irregulares de quitosana possuem alta permeabilidade a gases como o oxigênio, regulação do consumo de água por evaporação, além de estimular a drenagem do fluido inflamatório nas lesões (MI et al., 2001). Estudos realizados posteriormente em animais constataram que a quitosana aplicada como membrana densa tem um excelente desempenho no processo de cicatrização tecidual melhorando a coagulação, a inflamação, a angiogênese, a reepitelização, a contração da ferida e a remodelagem diminuindo o tempo de tratamento e o desenvolvimento de cicatrizes (ALEMDAROGLU et al., 2006; PAUL; SHARMA, 2004). Por outro lado, Clasen et al. (2006) evidenciaram que membranas compostas somente por quitosana apresentaram baixa permeabilidade ao fluido inflamatório e ao oxigênio e eram rígidas quando secas. Além disso, Costa Júnior e Mansur (2008) relataram que a resistência mecânica e a maleabilidade dos filmes compostos somente por quitosana são restritas, portanto, é de grande importância e interesse a sua associação com outros materiais, sejam eles inorgânicos, proteicos, glicosaminoglicanos e outros polímeros naturais (BUENO, 2010).

3.5.2 Alginato de Sódio

O alginato de sódio é um sal de sódio do ácido algínico, é um polissacarídeo aniônico natural versátil, localizado nas paredes celulares e nos espaços intercelulares das algas pardas. As espécies com maior conteúdo de alginato são: *Laminaria hyperborean* e *digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* e *Turbinarias* (PÉREZ; MATOS, 2001). Além disso, existe relato que o alginato também pode ser produzido por algumas bactérias como a *Azotobacter vinelandii* e algumas espécies de *Pseudomonas* (MAURSTAD et al., 2008).

Considerado um copolímero linear, é formado pela repetição de dois monômeros distintos, o (1,4)- α -L-guluronato ou unidade G e o (1,4)- β -D-manuronato ou unidade M (Figura 3) arrumados de maneira alternada ou sequenciados em blocos ao longo da cadeia. As propriedades físicas e químicas do alginato são influenciadas pela composição, pela massa molar, pela extensão e sequência dos monômeros (GEORGE; ABRAHAM, 2006; CHAN et al., 2002).

Figura 3 - Representação da estrutura dos meros e do polímero natural alginato.



(a) meros dos ácidos β -D-manurônico (bloco M), (b) α -L-gulurônico (bloco G), (c) polímero natural alginato.

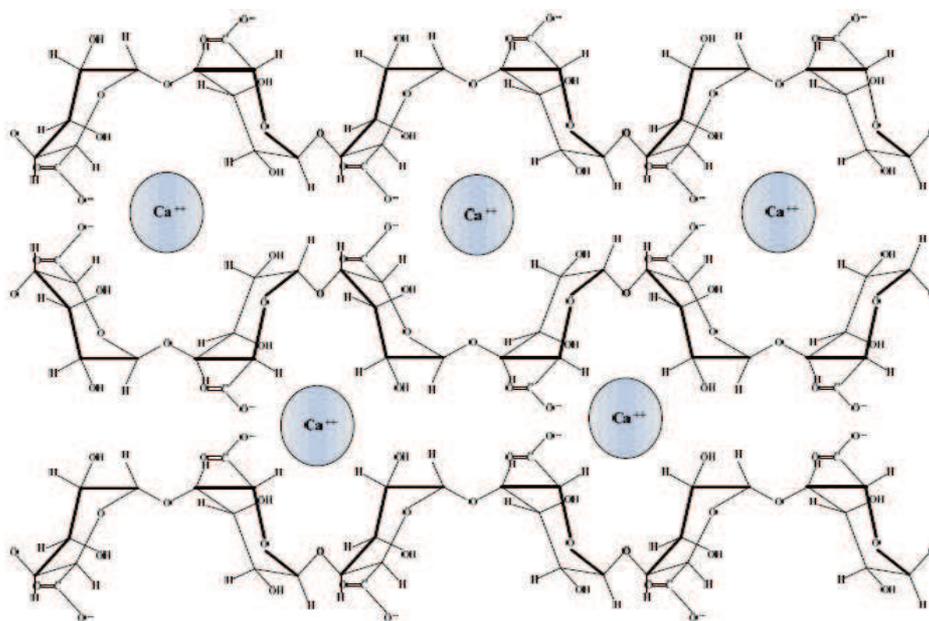
Fonte: ERTESVÁG; VALLA (1998).

O alginato de sódio em pó é obtido conforme os seguintes processos: maceração das algas e extração alcalina onde os constituintes solúveis são removidos com a lavagem em água quente e os insolúveis separados por filtração. Posteriormente, é adicionado ácido clorídrico ao composto obtido para precipitação na forma de ácido algínico, em seguida ocorre a lavagem com uma solução de álcali forte na qual a mistura é aquecida para extração e dissolução do ácido algínico que é precipitado com o acréscimo de cloreto de cálcio, em seguida é adicionado carbonato de sódio até a obtenção do alginato de sódio, a pasta resultante é seca e moída (MCHUGH, 2003).

O alginato é biocompatível, biodegradável, hidrofílico, tem alta bioadesividade, baixa toxicidade, baixo custo e possui diversas aplicações podendo ser utilizado na indústria têxtil, na alimentícia, na farmacêutica, na cosmética, na agricultura, na medicina e na engenharia de tecidos (GEORGE; ABRAHAM, 2006). Além disso, o alginato interage com metais polivalentes catiônicos, como cálcio, estrôncio, cobre, zinco e bário, formando géis termoestáveis devido a uma estável associação entre os blocos M e G. O cálcio tem grande relevância, pois promove

uma interação iônica com os blocos do ácido gulurônico (blocos G) que trocam seus íons sódio pelos íons cálcio formando uma estrutura tridimensional composta por fibras de alginato ligadas ionicamente aos íons cálcio formando uma rede na qual os íons cálcio se acomodam entre as cadeias do alginato (SACCHETIN, 2009; DONG et al., 2006). Esta reticulação promove o aumento da resistência mecânica e das propriedades de barreira (ZACTITI; KIECKBUSCH, 2006). A formação desta estrutura pode ser observada na figura 4.

Figura 4 - Modelo da formação da rede entre os íons cálcio e o alginato.



Fonte: SACCHETIN (2009).

Devido a sua capacidade de gelificação e a sua propriedade hemostática os curativos feitos com alginato podem ser utilizados na recuperação de feridas (SARTORI et al., 1997), pois promove a analgesia, auxilia na construção do tecido de granulação e na coagulação (ABREU et al., 2008). Essa afirmação também consta no estudo de Paul e Sharma (2004) em que os curativos feitos contendo alginato apresentaram pouca ou nenhuma adesão à ferida facilitando a troca destes curativos auxiliando na diminuição da dor e de possíveis complicações decorrentes desta troca.

Além disso, curativos contendo alginato possuem a habilidade de ativar macrófagos, de auxiliar no processo de cicatrização e reptelização do tecido (FAN et

al., 2006) tornando-se uma excelente alternativa no tratamento de feridas agudas e crônicas.

3.6 Complexos polieletrólitos (PECs)

A formação dos complexos polieletrólitos (PECs) ocorre espontaneamente quando polímeros com cargas opostas são misturados em soluções aquosas (CÁRDENAS et al., 2003). A força de condução para formação dos PECs é a entropia e a forte interação entre os polímeros (VERMA et al., 2011) devido a forças eletrostáticas, além disso, essa interação também pode ocorrer devido as ligações de hidrogênio, ligações dipolo-dipolo e ligações de Van der Waals. A união destes dois biopolímeros (quitosana e alginato) influencia em algumas propriedades, como solubilidade, condutividade, propriedades mecânicas, permeabilidade e condutividade elétrica (LEE et al., 1999), além disso alterações do pH do meio e das concentrações das soluções podem influenciar na formação desses complexos (BERGER et al., 2004). Basicamente para a formação destes complexos os grupos aminos (NH_3^+) da quitosana que possuem cargas positivas interagem com os grupos carboxílicos (COO^-) do alginato que apresentam carga negativa (YAN et al., 2000).

Como mencionado anteriormente o pH do meio altera o comportamento deste complexo polieletrólito, em valores de pH altos e baixos ocorre um déficit na interação entre os polímeros, para que isso não ocorra é necessário que o complexo seja estável e tenha um pH próximo ou igual a 5,28, valor este estabelecido por Cárdenas et al. (2003), em que a quitosana está completamente protonada e o alginato completamente desprotonado.

Quando a solução de quitosana entra em contato com a solução de alginato ou vice-versa, devido à alta velocidade de reação entre eles são formadas cápsulas poliméricas. Esta rápida coacervação favorece o desenvolvimento de uma interfase que separa os polímeros e impede a reação. Portanto, para preparação de um bom filme homogêneo o coacervado formado tem que ser fino e uniforme, para isso a velocidade da reação tem que ser baixa evitando a formação desta interfase e fazendo com que a reação seja completa (YAN et al., 2000). Além disso, para que este complexo seja mais estável ionicamente, a adição de cálcio é interessante (BERGER et al., 2004), porém existe uma concentração limite para que isso ocorra,

pois a adição de altas concentrações de cálcio provoca diminuição da viscosidade da solução (PÉREZ; MATOS, 2001).

A literatura mostra diferentes trabalhos em que alguns parâmetros durante o processo podem alterar a obtenção de coacervados finos e uniformes para posterior obtenção de filmes homogêneos. O trabalho de Saether et al. (2008) constatou que velocidades maiores de agitação durante a mistura do alginato com a quitosana diminuem o tamanho da partícula, assim como o aumento do pH leva a um aumento do tamanho dos agregados poliméricos. A adição de um solvente, tipo de agitador, velocidade de agitação, tempo de reação, temperatura e tempo de secagem, concentração de plastificante e concentração dos polímeros foi estudado por Prajapati e Sawant (2009) que constataram que diferentes concentrações dos polímeros altera a viscosidade da solução, a força de tensão, o alongamento e a taxa de inchamento.

Os filmes obtidos a partir da união destes polímeros, apresentam um alto potencial para serem utilizados na engenharia de tecidos (VERMA et al., 2011), são flexíveis, finos, transparentes e eficazes, promovem uma eficiência maior na liberação controlada de medicamentos e na absorção dos fluidos das lesões (PAUL; SHARMA, 2004), são biocompatíveis e estáveis (BUENO, 2010). Além disso, esta união proporciona menor instabilidade a alterações de pH e podem suavizar o preço final dos possíveis produtos (YANG et al., 2000; WANG et al., 2001).

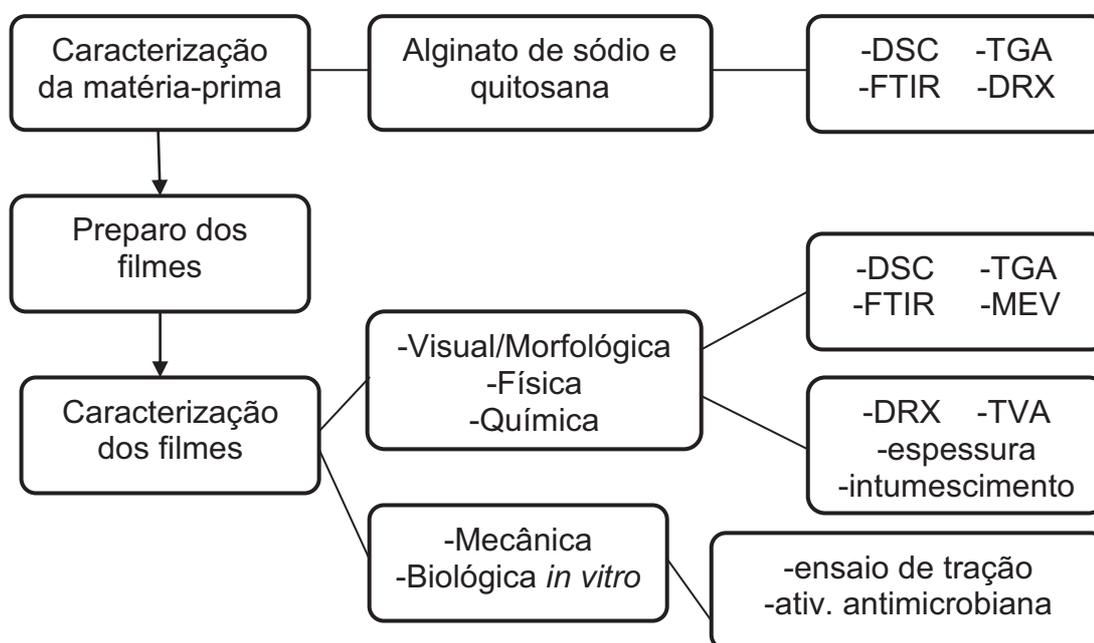
Segundo Rodrigues (2008) não existe uma padronização para a caracterização de filmes contendo quitosana e alginato, no entanto conforme trabalhos anteriores, as caracterizações para os filmes com potencial para utilização como biomaterial no tratamento de lesões cutâneas são a determinação da espessura (WANG et al., 2002), do grau de intumescimento (MI et al., 2003), da permeabilidade ao vapor d'água e ao oxigênio (MI et al., 2003), da morfologia da superfície (WANG et al., 2001), das propriedades mecânicas (MARRECO et al., 2004) e a citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* (MARRECO et al., 2004; WANG et al., 2002). Além das caracterizações citadas acima, foi realizada neste trabalho a análise dos grupos químicos através do infravermelho, o comportamento térmico pela calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria e a determinação do grau de cristalinidade dos filmes.

4 METODOLOGIA

4.1 Etapas do desenvolvimento do trabalho

A figura 5 apresenta esquematicamente o fluxograma de todas as etapas do desenvolvimento do trabalho.

Figura 5 – Fluxograma das etapas de trabalho.



4.2 Análise Estatística

As variáveis quantitativas foram descritas através da média e desvio padrão. Utilizou-se a ferramenta ANOVA *One Way* para comparação entre os grupos. Os resultados foram apresentados em gráficos e tabelas. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

4.3 Materiais

Neste trabalho foram utilizados sais e reagentes em grau analítico (P.A) e água Milli-Q com baixa resistividade (18,0MΩ.cm) a 25°C, foi empregada no

processo de todas as soluções. Alginato de sódio em pó da Sigma-Aldrich[®] (massa molar (MW)= 100.000 g/mol, com aproximadamente 61% de ácido manurônico e 39% de ácido gulurônico), quitosana em pó da Sigma-Aldrich[®] (massa molar (MW)= 340.000 g/mol e grau de desacetilação (GD)= $76 \pm 2\%$, viscosidade= 800-2000Cp – 1,0% em ácido acético), ácido acético (CH₃COOH da Cinética[®]), cloreto de cálcio (CaCl₂ da Vetec) e hidróxido de sódio (NaOH da Cinética[®]).

4.4 Preparação dos filmes contendo alginato de sódio

Os filmes contendo alginato de sódio foram preparados a partir da dissolução de 5 gramas de alginato de sódio em pó em 500mL de água destilada (1%*m/v*), a solução foi mantida por 24 horas sob agitação de aproximadamente 100rpm e seu pH foi alterado para 5,28 através da adição de ácido acético. Posteriormente, sob agitação constante e vigorosa foi adicionado gota-a-gota 50mL de solução de cloreto de cálcio a 2%. Após a completa adição o sistema foi mantido por mais 30 minutos sob a mesma agitação. A solução resultante foi desaerada em sistema sob vácuo com uma pressão de aproximadamente 350mmHg por 120 minutos. Após 24 horas a solução foi dividida em placas de Petri de poliestireno de 8,5cm de diâmetro e seca a 50°C em estufa por 24 horas. Os filmes obtidos foram imersos em uma solução de cloreto de cálcio a 2%(*m/v*) por 1 hora e secos em temperatura ambiente por 48 horas.

4.5 Preparação dos filmes contendo quitosana

Os filmes contendo quitosana foram preparados a partir da dissolução de 5 gramas de quitosana em pó (1%*m/v*) em 500mL de solução aquosa de ácido acético a 2%(*v/v*), a solução permaneceu sob agitação de aproximadamente 100rpm por 24 horas. Posteriormente, o pH da solução foi alterado para 5,28 através da adição de NaOH. A solução resultante foi desaerada em sistema sob vácuo com uma pressão de aproximadamente 350mmHg por 120 minutos. Após 24 horas a solução foi dividida em placas de Petri de poliestireno de 8,5cm de diâmetro e seca a 50°C em estufa por 24 horas. Os filmes obtidos foram lavados em água deionizada por 1 hora e secos em temperatura ambiente por 48 horas.

4.6 Preparação dos filmes constituídos de alginato de sódio e quitosana

Com o intuito de verificar se a quantidade de quitosana altera as propriedades morfológicas, físicas, químicas, mecânicas e biológicas dos diferentes filmes obtidos foram realizados três ensaios distintos. A quitosana 1%(m/v) foi diluída em solução aquosa de ácido acético a 2%(v/v), e adicionada gota-a-gota sob agitação magnética constante de aproximadamente 100rpm na solução aquosa de alginato de sódio a 1%(m/v), após a completa adição a solução resultante foi mantida por 30 minutos sob a mesma agitação. Posteriormente, foi adicionado NaOH a 0,5M mantendo-se por mais 10 minutos à mesma agitação. Em seguida, cloreto de cálcio a 2% foi adicionado e o sistema foi mantido por mais 10 minutos sob agitação vigorosa de aproximadamente 1000rpm seguida por mais 5 minutos de agitação lenta de aproximadamente 50rpm. A mistura polimérica obtida foi desaerada sob vácuo a uma pressão de aproximadamente 350mmHg por 120 minutos.

Após a desaeração, a solução foi dividida em placas de Petri de poliestireno de 8,5cm e seca a 50°C em estufa por 48 horas. Posteriormente, os filmes obtidos foram imersos em uma solução de CaCl₂ a 2%(m/v) por 1h e submetidos a mais duas imersões em água deionizada por 1h cada. Os filmes foram armazenados a temperatura ambiente por 48 horas antes de serem submetidos aos testes de caracterização. O quadro 2 expõe com detalhes os procedimentos utilizados e as alterações empregadas para a realização de cada ensaio.

Quadro 2 – Procedimentos para obtenção das amostras.

Material	Composição da solução inicial	Procedimento
1	90mL de solução aquosa de alginato de sódio a 1%(m/v) 45mL de quitosana a 1%(m/v) em ácido acético a 2%(v/v)	Solução de quitosana adicionada gota-a-gota sob agitação magnética constante de 100rpm à solução de alginato de sódio; Agitação da solução por 30 minutos a 100rpm; Adição de 20,40mL de NaOH a 0,5M sob agitação a 100rpm por 10 minutos; Adição de 1,35mL de CaCl ₂ a 2% sob agitação de 1000rpm por 10 minutos; Agitação a 50rpm por 5 minutos; Desaeração em bomba de vácuo por 120 minutos; Secagem em estufa a 50°C por 48 horas; Imersão dos filmes obtidos em 150mL de CaCl ₂ a

Continuação do Quadro 2 – Procedimentos para obtenção das amostras.

		2% por 1 hora seguida de mais duas imersões em 200mL de água deionizada por 1 hora cada; Secagem final em temperatura ambiente por 48 horas.
2	90mL de solução aquosa de alginato de sódio a 1%(m/v) 90mL de quitosana a 1%(m/v) em ácido acético a 2%(v/v)	Solução de quitosana adicionada à solução de alginato de sódio gota-a-gota sob agitação magnética constante de 100rpm; Agitação da solução por 30 minutos a 100rpm; Adição de 40,50mL de NaOH a 0,5M sob agitação a 100rpm por 10 minutos; Adição de 1,8mL de CaCl ₂ a 2% sob agitação de 1000rpm por 10 minutos; Agitação a 50rpm por 5 minutos; Desaeração em bomba de vácuo por 120 minutos; Secagem em estufa a 50°C por 48 horas; Imersão dos filmes obtidos em 150mL de CaCl ₂ a 2% por 1 hora seguida de mais duas imersões em 200mL de água deionizada por 1 hora cada; Secagem final em temperatura ambiente por 48 horas.
3	90mL de solução aquosa de alginato de sódio a 1%(m/v) 180mL de quitosana a 1%(m/v) em ácido acético a 2%(v/v)	Solução de quitosana adicionada à solução de alginato de sódio gota-a-gota sob agitação magnética constante de 100rpm; Agitação da solução por 10 minutos a 1000rpm; Adição de 76,80mL de NaOH a 0,5M sob agitação a 1000rpm por 10 minutos; Adição de 2,7mL de CaCl ₂ a 2% sob agitação de 1000rpm por 10 minutos; Desaeração em bomba de vácuo por 120 minutos; Secagem em estufa a 40°C por 24 horas; Imersão dos filmes obtidos em 150mL de CaCl ₂ a 2% por 1 hora seguida de mais duas imersões em 200mL de água deionizada por 1 hora cada; Secagem final em temperatura ambiente por 48 horas.

4.7 Caracterização da matéria-prima

O alginato de sódio e a quitosana em pó foram caracterizados empregando as técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TGA), espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) e difração de raios X (DRX).

4.7.1 Análise térmica dos polímeros em pó

A análise térmica do alginato de sódio e da quitosana em pó foi realizada através da calorimetria exploratória diferencial (DSC) no equipamento da marca SII

EXSTAR, modelo DSC 7020 em atmosfera de nitrogênio com vazão de 90mL/min, taxa de aquecimento 10°C/min com massa de aproximadamente 2mg em suporte de alumínio. As amostras foram submetidas a duas análises, a primeira partiu de 0°C a 250°C para o alginato de sódio e de 0°C a 500°C para a quitosana e a segunda de -50°C até 150°C para o alginato de sódio e de 0°C a 150°C para a quitosana.

A termogravimetria (TGA) foi obtida através do equipamento SII EXSTAR, modelo TG/DTA7200, em atmosfera de nitrogênio com vazão de 90mL/min e taxa de aquecimento 10°C/min, com massa de aproximadamente 6mg em suporte de alumínio na temperatura compreendida entre 30°C a 800°C para o alginato de sódio e de aproximadamente 2mg entre 30°C e 800°C para a quitosana.

4.7.2 Análise dos grupos químicos dos polímeros em pó

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho-FTIR foi realizada em um espectrofotômetro da Shimadzu Corporation, modelo IRPrestige-21 com transformada de Fourier, FTIR-8400S e acessório ATR. A técnica utilizada foi de reflectância difusa com 30 varreduras entre 4000cm⁻¹ e 400cm⁻¹, com resolução de 4cm⁻¹ e intervalo de 2cm⁻¹. Os espectros obtidos foram normalizados e as principais bandas de vibração foram identificadas de acordo com os seus respectivos grupos químicos.

4.7.3 Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos polímeros em pó

A determinação do grau de cristalinidade dos polímeros foi realizada empregando-se a técnica de difração de raios X (DRX). As medidas foram conduzidas em um equipamento SHIMADZU XRD 7000 com 2θ variando de 3,00 a 90,00° com passo de 0,06°. De acordo com as áreas do difratograma, o grau de cristalinidade foi calculado pelo programa Microcal Origin[®] versão 8.0 empregando-se a equação abaixo, onde AP é a área dos picos e AT a área total.

$$GC = \frac{AP}{AT} \times 100 \quad (1)$$

4.8 Caracterização dos filmes

4.8.1 Aspecto visual dos filmes

Os diferentes filmes obtidos foram inspecionados quanto ao aspecto a olho nu e fotografados com uma câmera digital modelo Sony Cyber-Shot DSC-W320.

4.8.2 Espessura dos filmes

A espessura dos diferentes filmes secos foi mensurada através de um micrômetro eletrônico externo da Schut realizando-se dez medições em diferentes pontos ao longo do filme.

4.8.3 Análise morfológica dos filmes

A superfície dos filmes obtidos foram submetidas à análise morfológica por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) em equipamento SHIMADZU SSX-550 através da leitura dos elétrons secundários com uma tensão de aceleração de 15kV, distância de trabalho de 17mm e magnitude de 500 vezes. Para isso, os filmes foram cobertos com uma fina camada de ouro por *sputtering* e dispostos a máxima distância do alvo para evitar danos aos mesmos.

4.8.4 Perfil de hidratação dos filmes

O perfil de hidratação foi avaliado através do grau de intumescimento (GI). Os diferentes filmes obtidos foram pesados e colocados em um béquer, no qual 50mL de solução tampão com pH (4±0,5) e pH (7±0,5) da Nalgon foi adicionado. O intumescimento foi avaliado dentro de intervalos regulares de 30, 60, 90 e 120 minutos. Esta análise foi realizada em triplicata e a média dos valores obtidos foi empregada na equação 2, onde M_0 é a massa inicial e M_i a massa das amostras úmidas no tempo.

$$GI = \frac{M_i - M_0}{M_0} \times 100 \quad (2)$$

4.8.5 Medida da transmissão do vapor d'água (TVA) dos filmes

A medida da transmissão do vapor d'água foi realizada em triplicata conforme o método "B" da ASTM E96/10 utilizando cúpulas de permeabilidade ("Payne permeability cup") através do copo de Paddington modificado, no qual uma parte da cúpula recebeu a deposição 10mL de água destilada e a outra parte que possui um orifício, serviu para fixação dos filmes que tinham uma área de 4,9cm² cada. Cada cúpula foi pesada e armazenada em dessecador com sílica gel desidratada. As medidas foram feitas em 24, 48, 72, 96 e 120 horas, porém a análise do resultado foi realizada no tempo total do ensaio (120 horas). Um cuidado a ser tomado neste ensaio, foi que a cada medida realizada a sílica gel utilizada foi trocada por uma sílica gel desidratada em estufa. Para o cálculo da transmissão de vapor d'água, a média dos valores obtidos foi aplicada na equação 3, que tem como padrão a TVA no tempo de 24hs. O peso transmitido em gramas é expresso por "g", o tempo em horas por "t" e a área em cm² do filme por "a".

$$TVA = g \times 24 / t \times a \quad (3)$$

4.8.6 Análise térmica dos filmes

Os diferentes filmes obtidos foram submetidos à análise térmica empregando-se as técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e de termogravimetria (TGA). Para obtenção da DSC uma pequena porção dos diferentes filmes foram colocados em um cadinho de alumínio com a tampa fechada, em equipamento da marca SII EXSTAR, modelo DSC 7020, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min⁻¹, partindo de 30°C até 350°C, em atmosfera dinâmica N₂, com uma vazão de 90mL/min⁻¹.

Para a obtenção da curva de TGA uma pequena porção também foi colocada em um suporte de alumínio no equipamento SII EXSTAR modelo TG/DTA7200, em atmosfera dinâmica de nitrogênio com uma vazão de 90mL/min⁻¹, a uma razão de aquecimento de 10°C/min⁻¹, partindo da temperatura ambiente até 800°C.

4.8.7 Análise dos grupos químicos dos filmes

A identificação dos grupos químicos dos filmes foi realizada empregando-se a espectroscopia de absorção na região do infravermelho-FTIR em um espectrofotômetro Shimadzu Corporation, modelo IRPrestige-21 com transformada de Fourier, FTIR-8400S, acessório ATR, por reflectância difusa com 30 varreduras entre 4000cm^{-1} e 400cm^{-1} , com resolução de 4cm^{-1} e intervalo de 2cm^{-1} . Os espectros foram normalizados e as principais bandas de vibrações encontradas foram relacionadas aos principais grupos químicos dos polímeros em pó.

4.8.8 Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos filmes

Os parâmetros de cristalinidade dos filmes foram obtidos pela técnica de difração de raios X (DRX) em equipamento SHIMADZU XRD 7000, com 2θ variando de $4,00$ a $90,00^\circ$ com passo de $0,06^\circ$. O grau de cristalinidade foi calculado pelo programa Microcal Origin[®] versão 8.0 tendo como base a área dos picos (AP) e a área total (AT), de acordo com a equação 1.

4.8.9 Caracterização das propriedades mecânicas dos filmes

Para avaliação das propriedades mecânicas dos diferentes filmes, foi realizado o ensaio de tração em 6 amostras de cada filme, no qual a tensão máxima de tração (σ), o módulo de elasticidade (E), a % de alongamento e a tenacidade foram obtidos em uma máquina universal Shimadzu AG-X 10kN, de acordo com a ASTM D882/02. Neste ensaio os filmes sob a forma de gravata borboleta com razão mínima de 8 entre largura e espessura, foram tracionados com 50N numa velocidade de 5mm/min.

A tensão máxima de tração (σ) foi calculada pela relação entre a força de tração aplicada sobre a área da seção transversal de acordo com a equação 4.

$$\sigma = F/A \quad (4)$$

O módulo de elasticidade (E) foi obtido utilizando a equação 5 que considera a variação da tensão de tração ($\Delta\sigma$) e a variação da deformação do material ($\Delta\epsilon$).

$$E = \Delta\sigma / \Delta\epsilon \quad (5)$$

A % de alongamento que é referente à ductibilidade foi calculada pela equação 6, onde L_f é o comprimento no momento da fratura e L_0 o comprimento útil.

$$\%AL = L_f - L_0 / L_0 \times 100 \quad (6)$$

Para obtenção da tenacidade foi utilizado o programa Microcal Origin[®] versão 8.0 através do cálculo da área sob a curva obtida durante as análises.

4.9 Caracterização biológica dos filmes *in vitro*

Para a realização desta caracterização os diferentes filmes obtidos foram esterilizados na empresa CENTRAL ETO DE ESTERILIZAÇÃO LTDA por vapor saturado de óxido de etileno por 180 minutos, com uma temperatura interna da câmara de 54°C, com aeração mecânica de 120 minutos e hiperventilação de 60 minutos.

4.9.1 Análise da atividade antimicrobiana dos filmes

Para esta análise foi utilizada a cultura da bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* que foi inoculada em uma placa de ágar nutriente à 35°C por 48hs e em seguida reativada em infuso de cérebro e coração (caldo BHI) à 35°C por 24 horas. Este ensaio foi realizado em triplicata e as placas anteriormente preparadas contendo ágar nutriente foram inoculadas em sua superfície com 0,1mL de *Staphylococcus aureus*. Os filmes cortados em formato discóide com diâmetro de aproximadamente 6mm foram colocados sobre a superfície dessas placas e deixados em estufa à 35°C por até 48hs. A atividade antimicrobiana foi avaliada mediante os diâmetros da inibição incluindo o diâmetro do filme.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização da matéria-prima

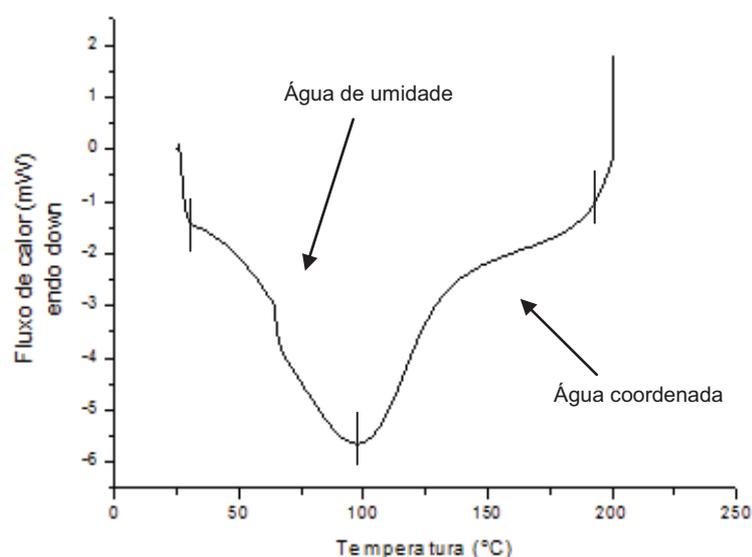
5.1.1 Análise térmica do alginato de sódio em pó

A figura 6 representa a curva DSC do alginato de sódio em pó sob atmosfera de N₂ entre a faixa de temperatura de 0°C e 250°C. Na faixa de temperatura de

30°C a 200°C observa-se um evento endotérmico que pode ser associado à desidratação da amostra. Como o início da desidratação inicia-se à temperatura ambiente acredita-se se tratar de umidade, contudo o término do processo é em uma temperatura que pode ser associada a molécula de água coordenada ou ligada. Sendo assim, pelos resultados encontrados, o alginato de sódio possui dois tipos de água em sua estrutura, a água não ligada, umidade, e a outra ligada. Tagliari (2012) observou comportamento semelhante para o alginato de sódio, no seu estudo entre as temperaturas de 30°C e 250°C, no qual o alginato de sódio apresenta um evento endotérmico que inicia a 48°C sendo referente a desidratação.

Ostrowska-Czubenko e Gierszewska-Druzynska (2009) também observaram através da DSC e TGA em seu estudo que o alginato de sódio apresenta em sua estrutura dois tipos de água, a água de umidade e a água coordenada, sendo esta dividida em água ligada através de ligações de hidrogênio, e a água mais fortemente ligada por meio de interações polares com grupos carboxilatos.

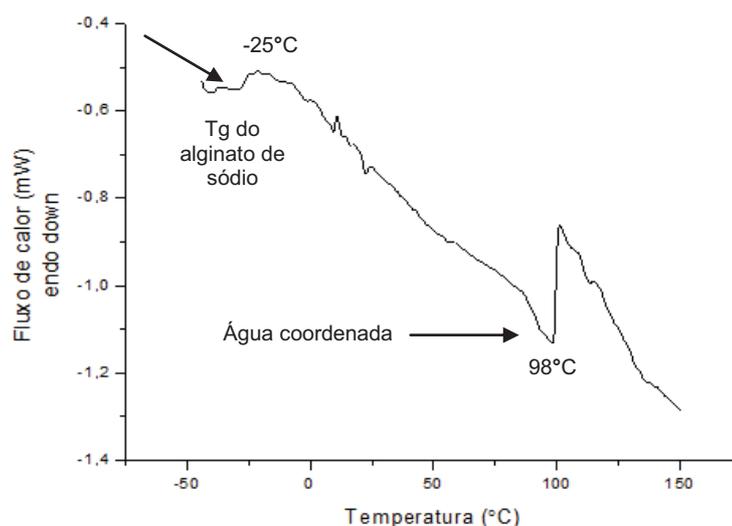
Figura 6 - Curva DSC do alginato de sódio em pó entre 0°C e 250°C (1ª corrida).



Foi realizada uma nova varredura empregando-se a técnica DSC, na faixa de temperatura de -50°C até 150°C (Figura 7). Nesta faixa de temperatura foi observado uma mudança na linha de base à -25°C, que pode ser a temperatura de transição vítrea (T_g) do alginato de sódio, este valor é semelhante ao encontrado por Segato (2007) para o alginato de sódio, sob atmosfera de N_2 . Observa-se

também um pico endotérmico a 98°C que segundo Ostrowska-Czubenko e Gierszewska-Druzynska (2009) pode se tratar da água fortemente ligada por meio de interações polares com grupos carboxilatos. Este fato foi observado e confirmado neste estudo através da TGA.

Figura 7-Curva DSC do alginato de sódio em pó entre -50°C e 150°C (2ª corrida).



Na análise termogravimétrica o percentual de perda de massa encontrado foi obtido por meio do uso da equação 4, onde MI é a massa inicial de cada etapa, MF é a massa final de cada etapa e M0 é a massa inicial da amostra.

$$\% \text{ de perda de massa} = \frac{MI - MF}{M0} \times 100 \quad (4)$$

Os resultados obtidos pela análise da curva termogravimétrica do alginato de sódio são apresentados na figura 8. Segundo Ostrowska-Czubenko e Gierszewska-Druzynska (2009) o alginato de sódio em pó sob atmosfera de nitrogênio apresenta 3 etapas de perda de massa. Neste estudo também foram observadas 3 etapas de perda de massa. A primeira etapa ocorre devido a desidratação da amostra obtendo-se o composto anidro entre a faixa de temperatura de 25°C a 200°C (perda de 14% em peso). A segunda etapa do processo de decomposição inicia-se a temperatura de 200°C e termina a 550°C, estando associada a degradação do

alginato de sódio anidro em carbonato de sódio (Na_2CO_3) sendo observado uma perda de 50% em peso. A terceira etapa inicia-se a 550°C e termina a 800°C , possui perda de 20% em peso e está associada à decomposição do carbonato de sódio (Na_2CO_3) em óxido de sódio (Na_2O) com liberação de dióxido de carbono (CO_2). O resíduo final foi obtido a temperatura de 800°C e corresponde a 16% em peso da amostra inicial. A tabela 1 apresenta os valores da TGA e DSC do alginato de sódio nos eventos térmicos de desidratação e decomposição.

Figura 8 - Curva TGA do alginato de sódio em pó.

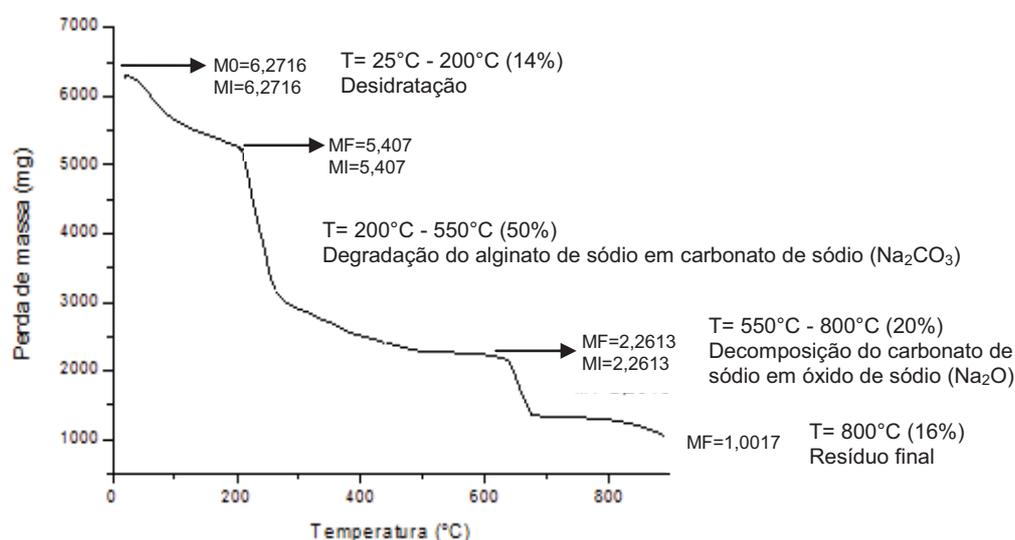


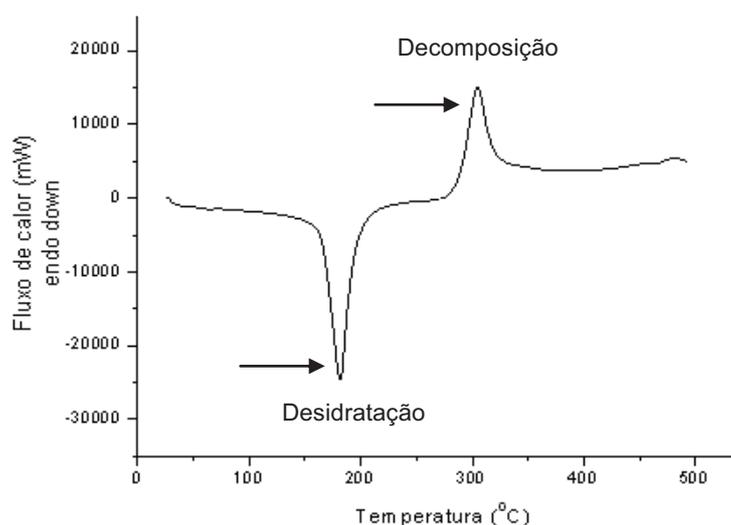
Tabela 1 – Resultado da TGA e DSC do alginato de sódio.

Alginato de sódio	TGA		DSC
Evento térmico	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Perda de massa (%)	Faixa de temperatura ($^\circ\text{C}$)
Transição vítrea (T_g)	x	x	-25
Desidratação	25 - 200	14	30 - 200
Degradação térmica do alginato de sódio	200 - 550	50	x
Decomposição do Na_2CO_3	550 - 800	20	x
Resíduo final	800	16	x

5.1.2 Análise térmica da quitosana em pó

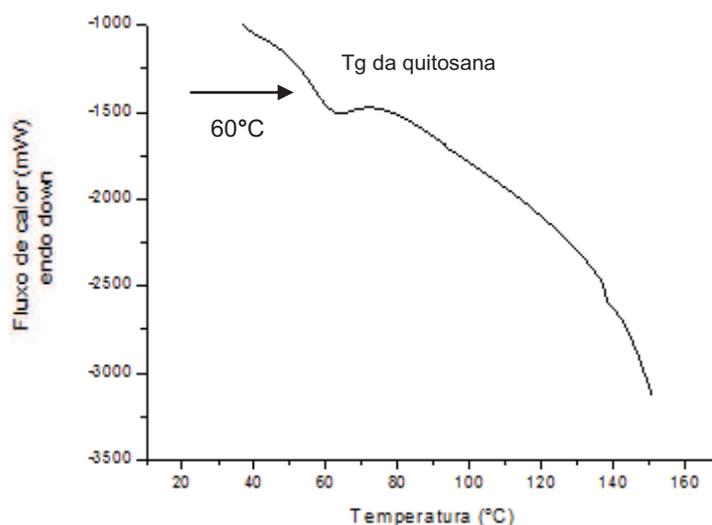
A curva DSC da quitosana em pó (Figura 9) sob atmosfera de nitrogênio na faixa de temperatura de 0°C a 500°C evidencia um pico endotérmico a 180°C, correspondendo ao processo de desidratação e um pico exotérmico a 303°C referente à sua decomposição. Os dois processos observados estão de acordo com o observado por Santos et al. (2003) que obteve dois eventos térmicos para as amostras de quitosana sob atmosfera de nitrogênio nas curvas de DSC.

Figura 9 - Curva DSC da quitosana em pó entre 0°C e 500°C (1ª corrida).



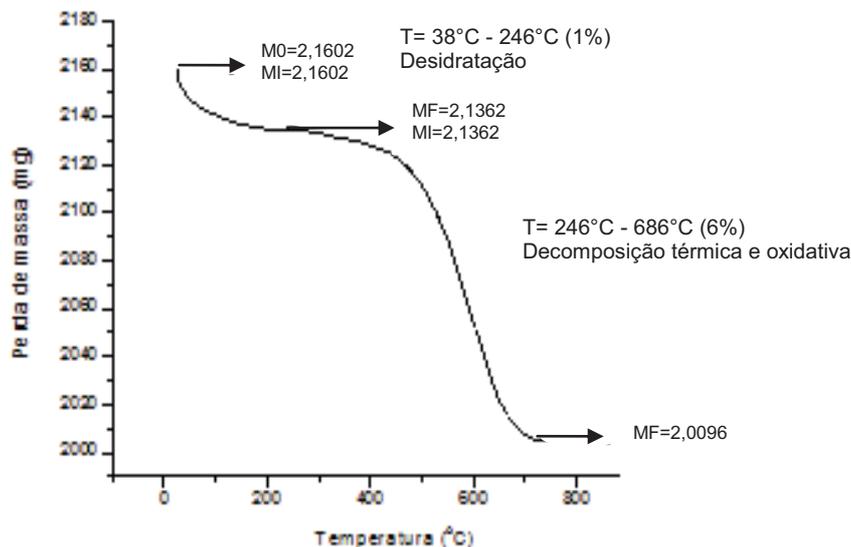
A figura 10 mostra a curva DSC para a segunda corrida obtida na faixa de temperatura de 0°C e 150°C, na qual se observa uma deflexão em 60°C podendo ser associada à temperatura de transição vítrea (T_g) da quitosana, o formato da curva obtido neste estudo foi semelhante ao encontrado por Santos et al. (2003), porém o valor encontrado em seu estudo para a T_g foi de aproximadamente 30°C. Esta diferença pode estar relacionada com a massa molar e o grau de desacetilação da quitosana, pois Santos et al. (2003) utilizou uma quitosana de baixa massa molar com grau de desacetilação de 84,7% e neste trabalho a quitosana utilizada apresentava massa molar média e grau de desacetilação de $76 \pm 2\%$.

Figura 10 - Curva DSC da quitosana em pó entre 0°C e 150°C (2ª corrida).



A figura 11 mostra a curva de TGA da quitosana em pó, o processo de degradação da amostra ocorre em duas etapas, a primeira foi associada ao processo de desidratação que ocorre entre 38°C e 246°C, sendo que nesta etapa a amostra perde 1% em peso, e a segunda à decomposição térmica e oxidativa com geração de material carbonizado que ocorre a partir de 246°C até a 686°C. Nesta etapa observa-se uma perda de 6% em peso. O cálculo de perda de massa das etapas foi realizado através da equação 4 citada anteriormente. Os resultados obtidos neste trabalho estão condizentes com os resultados observados por Neto et al. (2005) e por Chaves et al. (2009) que realizaram a termogravimetria em condições experimentais semelhantes a deste estudo.

Figura 11 - Curva TGA da quitosana em pó.



Na tabela 2 estão relacionados os valores de temperatura associado a cada processo térmico, desidratação e degradação, da quitosana em pó pelas técnicas da TGA e DSC.

Tabela 2 – Resultado da TGA e DSC envolvendo a desidratação e a decomposição da quitosana em pó.

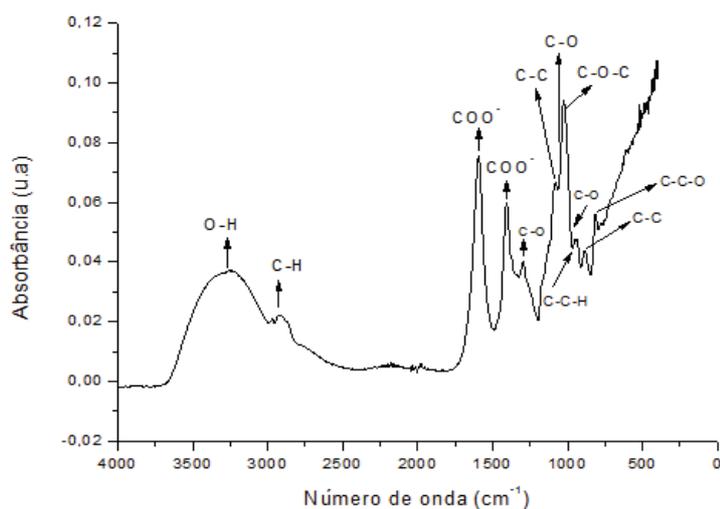
Quitosana	TGA		DSC
Evento térmico	Temperatura (°C)	Perda de massa (%)	Faixa de temperatura (°C)
Transição vítrea (Tg)	x	x	60
Desidratação	38 - 246	1	180
Decomposição	246 - 686	6	303

5.1.3 Análise dos grupos químicos dos polímeros em pó

Para o alginato de sódio em pó (Figura 12) as principais bandas foram observadas em 3246cm^{-1} referente ao estiramento do grupo O-H (SARTORI et al., 1997), em 2925cm^{-1} ao estiramento de C-H (OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009), em 1614cm^{-1} , 1591cm^{-1} , 1431cm^{-1} e 1406cm^{-1} ao estiramento assimétrico e simétrico do COO^- dos grupos carboxílicos

livres (SOARES et al., 2004; OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009), em 1295cm^{-1} e 1060cm^{-1} ao estiramento de C-O (OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009), em 1098cm^{-1} ao estiramento de C-C, em 1023cm^{-1} ao estiramento de C-O-C, em 937cm^{-1} ao de C-O e C-C-H, em 875cm^{-1} ao C-C, em 826cm^{-1} ao C-C-O (Fan et al., 2006) e em 800cm^{-1} e 700cm^{-1} relativo aos ácidos manurônico e gulurônico respectivamente (SOARES et al., 2004). Alguns destes valores são semelhantes aos encontrados por Sartori et al. (1997), Fan et al. (2006) e Ostrowska-Czubenko e Gierszewska-Druzynska (2009).

Figura 12 - Espectro do infravermelho do alginato de sódio em pó com seus respectivos grupos químicos.



A tabela 3 (página 49) apresenta as principais bandas do alginato de sódio em pó com seus respectivos grupos químicos.

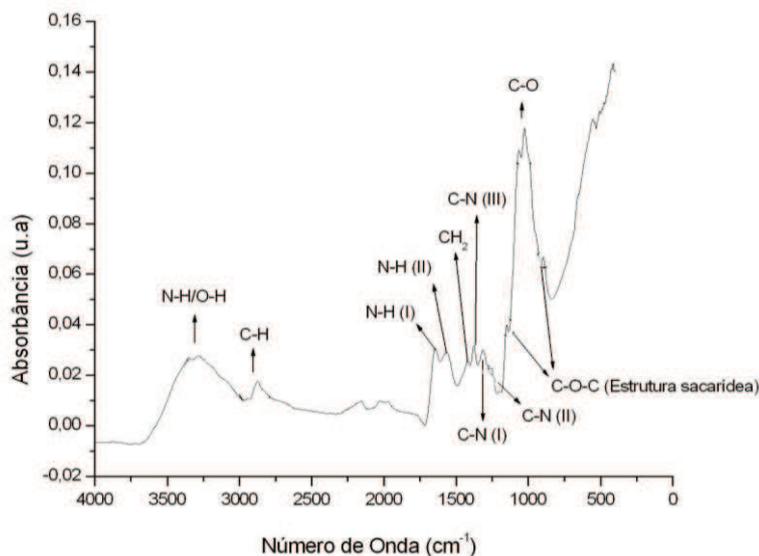
Tabela 3 - Bandas de absorção na região do infravermelho para o alginato de sódio em pó e seus respectivos grupos químicos.

Bandas (cm⁻¹)	Grupos
3246	estiramento de O-H
2925	estiramento de C-H
1614 – 1431	estiramento simétrico do COO ⁻ livre
1591 – 1406	estiramento assimétrico do COO ⁻ livre
1295 – 1060	estiramento de C-O
1098	estiramento de C-C
1023	estiramento de C-O-C
937	estiramento cíclico de C-O e C-C-H
875	estiramento C-C
826	estiramento de C-C-O
800	relativo ao ácido manurônico
700	relativo ao ácido gulurônico

O espectro de infravermelho da quitosana em pó com suas respectivas atribuições é apresentado na figura 13 (página 50).

As principais bandas observadas foram em 3355cm⁻¹ referente ao estiramento de N-H, em 3281cm⁻¹ ao estiramento axial de O-H (CHAVES et al. 2009), em 2948cm⁻¹ ao estiramento assimétrico de C-H e em 2878cm⁻¹ ao estiramento simétrico de C-H e em 1421cm⁻¹ à deformação angular de CH₂ (SILVERSTEIN, 2007). Além disso, em 1648cm⁻¹ ocorre à deformação axial de N-H primária, em 1570cm⁻¹ a deformação axial de N-H secundária, em 1319cm⁻¹ da deformação axial de C-N de amina primária, em 1265cm⁻¹ da amina secundária, em 1379cm⁻¹ da amina terciária (CHAVES et al., 2009), em 1068cm⁻¹ e 1027cm⁻¹ ao estiramento cíclico de C-O e em 1151cm⁻¹ e 893cm⁻¹ à estrutura sacarídea (SILVERSTEIN, 2007). Alguns valores foram semelhantes aos descritos por Santos et al. (2003), Costa Júnior e Mansur (2008), Chaves et al. (2009) e Silverstein (2007).

Figura 13 - Espectro do infravermelho da quitosana em pó com seus respectivos grupos químicos.



Na tabela 4 estão relacionadas às bandas características encontradas no espectro da quitosana em pó.

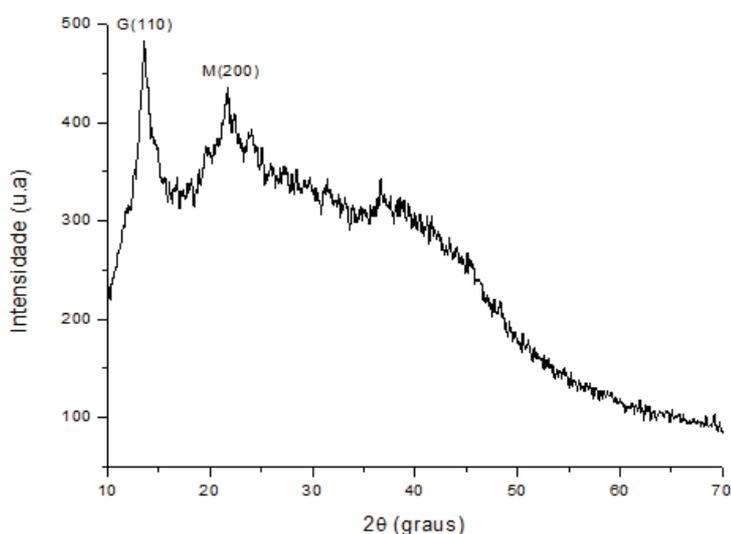
Tabela 4 - Bandas de absorção na região do infravermelho para a quitosana em pó e seus respectivos grupos químicos.

Bandas (cm ⁻¹)	Grupos
3355	estiramento de N-H ₂
3281	estiramento de O-H
2948 – 2878	estiramento assimétrico e simétrico de C-H respectivamente
1648 – 1570	deformação axial de N-H (I) e N-H (II) respectivamente
1421	deformação angular de C-H ₂
1319 – 1265 – 1379	deformação axial de C-N de amina (I), (II), (III) respectivamente
1068 – 1027	estiramento cíclico de C-O
1151 – 893	estiramento C-O-C referente a estrutura sacarídea

5.1.4 Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos polímeros em pó

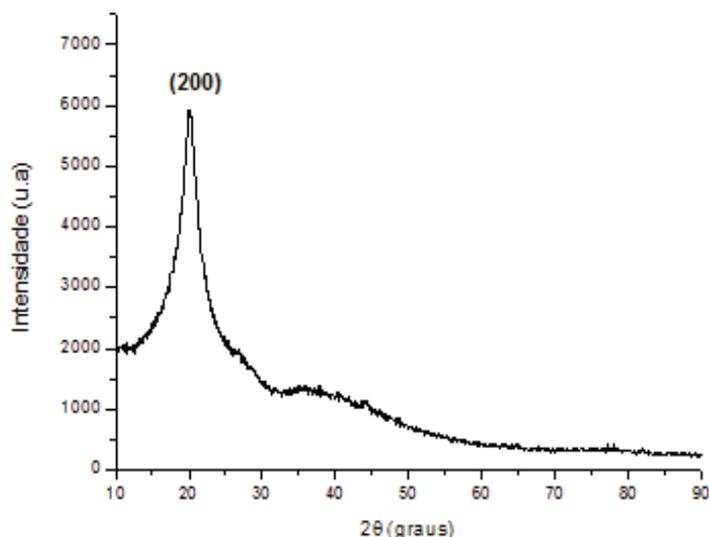
O padrão de difração de raios X para o alginato de sódio depende da composição química e do posicionamento dos grupos G e M. Segundo Fabia et al. (2005) para o ácido polimanurônico (bloco M) as linhas de difração são indexadas em uma célula unitária ortorrômbica com duas cadeias paralelas horizontalmente com as seguintes dimensões, $a=0,76\text{nm}$, $b=0,86\text{nm}$ e $c=1,04\text{nm}$. Já para o ácido poligulurônico (bloco G) também ortorrômbico, é composto por duas cadeias paralelas verticalmente e possui os seguintes parâmetros, $a=0,86\text{nm}$, $b=1,07\text{nm}$ e $c=0,87\text{nm}$. A intensidade dos picos para os planos cristalinos foi considerada para o bloco G em (110) e para o bloco M em (200). O difratograma obtido neste estudo é apresentado na figura 14, o formato do difratograma obtido evidencia que amostra é semicristalina com predominância de regiões amorfas, estas regiões amorfas podem ser evidenciadas pelo alargamento na linha de base entre os ângulos 10° e 60° em 2θ . Para os blocos G um pico de maior intensidade ocorre em $13,6^\circ/2\theta$ e para os blocos M em $21,8^\circ/2\theta$, estes resultados encontrados são semelhantes aos obtidos por Sundarrajan et al. (2012) e Fabia et al. (2005). O grau de cristalinidade foi estimado em 16%. Esta estimativa foi realizada empregando-se o programa Microcal Origin[®] versão 8.0, tendo como base a área dos picos (AP) e a área total (AT) de acordo com a equação 1 citada anteriormente.

Figura 14 - Difratograma do alginato de sódio em pó.



Segundo Azevedo et al. (2007) a quitosana apresenta uma célula unitária ortorrômbica com dimensões caracterizadas por $a=0,807\text{nm}$, $b=0,844\text{nm}$ e $c=1,034\text{nm}$. No difratograma da quitosana em pó (Figura 15) observa-se um pico de alta intensidade em $19,8^\circ$ ($d=0,441\text{nm}$). A fase amorfa é caracterizada pela faixa compreendida abaixo destes picos. O pico de alta intensidade corresponde ao plano (200). O formato do difratograma obtido evidencia que a quitosana é um composto semicristalino devido à existência de um alargamento na linha de base entre os ângulos 10° e 60° em 2θ . Através do programa Microcal Origin[®] versão 8.0, tendo como base a área dos picos (AP) e a área total (AT) de acordo com a equação 1 citada anteriormente, o grau de cristalinidade foi estimado em 24% sendo acima do valor encontrado por Costa Júnior e Mansur (2008) que foi de 17%.

Figura 15 - Difratograma da quitosana em pó.



5.2 Caracterização dos filmes

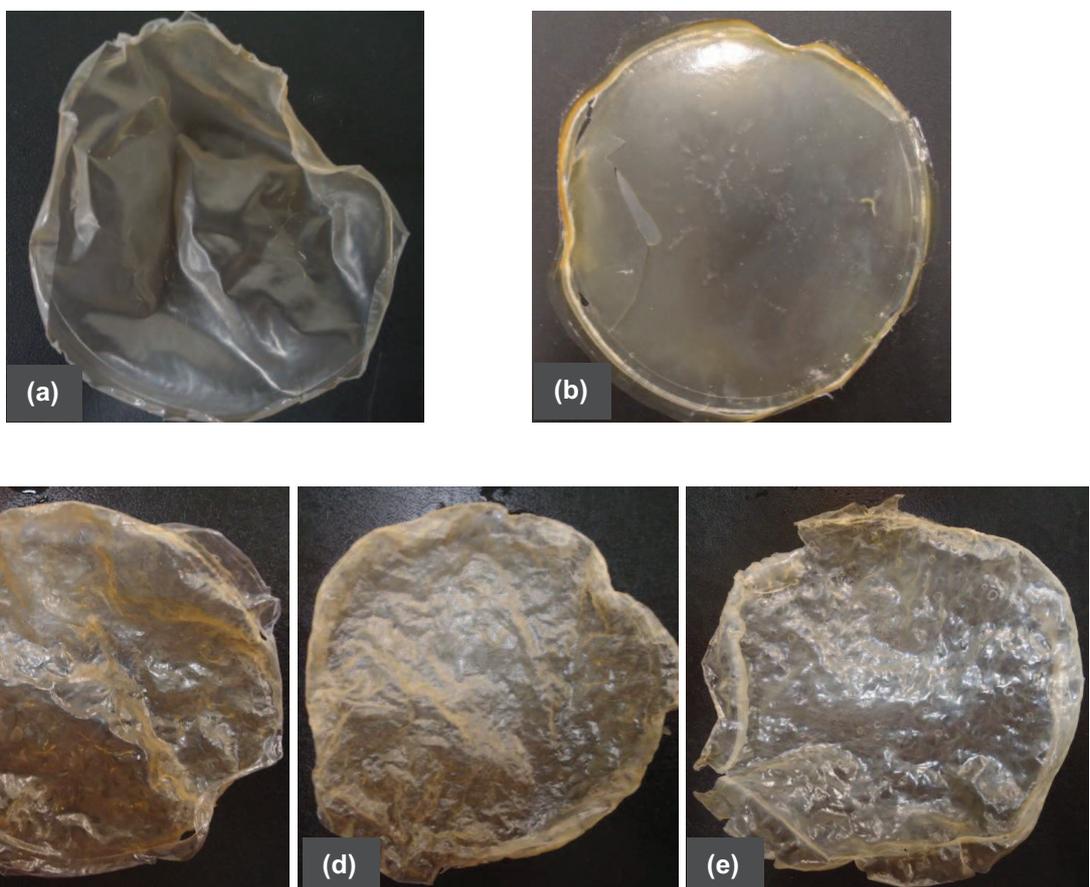
5.2.1 Aspecto visual dos filmes

A figura 16 apresenta o filme de alginato de sódio (a), o de quitosana (b), o alg/quit 90-45 (c), o alg/quit 90-90 (d) e o alg/quit 90-180 (e). Os filmes de alginato de sódio e todos contendo alginato de sódio e quitosana são transparentes e apresentam superficialmente uma textura rugosa, porém dentre estes o filme de

alginato de sódio (a) apresentou maior transparência que todos os outros. O filme de quitosana (b) é transparente, porém com uma pequena coloração amarelada.

Além disso, comparando-se os filmes compostos por alginato de sódio e quitosana, o filme alg/quit 90-180 (e) é mais transparente e apresenta superficialmente uma textura rugosa maior que os outros evidenciando que com o aumento da quantidade de quitosana a interação dos polímeros pode ser mais completa e menos coacervados são formados, portanto o filme fica mais homogêneo.

Figura 16 – Aspecto visual dos diferentes filmes obtidos.



Filme de alginato de sódio (a), filme de quitosana (b), filme alg/quit 90-45 (c), filme alg/quit 90-90 (d) e filme alg/quit 90-180 (e).

5.2.2 Espessura dos filmes

Os valores encontrados da espessura dos diferentes filmes obtidos estão apresentados na tabela 5. Ma et al. (2001) relatou que para um curativo dérmico ser considerado ideal, ele deve possuir uma espessura mais fina que a pele humana normal (0,5 a 2mm). Porém, na literatura filmes com espessura entre 66 e 80 μ m podem ser adequados para utilização no tratamento de lesões cutâneas (Rodrigues, 2008). Neste trabalho as espessuras médias dos diferentes filmes obtidos variaram de 53 a 102 μ m, porém somente os filmes contendo alginato de sódio e quitosana estão dentro dos valores sugeridos como adequados. Além disso, a análise estatística revelou que diferentes quantidades de quitosana influenciam na espessura dos filmes e à medida que a quantidade de quitosana aumenta a espessura do filme diminui, este fato pode ser explicado devido a maior interação dos polímeros, menor coacervado formado e maior homogeneidade do filme contendo maior quantidade de quitosana.

Tabela 5 - Valores das espessuras dos diferentes filmes.

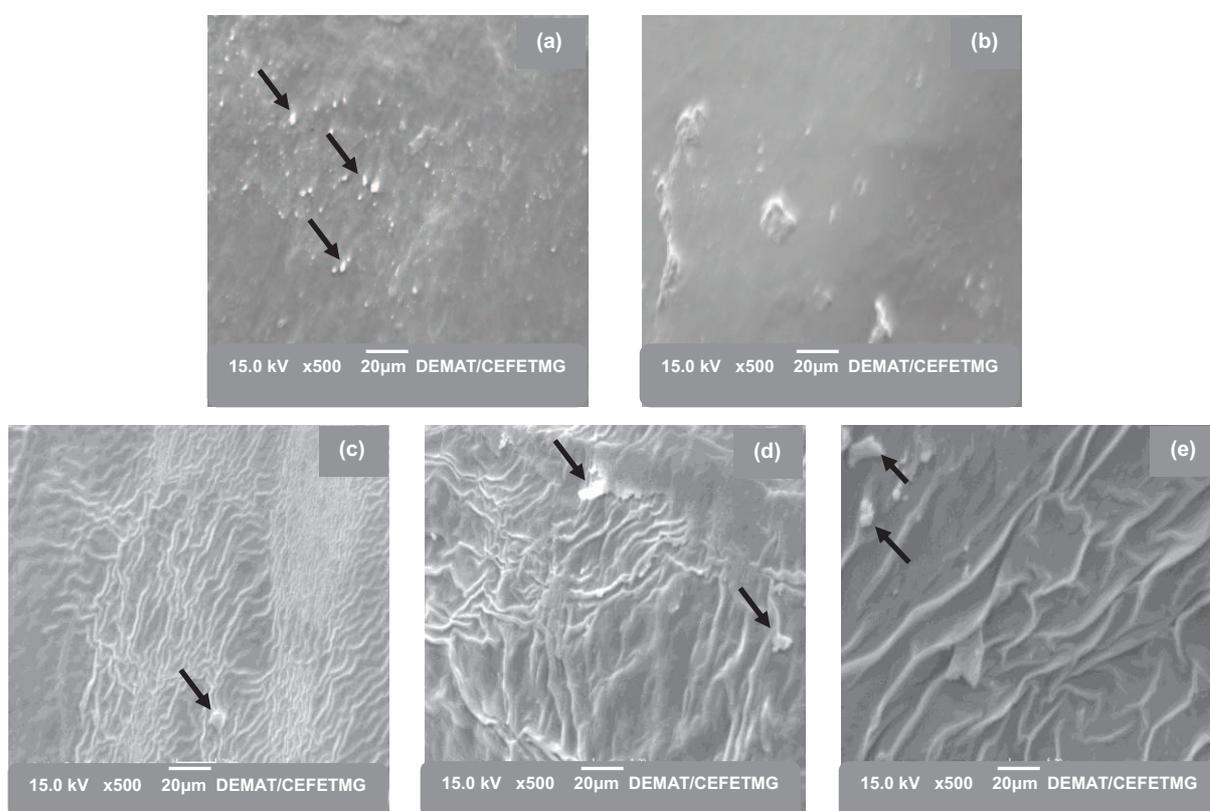
Filme de Alginato de sódio	Filme de Quitosana	Filme Alg/Quit (90-45)	Filme Alg/Quit (90-90)	Filme Alg/Quit (90-180)
57 \pm 3 μ m	53 \pm 11 μ m	102 \pm 22 μ m	90 \pm 9,8 μ m	72 \pm 8 μ m

5.2.3 Análise morfológica dos filmes

A análise por MEV da morfologia da superfície dos filmes é mostrada na figura 17. Observou-se que o filme de alginato de sódio (a) apresenta em sua superfície pontos brancos podendo ser referentes à presença de cálcio e pequena quantidade de poros. O filme de quitosana (b) apresenta superfície homogênea com a presença de alguns pontos que pode se tratar de resíduo de hidróxido de sódio (NaOH) proveniente da sua utilização na correção do pH para 5,28 conforme estipulado por Cárdenas et al. (2003). Segundo Bernabé et al. (2005) filmes constituídos pela interação de dois polímeros de cargas opostas apresentam

superfície rugosa, este fato foi condizente com os resultados encontrados neste trabalho, pois os filmes contendo alginato de sódio e quitosana (d, e, f) apresentam superfície rugosa com pequenos pontos brancos que pode ser devido a presença do cloreto de cálcio utilizado na obtenção dos filmes. À medida que a quantidade de quitosana aumenta (filme alg/quit 90-180) a superfície deste torna-se mais rugosa, condizendo com o observado pela análise visual.

Figura 17 - Morfologia da superfície dos filmes.



Imagens da morfologia da superfície dos filmes obtidos: filme de alginato de sódio (a), filme de quitosana (b), filme alg/quit 90-45 (c), filme alg/quit 90-90 (d) e filme alg/quit 90-180 (e). As setas pretas indicam a provável presença de cálcio.

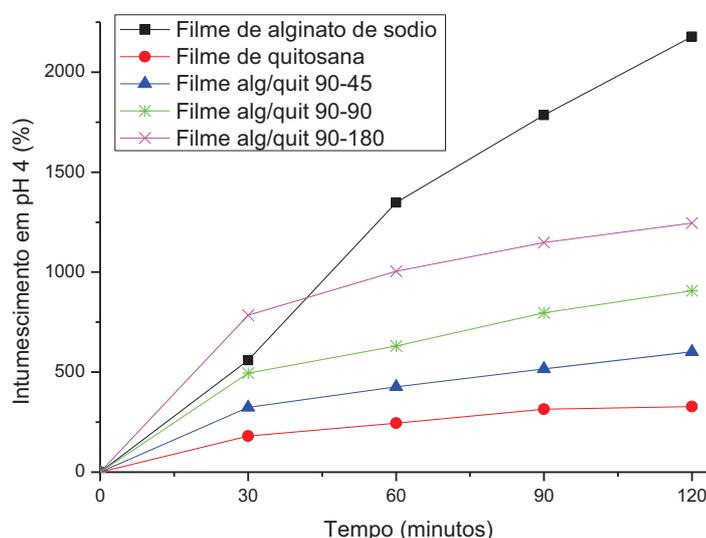
5.2.4 Perfil de hidratação dos filmes

O intumescimento começa quando as moléculas do solvente entram na matriz polimérica hidratando os grupos hidrofílicos mais polares (hidratação primária), como consequência dessa hidratação ocorre o intumescimento da rede polimérica que expõe seus grupos hidrofóbicos, que irão reorganizar as moléculas

de água nas proximidades, ocasionando a hidratação secundária. Posteriormente, moléculas adicionais de água entram nos interstícios da rede polimérica ocupando o espaço entre as cadeias dessa rede, os poros, macroporos e vazios, essa água adicional é chamada de água de preenchimento. O filme começa a se dissolver e desintegrar dependendo da sua composição, da temperatura e do pH (HOFFMAN, 2002).

A figura 18 apresenta as curvas do grau de intumescimento dos filmes em solução tampão de pH ($4 \pm 0,5$). De maneira geral, observa-se que o filme de alginato de sódio apresenta o maior grau de intumescimento seguido pelo filme alg/quit 90-180, alg/quit 90-90, alg/quit 90-45 e quitosana respectivamente. Isso pode ter ocorrido devido ao fato do alginato apresentar maior quantidade de grupos hidrofílicos expostos permitindo que a água se difunda através da rede do polímero.

Figura 18 - Perfil de intumescimento dos filmes em solução tampão de pH($4 \pm 0,5$).

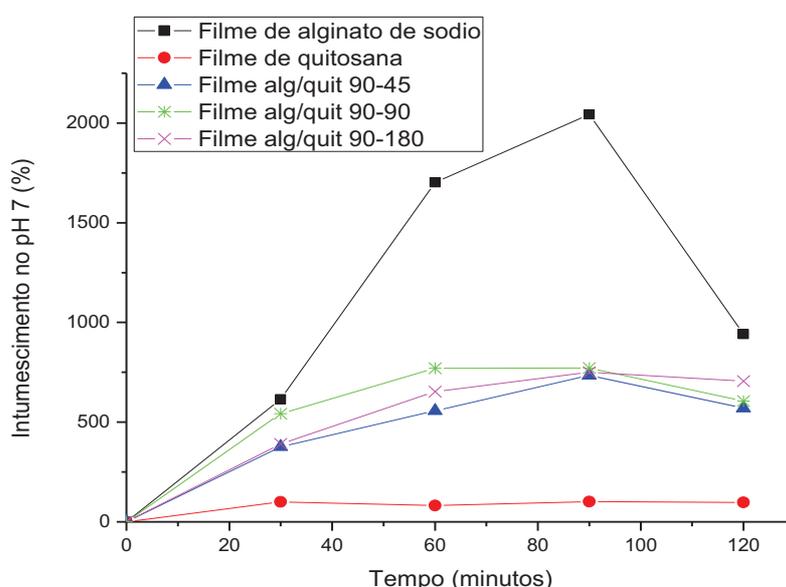


A figura 19 apresenta o intumescimento dos filmes em solução tampão de pH ($7 \pm 0,5$). Neste pH o filme de alginato de sódio também apresenta o maior grau de intumescimento, seguido respectivamente pelo alg/quit 90-90, alg/quit 90-180, alg/quit 90-45 e quitosana. A partir de 90 minutos, ocorre a diminuição brusca do grau de intumescimento no filme de alginato de sódio e uma leve diminuição nos

filmes alg/quit 90-90 e alg/quit 90-45, indicando ser este o tempo da capacidade máxima de intumescimento nestes filmes.

Além disso, pode-se observar que durante o processo de inchamento a integridade da rede dos complexos polieletrólitos formados nos filmes é mantida pela ligação entre o grupo amina da quitosana e do grupo carboxil do alginato (BERNABÉ et al., 2005), indicando que no filme alg/quit 90-45 ocorre uma maior formação de complexos polieletrólitos pois este filme apresenta o menor grau de intumescimento.

Figura 19 - Perfil de intumescimento dos filmes em solução tampão de pH(7±0,5).

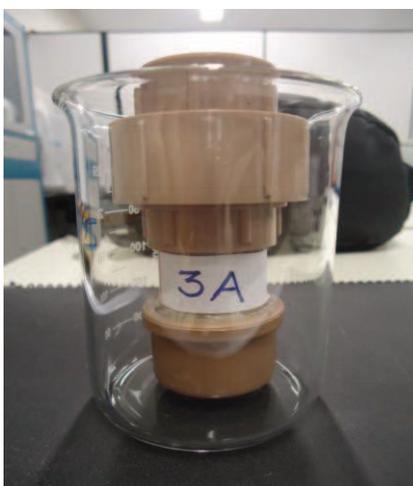


5.2.5 Medida da transmissão do vapor d'água (TVA) dos filmes

Filmes destinados ao tratamento de lesões cutâneas devem ser permeáveis ao vapor do fluido da lesão, por isso a obtenção da transmissão de vapor d'água é relevante, pois revela indiretamente se o mesmo é oclusivo ou permeável ao vapor do fluido da lesão. Além disso, a permanência da umidade no canal da ferida e seu controle são essenciais, pois influenciam diretamente na cicatrização. Por isso, um curativo ideal seria aquele cujo leito da ferida permaneça úmido sem retenção completa do exsudato (QUEEN et al., 1987). Num curativo a perda de líquido

deveria ser aproximadamente de $2000-2500\text{g/m}^2 \times 24\text{hs}$ (WONG, 1980). Portanto, se um curativo apresentar valores muito inferiores de TVA pode ocorrer uma sobrecarga no local da lesão gerando aumento da pressão neste local e conseqüentemente dor ao paciente. Além disso, pode ocorrer saída de líquido pelas laterais do curativo e favorecimento para entrada e proliferação de microorganismos (QUEEN et al., 1987). A figura 20 mostra o copo de Paddington modificado, dispositivo utilizado para esta análise.

Figura 20 - Dispositivo utilizado para medida da transmissão do vapor d'água.



Copo de Paddington modificado.

Os resultados obtidos da perda de peso em gramas e da taxa de transmissão de vapor d'água no tempo total da análise estão representados na tabela 6.

Tabela 6 - Valores da taxa de transmissão de vapor d'água dos filmes.

	Perda de Peso g/120hs		TVA (g / m ² x 24hs)	
	média	d.p	média	d.p
Filme de alginato de sódio	1,37	0,06	559	24,76
Filme alg/quit 90-45	1,19	0,06	485	24,51
Filme alg/quit 90-90	1,16	0,06	475	27,16
Filme alg/quit 90-180	1,14	0,06	466	26,04
Filme de quitosana	1,47	0,03	600	16,11

O filme alg/quit 90-180 apresenta a menor taxa de transmissão de vapor d'água, que pode ser observada pela menor perda de peso durante as 120 horas de análise. Em ordem crescente, a taxa de transmissão de vapor d'água e a perda de peso segue a seguinte ordem respectivamente: filme alg/quit 90-180, filme alg/quit 90-90, filme alg/quit 90-45, filme de alginato de sódio puro e filme de quitosana puro. Pode-se concluir através da análise estatística que diferentes quantidades de quitosana interferem na TVA dos diferentes filmes obtidos e que à medida que a quantidade de quitosana aumenta o filme apresenta menor perda de peso e menor transmissão de vapor d'água.

De acordo com os resultados encontrados e com a literatura, os filmes são oclusivos à transmissão de vapor d'água. Estes valores podem ser explicados pela provável pequena quantidade de poros nos filmes. Portanto, é necessário mais estudos para aumentar a porosidade e verificar a taxa de transmissão de vapor d'água para que estes filmes possam ter uma provável utilização no tratamento de lesões cutâneas.

5.2.6 Análise térmica dos filmes

A curva calorimétrica dos diferentes filmes obtidos evidenciou para os filmes puros, um pico endotérmico de maior intensidade com ápice em 57°C para a quitosana e em 81°C para o alginato de sódio. Nos filmes compostos por alginato de sódio e quitosana observa-se um pico endotérmico de maior intensidade com ápice em 60°C para o filme alg/quit 90-45, em 90°C para o filme alg/quit 90-90 com pico de menor intensidade e mais alargado, e em 82°C para o filme alg/quit 90-180 com pico de média intensidade. Esses picos podem ser correspondentes ao processo de desidratação das amostras. O filme alg/quit 90-90 apresenta a maior temperatura de desidratação, porém exige menor intensidade de calor indicando provavelmente maior estabilidade térmica. As formas dos picos endotérmicos dos filmes compostos por quitosana e alginato de sódio assemelham-se com a forma do pico endotérmico do alginato de sódio.

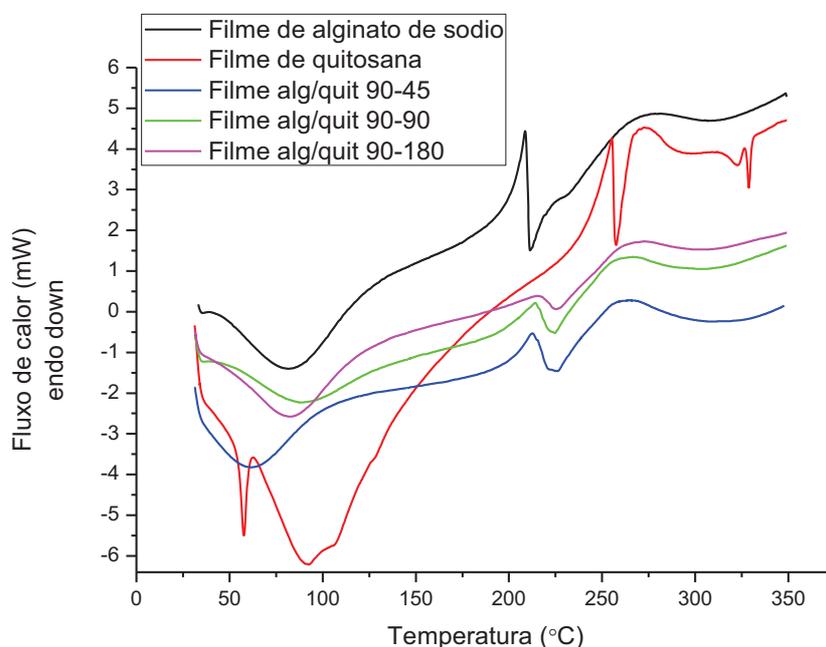
Um segundo pico, exotérmico, apresentou ápice em 211°C para o filme alg/quit 90-45, em 214°C para o filme alg/quit 90-90, em 216°C com menor intensidade para o filme alg/quit 90-180, em 254°C para o filme de quitosana e em

208°C para o filme de alginato de sódio. Esse pico é provavelmente correspondente ao processo de degradação térmica das amostras. Observa-se para os filmes compostos por quitosana e alginato de sódio que à medida que a quantidade de quitosana aumenta a intensidade desse pico diminui e a temperatura de degradação térmica aumenta, isto pode ser explicado devido a temperatura de degradação térmica da quitosana ser maior do que a do alginato de sódio.

Para todos os filmes foi observado um terceiro pico exotérmico, com máximo em 262°C para o filme alg/quit 90-45, em 263°C para o filme alg/quit 90-90, em 269°C para o filme alg/quit 90-180 e em 273°C para os filmes de quitosana e de alginato de sódio puros. Esse pico foi atribuído à temperatura de carbonização das amostras, esse fenômeno foi comprovado pela observação visual das mesmas após a análise.

A figura 21 mostra a curva de DSC dos diferentes filmes obtidos sob atmosfera de N₂ na faixa de temperatura de 0°C a 350°C.

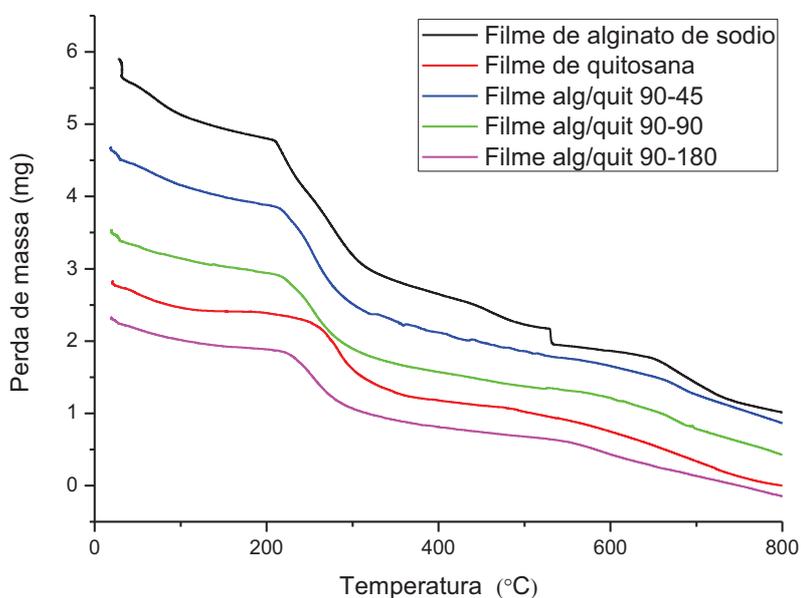
Figura 21 – Curva DSC dos filmes obtidos.



Na figura 22 é possível observar a curva de TGA dos diferentes filmes obtidos. Três eventos térmicos ocorrem, o primeiro relativo à desidratação, o segundo a decomposição e o terceiro a carbonização dos filmes analisados. Os

dados enfatizados foram à desidratação e a decomposição. Os valores dos intervalos de temperatura referentes aos eventos térmicos observados na TGA são comparáveis aos observados na análise pela DSC. O filme de alginato de sódio apresenta 3 etapas de perda de massa (desidratação, decomposição térmica do alginato de sódio e decomposição do carbonato de sódio- Na_2CO_3) sendo os resultados semelhantes ao do polímero em pó. O filme de quitosana apresenta duas etapas de perda de massa (desidratação e decomposição) no qual os valores encontrados são maiores dos observados na quitosana em pó indicando que o filme possui maior estabilidade térmica. Os filmes compostos por alginato de sódio e quitosana apresentam perda de massa percentual semelhante na primeira etapa (alg/quit 90-45 e alg/quit 90-90 com 13% de perda em peso e alg/quit 90-180 com 14% de perda em peso). Já na segunda etapa somente o filme alg/quit 90-45 (com 67% de perda em peso) apresenta perda de massa menor quando comparado aos outros dois (alg/quit 90-90 com 85% e alg/quit 90-180 com 88% de perda em peso).

Figura 22 - Curva TGA dos diferentes filmes obtidos.



A tabela 7 apresenta os valores de temperatura e a perda de massa associado a cada processo térmico dos diferentes filmes obtidos pelas técnicas da TGA e DSC.

Tabela 7 – Resultado da TGA e DSC para análise do comportamento térmico (desidratação e decomposição) das amostras dos diferentes filmes obtidos.

Evento térmico	TGA		DSC
	Temperatura (°C)	Perda de massa (%)	Faixa de temperatura (°C)
Filme de alginato de sódio			
Desidratação	32 - 204	15	81
Degradação térmica do alginato de sódio	204 - 527	47	208
Decomposição do Na ₂ CO ₃	a partir de 527	20	x
Filme de Quitosana			
Desidratação	30 - 204	12	57
Decomposição	204 - 787	93	254
Filme alg/quit 90-45			
Desidratação	34 - 200	13	60
Decomposição	200 - 794	67	211
Filme alg/quit 90-90			
Desidratação	28 - 200	13	90
Decomposição	200 - 786	85	214
Filme alg/quit 90-180			
Desidratação	29 - 211	14	82
Decomposição	211 - 800	88	216

5.2.7 Análise dos grupos químicos dos filmes

A figura 23 (página 64) apresenta o espectro do infravermelho dos diferentes filmes obtidos. Para melhor observação o espectro de infravermelho foi dividido em 5 partes diferentes.

Na parte I é possível observar a ampla banda de absorção entre 3500cm⁻¹ e 3100cm⁻¹ característica das ligações N-H e ao estiramento de O-H (OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009). À medida que a quantidade de quitosana aumenta ocorre o alargamento desta região, o que pode ser observado no filme alg/quit 90-180, que apresenta, portanto mais grupos N-H disponíveis em relação aos outros filmes.

Na parte II observa-se banda entre 2868cm^{-1} e 2929cm^{-1} que é referente ao estiramento assimétrico e simétrico de C-H (SILVERSTEIN, 2007). Observa-se também que em todos os filmes alg/quit ocorre alargamento e pequeno deslocamento desta região.

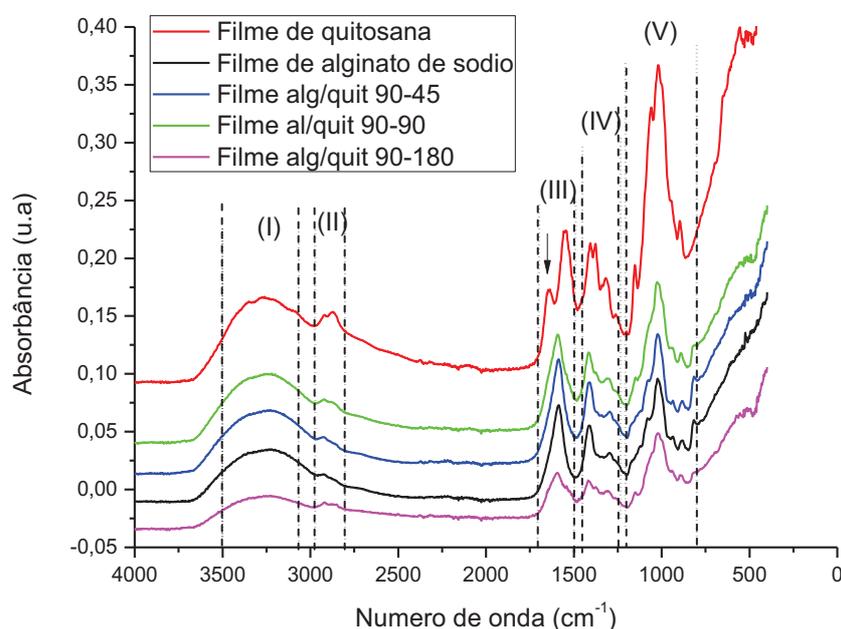
Na parte III, o filme de quitosana puro apresenta pequeno pico marcado pela seta preta em 1648cm^{-1} referente a deformação axial de N-H(I) (COSTA JÚNIOR; MANSUR, 2008), este pico não é observado nos filmes compostos por alginato de sódio e quitosana indicando uma provável interação. Além disso, observa-se também nestes filmes que em 1591cm^{-1} , banda característica do estiramento assimétrico de COO^- do alginato (OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009), ocorre diminuição da intensidade e pequeno deslocamento à medida que a quantidade de quitosana aumenta.

Na parte IV, que é referente à deformação angular de C-H₂ e axial de C-N de amina da quitosana em 1421cm^{-1} e 1319cm^{-1} e ao estiramento assimétrico dos grupamentos COO^- e C-O do alginato em 1406cm^{-1} e 1295cm^{-1} (COSTA JÚNIOR; MANSUR, 2008; CHAVES et al., 2009; SILVERSTEIN, 2007; OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009), observa-se nos filmes que a medida que a quantidade de quitosana aumenta ocorre uma diminuição da intensidade e deslocamento nesta região.

Já na parte V, região que esta compreendida entre 1151cm^{-1} e 826cm^{-1} que é referente ao estiramento cíclico de C-O, C-C-H, C-O-C e a estrutura sacarídea do alginato e da quitosana (OSTROWSKA-CZUBENKO; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA, 2009; COSTA JÚNIOR; MANSUR, 2008; SILVERSTEIN, 2007) observa-se que à medida que a quantidade de quitosana aumenta ocorre a diminuição da intensidade destas bandas assim como alargamento destas.

A partir dessas observações considera-se que é provável que exista uma interação entre o alginato e a quitosana, pois ocorrem mudanças no espectro dos diferentes filmes obtidos.

Figura 23 - Espectro do infravermelho dos filmes obtidos.

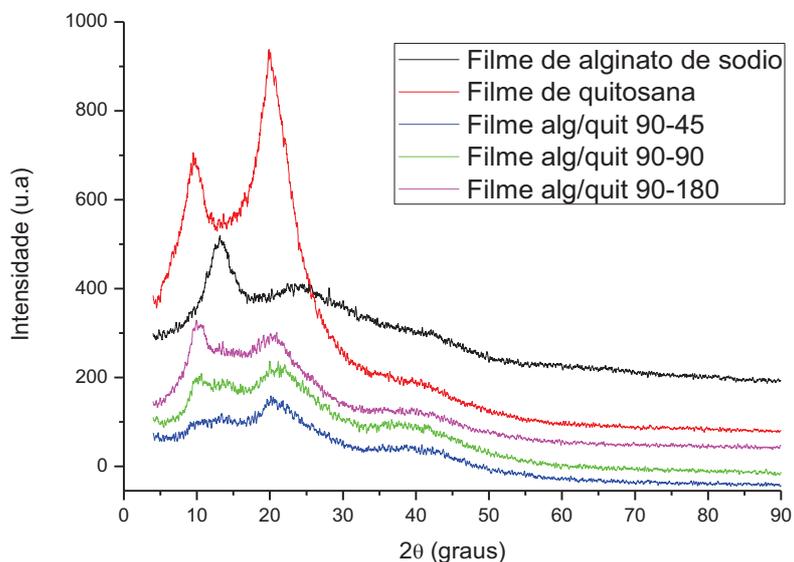


5.2.8 Determinação dos parâmetros de cristalinidade dos filmes

Através do programa Microcal Origin[®] versão 8.0, tendo como base a área dos picos (AP) e a área total (AT), de acordo com a equação 1 o grau de cristalinidade dos filmes foi estimado. O filme de quitosana puro apresenta grau de cristalinidade de 24%, o filme de alginato de sódio puro de 15%, o filme alg/quit 90-45 de 18%, o filme alg/quit 90-90 de 22% e o filme alg/quit 90-180 de 26%, portanto, à medida que a quantidade de quitosana aumenta o grau de cristalinidade também aumenta, isso pode ser explicado devido ao fato da quitosana possuir um grau de cristalinidade maior que o do alginato de sódio.

A figura 24 apresenta o difratograma realizado dos diferentes filmes obtidos. Na análise do difratograma dos filmes é possível observar que as áreas dos picos relativos à quitosana apresentaram diminuição quando combinado com o alginato. O pico da difração da quitosana em torno de 10° diminui nos filmes compostos por alginato de sódio e quitosana e desaparece no filme alg/quit 90-45, sugerindo que a interação intermolecular entre o alginato e a quitosana impede a organização estrutural reduzindo a cristalinidade regular da quitosana. Este resultado também foi observado no estudo de Fan et al. (2006).

Figura 24 - Difratoograma dos diferentes filmes obtidos.



5.2.9 Caracterização das propriedades mecânicas dos filmes

Para caracterização das propriedades mecânicas dos filmes as amostras utilizadas não foram submetidas à imersão em água deionizada. A análise estatística utilizada foi à análise de variância (ANOVA *One Way*) que apresentou resultados significativos com $p < 0,05$.

A tenacidade é a habilidade de um material em absorver energia até a sua fratura, portanto quanto mais frágil o material menor sua tenacidade. O módulo de elasticidade é a rigidez ou a resistência do material à deformação elástica, quanto maior o módulo, mais rígido será o material. A % de alongamento que é referente a ductibilidade é uma medida do grau da deformação plástica até a fratura. A tensão máxima de tração é influenciada pelo grau de cristalinidade e pela tenacidade (CANEVAROLO, 2002).

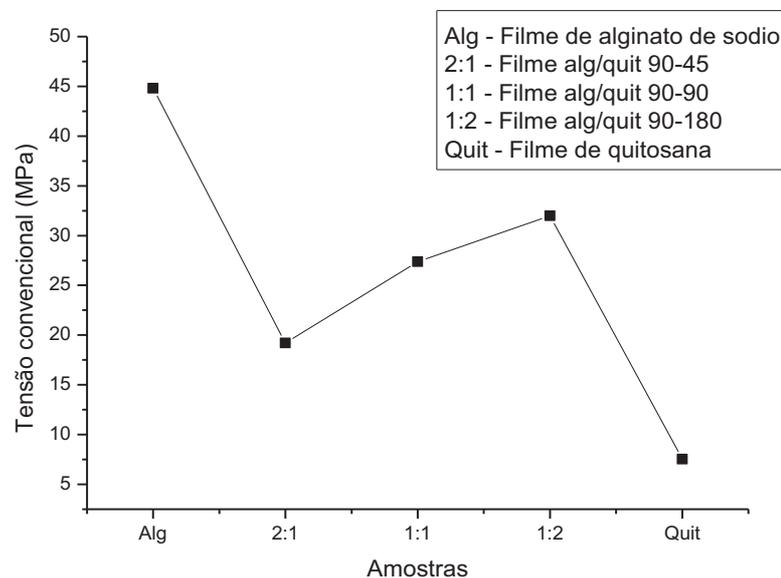
De acordo com os resultados encontrados, o filme de alginato de sódio apresenta a maior tensão máxima de tração e o filme de quitosana a menor tensão máxima de tração. Nos filmes compostos pelos dois polímeros à medida que a quantidade de quitosana aumenta esta tensão também aumenta. Com relação à tenacidade, o filme de quitosana apresenta uma tenacidade maior do que o filme de

alginato de sódio, sendo que à medida que a quantidade de quitosana aumenta a tenacidade também aumenta. O filme de alginato de sódio apresenta o maior módulo de elasticidade e o de quitosana o menor. Segundo Verma et al. (2011) o módulo de elasticidade diminui com o aumento da quantidade de quitosana, esta afirmação é semelhante ao encontrado neste estudo quando se compara os filmes alg/quit 90-45 e o alg/quit 90-180. Comparando os filmes compostos pelos dois polímeros, o filme alg/quit 90-180 apresenta tensão máxima de tração e tenacidade maior que os outros, isso pode ser explicado devido ao seu maior grau de cristalinidade (26%), pois quanto mais estruturas cristalinas, maior densidade e rigidez do material. Com relação a % de alongamento, o filme de alginato de sódio é mais frágil que os outros e à medida que a quantidade de quitosana aumenta, quando se compara o filme alg/quit 90-45 com o alg/quit 90-90 e o alg/quit 90-45 com o alg/quit 90-180, observa-se que o filme experimenta o aumento da deformação indicando redução da fragilidade. A análise estatística revelou que diferentes quantidades de quitosana influenciam significativamente somente na tensão máxima de tração, no módulo de elasticidade e na % de alongamento. A tabela 8 apresenta os valores médios dos resultados obtidos nos ensaios de resistência mecânica a tração e a figura 25 o gráfico da tensão máxima de tração dos diferentes filmes obtidos.

Tabela 8 - Tenacidade, tensão máxima de tração e módulo de elasticidade dos filmes.

	Tenacidade (J/m ³ -Pa)	Tensão máxima de tração (MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)	% de alongamento
Filme de alginato de sódio	0,39 ± 0,25	45 ± 26,46	3,66 ± 1,8	0,05 ± 0,01
Filme alg/quit 90-45	0,33 ± 0,24	19 ± 12,68	0,82 ± 0,58	0,09 ± 0,02
Filme alg/quit 90-90	0,80 ± 0,31	27 ± 9,93	0,75 ± 0,45	0,18 ± 0,07
Filme alg/quit 90-180	1,14 ± 0,98	32 ± 6,56	0,77 ± 0,31	0,15 ± 0,04
Filme de quitosana	1,19 ± 1,0	8 ± 3,0	0,041 ± 0,02	0,80 ± 0,7

Figura 25 – Gráfico da tensão máxima de tração dos filmes obtidos.



Além disso, a resistência à tração da pele normal varia de 2,5 a 16MPa (WANG et al., 2002), portanto somente o filme de quitosana e o filme alg/quit 90-45 obtidos neste trabalho apresentam valores que estão dentro deste intervalo.

5.3 Caracterização biológica dos filmes *in vitro*

5.3.1 Análise da atividade antimicrobiana dos filmes

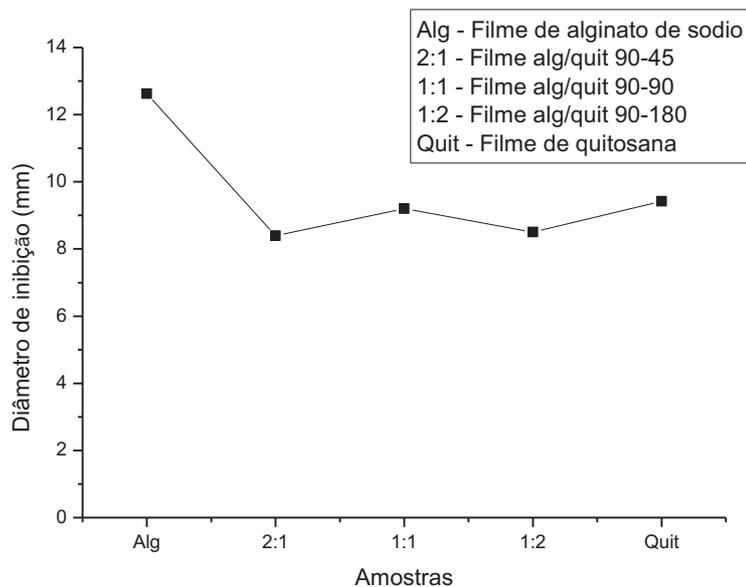
Segundo Yudanova e Reshetov (2006) uma das principais funções dos curativos dérmicos é proteger a ferida contra a entrada de micro-organismos. Portanto, os diferentes filmes obtidos foram avaliados quanto a sua atividade antimicrobiana contra a bactéria gram positiva *Staphylococcus aureus*. No estudo de Rodrigues et al. (2008) os filmes compostos por quitosana e alginato de sódio não apresentaram nenhum diâmetro de inibição, uma explicação dada pelos autores para este fato é que devido a formação do complexo polieletrólito ocorre o bloqueio dos grupos aminos livres da quitosana que são responsáveis pela atividade antimicrobiana. Porém, neste estudo os diferentes filmes obtidos apresentam pequenos diâmetros de inibição mantendo sua atividade antimicrobiana durante o

período analisado. O filme de alginato de sódio apresentou o maior diâmetro de inibição e com o aumento da quantidade de quitosana evidenciou-se manutenção do diâmetro de inibição nos filmes caracterizando atividade bacteriostática. Este fato pode ser observado através da tabela 9 e da figura 26 que expressa os resultados encontrados do diâmetro de inibição da atividade antimicrobiana dos filmes medido após 48hs.

Tabela 9 – Diâmetro de inibição dos diferentes filmes obtidos.

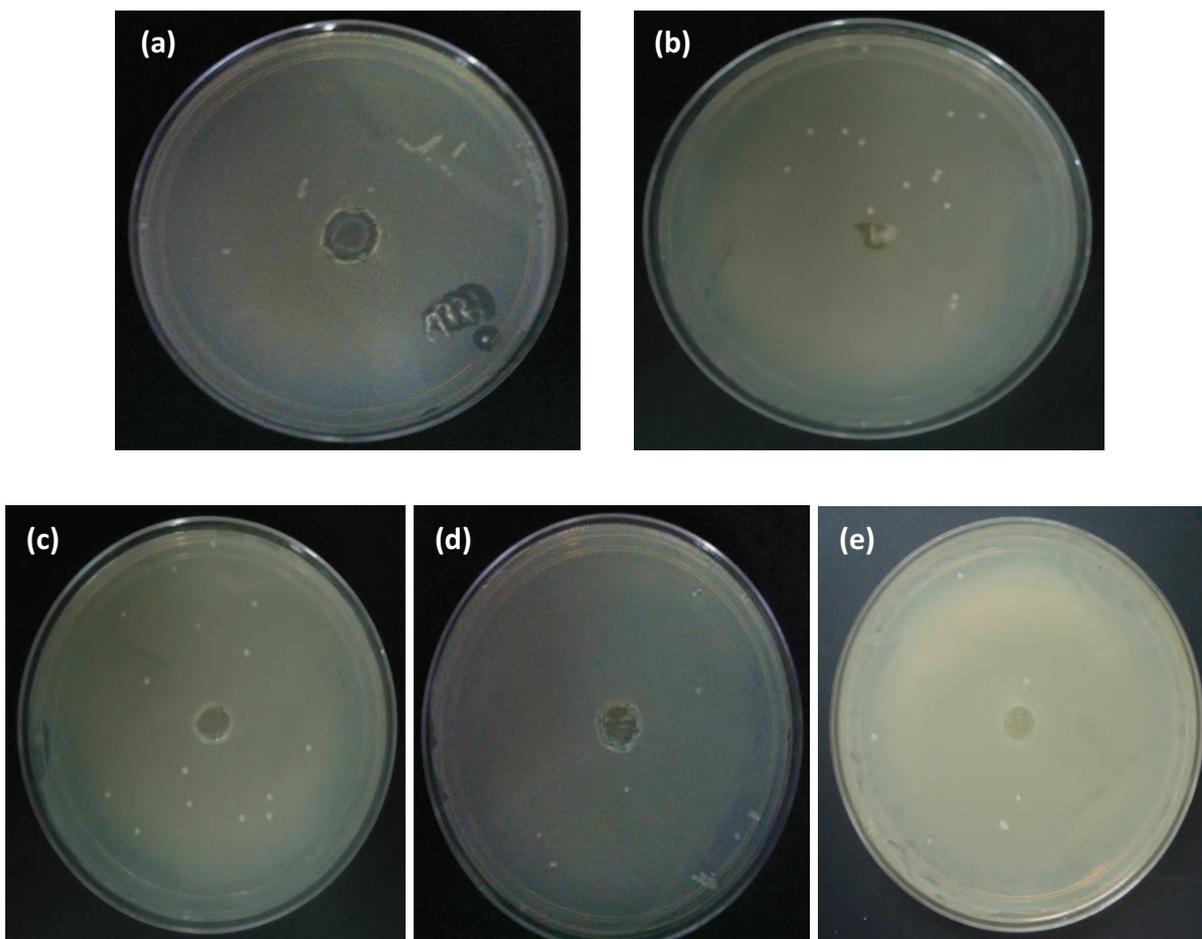
Filmes	Diâmetro de inibição (mm)
Filme de alginato de sódio	12,62 ± 1,34
Filme alg/quit 90-45	8,37 ± 0,99
Filme alg/quit 90-90	9,21 ± 1,71
Filme alg/quit 90-180	8,51 ± 0,54
Filme de quitosana	9,42 ± 0,49

Figura 26 – Gráfico do diâmetro de inibição dos filmes obtidos.



A figura 27 mostra os resultados observados visualmente da atividade antimicrobiana dos diferentes filmes obtidos. Esta análise também evidenciou que o filme de alginato de sódio apresentou o maior diâmetro de inibição.

Figura 27 - Atividade antimicrobiana dos diferentes filmes obtidos.



Filme de alginato de sódio (a); Filme de quitosana (b); Filme alg/quit 90-45 (c); Filme alg/quit 90-90 (d); Filme alg/quit 90-180 (e);

6 CONCLUSÕES

Foram obtidos filmes de alginato de sódio, quitosana e filmes contendo alginato de sódio e quitosana no qual somente a quantidade de quitosana foi modificada. A caracterização da matéria-prima comprovou a composição química dos materiais auxiliando nas análises e comparações com os diferentes filmes obtidos.

A caracterização física, química, mecânica e biológica dos filmes obtidos foram realizadas visto a utilização destes como biomaterial para potencial aplicação no tratamento de lesões cutâneas.

A caracterização visual evidenciou que todos os filmes obtidos são transparentes e que o filme de alginato de sódio e os filmes contendo alginato de sódio e quitosana apresentam superficialmente uma textura rugosa.

As espessuras médias dos diferentes filmes obtidos variaram de 53,3 a 102,2 μ m, porém somente os filmes contendo alginato de sódio e quitosana estão dentro dos valores sugeridos como ideais para potencial aplicação no tratamento de lesões cutâneas. Além disso, diferentes quantidades de quitosana influenciam na espessura dos filmes e à medida que a quantidade de quitosana aumenta a espessura do filme diminui, este fato pode ser explicado devido a maior interação dos polímeros, menor coacervado formado e maior homogeneidade do filme contendo maior quantidade de quitosana.

A microscopia eletrônica de varredura evidenciou que os filmes contendo alginato de sódio e quitosana apresentam superfície rugosa, e que à medida que a quantidade de quitosana aumenta a superfície deste torna-se mais rugosa.

Através do grau de intumescimento e da transmissão do vapor d'água constatou-se que o filme de alginato de sódio possui o maior grau de intumescimento em diferentes pHs e o filme alg/quit 90-180 tem a menor taxa de transmissão de vapor d'água indicando que à medida que a quantidade de quitosana aumenta o filme apresenta menor perda de peso e menor TVA. Além disso, observou-se que todos os filmes são oclusivos à transmissão de vapor d'água.

O comportamento térmico evidenciou que diferentes quantidades de quitosana alteram a temperatura de desidratação e degradação térmica dos filmes.

A técnica de espectroscopia de infravermelho evidenciou provável interação entre o alginato de sódio e a quitosana, pois ocorrem mudanças no espectro dos diferentes filmes obtidos.

Em relação ao grau de cristalinidade, à medida que a quantidade de quitosana aumenta o grau de cristalinidade também aumenta.

A análise estatística revelou que diferentes quantidades de quitosana influenciam significativamente somente na tensão máxima de tração, no módulo de elasticidade e na % de alongamento. Considerando o valor da resistência à tração da pele normal (2,5 a 16MPa) somente o filme de quitosana e o filme alg/quit 90-45 obtidos neste trabalho estão dentro deste intervalo.

Através da atividade antimicrobiana todos os diferentes filmes obtidos apresentam diâmetro de inibição, porém o filme de alginato de sódio puro apresentou o maior diâmetro de inibição e o aumento da quantidade de quitosana evidenciou a manutenção do diâmetro de inibição nos filmes caracterizando atividade bacteriostática.

Os resultados mostraram que os diferentes filmes obtidos quando submetidos aos testes de caracterização apresentaram diferenças moduláveis nas suas propriedades físicas, químicas, mecânicas, morfológicas e biológicas evidenciando que diferentes quantidades de quitosana são capazes de modular essas propriedades.

De acordo com o objetivo proposto para este trabalho, os filmes contendo alginato de sódio e quitosana apresentam características que os habilitam a estudos adicionais visando sua utilização como biomaterial no tratamento de lesões cutâneas.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Espera-se que os resultados obtidos neste trabalho possam contribuir para a continuidade no estudo desses materiais como biomateriais destinados ao tratamento de lesões cutâneas.

As sugestões para trabalhos futuros baseiam-se na melhora das características dos filmes. Sugere-se:

- A associação da quitosana e/ou do alginato de sódio a um polímero que atue favorecendo a melhoria das propriedades mecânicas dos filmes.
- Avaliação da utilização destes filmes para a liberação controlada de fármacos.
- Associação de outro reticulante e/ou plastificante como o glicerol.
- O tratamento térmico destes filmes.
- Avaliação de diferentes métodos de esterilização.
- Avaliação do comportamento quanto à adesão e proliferação celular *in vitro* e avaliação da interação material/hospedeiro *in vivo* quanto ao processo inflamatório, a angiogênese, hemostaticidade e remodelamento tecidual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F. O. M. S. **Síntese e caracterização de hidrogéis biodegradáveis à base de quitosana com morfologia controlada com potencial aplicação como carreadores de fármacos**. 2008. 161f. Tese (Doutorado em Engenharia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ALEMDAROGLU, C. et al. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. **Burns**, v. 32, p. 319-327, May 2006.

ALMEIDA, T. L. **Desenvolvimento de membrana composta de PVAI e quitosana compatível com o sistema dermo-epidérmico**. 2009. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D882-02**: standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. New York, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E96-10**: standard test methods for water vapor transmission of materials. Pennsylvania, 2010.

ARNOLD JR, H.L.; ODOM, R.B.; JAMES, W.D. A pele: estrutura básica e função. In:_____. ANDREWS; JAMES, W.B.; BERGER, T.G.; ELSTON, D.M. **Doenças da pele: dermatologia clínica**. 10. ed. São Paulo: Manole, 2007, p.1-14.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, p. 27-34, dez. 2007.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n.1, p.27-51, jan./mar. 2005.

BAUMANN, L.; WEISBERG, E. **Cosmetic dermatology: principles and practice**. New York: McGraw-Hill, 2002, 206p.

BECHERÁN-MARÓN, L.; PENICHE, C.; ARGUELLES-MONAL, W. Study of the interpolyelectrolyte reaction between chitosan and alginate: influence of alginate composition and chitosan molecular weight. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 34, p. 127-133, Mar. 2004.

BERGER, J et al. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 35-52, Jan. 2004.

BERNABÉ, P.; PENICHE, C.; ARGUELLES-MONAL, W. Swelling behavior of chitosan/pectin polyelectrolyte complex membranes. Effect of thermal cross-linking. **Polymer Bulletin**, v.55, p.367-375, Sept. 2005.

BLANES, L. Tratamento de feridas. In:_____. BAPTISTA SILVA, J.C.C. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. [online]. São Paulo: 2004. Disponível em: www.bapbaptista.com. Acesso em: 04 out. 2012.

BUENO, C. Z. **Influência do tipo de estratégia de reforço das propriedades mecânicas nas características de membranas de quitosana e alginato projetadas para o recobrimento de lesões de pele**. 2010. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas – São Paulo.

CAMPOS, M. G. et al. Effects of neutralization process on preparation and characterization of chitosan membranes for wound dressing. **Macromolecular Symposia**, v. 229, p. 253-257, Nov. 2005.

CANEVAROLO, S. V. **Ciências dos Polímeros**. 1. ed. São Paulo: Editora Liber, 2002.

CÁRDENAS, A. et al. Diffusion through membranes of the polyelectrolyte complex of chitosan and alginate. **Macromolecular Bioscience**, v. 3, p. 535-539, Oct. 2003.

CENTER FOR MEDICAL EDUCATION. **El programa de las heridas**. Scotland: The University of Dundee, 1994. 188 p.

CHAN, L. W.; LEE, H. Y.; HENG, P. W. S. Production of alginate microspheres by internal gelation using an emulsification method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 259-262, Aug. 2002.

CHAVES, J. A. P. et al. Caracterização e aplicação do biopolímero quitosana como removedor de corante têxtil presente em meio aquoso. **Cad. Pesq.** v. 16, n. 2, p. 36-43, 2009.

CLARK, R. A.; GHOSH, K.; TONNESEN, M. G. Tissue engineering for cutaneous wounds. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 127, n. 5, p. 1018-1029, Apr. 2007.

CLASEN, C.; WILHELMS, T.; KULICKE, W. M. Formation and characterization of chitosan membranes. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, n. 11, p. 3210-3222, Sept. 2006.

COSTA JÚNIOR, E. S. C.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, set. 2008.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C. Membrana de quitina e quitosana para utilização em regeneração de tecidos e cicatrizações. Patente brasileira, **PI 9805480-5A**. 12/09/2000.

CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. Quitosana – A fibra do futuro, **Padetec**, 1999. 124p.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, Belgium, v. 49, p. 780-792, Apr. 2013.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. 2005. 212f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DAMIAN, C. et al. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.16, n.2, p. 195-205, abr./jun. 2005.

DHANDAYUTHAPANI, B. et al. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. **International Journal of Polymer Science**, v. 2011 p. 1-19, July 2011.

DIAS, T. A. **Biomateriais no tratamento de feridas cutâneas - revisão de literatura**. 2010. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

DONG, Z.; WANG, Q.; DU, Y. Alginate/gelation blend films and their properties for drug controlled release. **Journal of Membrane Science**, v. 280, p. 37-44, Sept. 2006.

ERTESVAG, H; VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 85-91, Jan. 1998.

FABIA, J.; SLUSARCZYK, C.; GAWLOWSKI, A. Supermolecular structure of alginate fibres for medical applications studied by means of waxes and saxs methods. **Fibres e Textiles in Eastern Europe**, v. 13, n. 5, p. 114-117, Jan./Dec. 2005.

FAN, L. et al. Preparation and properties of alginate/carboxymethyl chitosan blend fibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, p. 447- 452, Apr. 2006.

GEORGE, M.; ABRAHAM T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 1–14, May 2006.

GIMENES, G. A. et al. Estudo epidemiológico de pacientes internados no centro de tratamento de queimados do conjunto hospitalar de Sorocaba. **Revista Brasileira de Queimaduras**, Sorocaba, v. 8, n. 1, p. 14-17, 2009.

GONSALVES, A. A. et al. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, abr. 2011.

HEIN, S. et al. Chitosan composites for biomedical applications: status, challenges and perspectives. **Materials Science and Technology**, v. 24, p. 1053-1061, Sept. 2008.

HESS, C.T. **Tratamento de Feridas e Úlceras**. 4.ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores, 2002, 226p.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for Biomedical Applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 3-12, Feb. 2002.

HOWELL-JONES, R. S. et al. A review of the microbiology, antibiotic usage and resistance in chronic skin wounds. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 55, p. 143-149, Jan. 2005.

JAYAKUMAR, R. et al. Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials - A short review. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 227-232, May 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 352p.

KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v. 24, p. 2339-2349, June 2003.

KIM, I. Y. et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 1, p.1-21, Jan-Feb. 2008.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, Nov. 2000.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. Inflammation. In: ROBBINS; COTRAN. **Pathologic Basis of Disease**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. cap.2-3, p.47-118.

LEE, J. W. et al. Synthesis and characteristics of interpenetrating polymer network hydrogel composed of chitosan and poly (acrylic acid). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 73, p. 113-120, July 1999.

LYMAN, D. J.; ROWLAND, S. M. Biomaterials. In: KROSCWITZ, J. I. **Polymers: Biomaterials and Medical Applications**, 1989. p. 52-71.

MA, J.; WANG, H.; HE, B.; CHEN, J. A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neonatal dermal fibroblasts. **Biomaterials**, v.22, p.331-336, Feb. 2001.

MALAFAYA, P.B.; SILVA, G.A.; REIS, R.L. Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 207–233, May 2007.

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources – Part I. **ANAIS BRASILEIROS DE DERMATOLOGIA**, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.393-410, July/Aug. 2003.

MARRECO, P. R. et al. Effects of different sterilization methods on the morphology, mechanical properties, and cytotoxicity of chitosan membranes used as wound dressings. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 71B, p. 268-277, 2004.

MARINHO, L. A importância da Pele. **Net**. Disponível em: <<http://irmasgg.blogspot.com/2010/08/importancia-da-pele.html>>. Acesso em: 12 out. 2012.

MARK, J. E.; CALVERT, P. D. Biomimetic, hybrid and in situ composites. **Materials Science and Engineering:C**, Tucson, v.1, n.3, p. 159-173, Apr. 1994.

MARTINEAU, L.; SHEK, P. N. Evaluation of a bi-layer wound dressing for burn care I. Cooling and wound healing properties. **Burns**, v. 32, p. 70-76, Feb. 2006.

MAURSTAD, G. et al. Polyelectrolyte layer interpenetration and swelling of alginate–chitosan multilayers studied by dual wavelength reflection interference contrast microscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 4, p. 672–681, Mar. 2008.

MCHUGH, D.J. A guide to the seaweed industry. FAO Fisheries Technical Paper 441. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/006/Y4765E/y4765e00.HTM>>. 2003. Acesso em abril/2013.

MI, F. L. et al. Asymmetric chitosan membranes prepared by dry/wet phase separation: a new type of wound dressing for controlled antibacterial release. **Journal of Membrane Science**, v. 212, p. 237-254, Feb. 2003.

MI, F. L. et al. Fabrication and characterization of sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. **Biomaterials**, v. 22, p. 165-173, Jan. 2001.

MOURA, C. et al. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto. **Vetor**, Rio Grande, v. 16, p. 37-45, 2006.

MUZZARELLI, R. A. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 167-182, Nov. 2009.

MUZZARELLI, R. et al. Biological activity of chitosan: ultrastructural study. **Biomaterials**, v. 9, p. 247-252, May 1988.

NETO, C. G. T. et al. Thermal analysis of chitosan based networks. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, p. 97-103, Sept. 2005.

NIEKRASZEWICZ, A. Chitosan medical dressings. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, v.13, n. 6, p. 16-18, Jan./Dec. 2005.

OSTROWSKA-CZUBENKO. J.; GIERSZEWSKA-DRUZYNSKA. M. Effect of ionic crosslinking on the water state in hydrogel chitosan membranes. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 590-598, Feb. 2009.

PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitosan and alginate wound dressings: a short review. **Trends in Biomaterials & Artificial Organs**, Trivandrum, v. 18, n. 1, p. 18-23, July 2004.

PÉREZ, J. M. M.; MATOS, M. V. Efecto del ion cálcio en el comportamiento reológico de soluciones de alginato de sodio. **Tecnología Química**, v. XXI, n. 1 p. 46-51, 2001.

PRAJAPATI, B. G.; SAWANT, K. K. Poly electrolyte complex of chitosan alginate local drug delivery. **International Journal of ChemTech Research**, v. 1, n. 3, p. 643-648, July/Sept. 2009.

QUEEN, D. et al. The preclinical evaluation of the water vapour transmission rate through burn wound dressing. **Biomaterials**, Glasgow, v. 8, 1987.

RODRIGUES, A. P. **Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões**. 2008. 152f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RODRIGUES, A. P. et al. The influence of preparation conditions on the characteristics of chitosan-alginate dressings for skin lesions. **Journal of Applied Polymer Science**, v.109, p. 2703-2710, May, 2008.

SACCHETIN, P. S. C. **Incorporação de flavobacterium columnare inativado em micropartículas de alginato e quitosana para imunização de tilápia do nilo (oreochromis niloticus) por via oral**. 2009. 121f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SAETHER, H. V. et al. Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 813-821, May 2008.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n.4, p. 242-249, 2003.

SARTORI, C.; FINCH, D. S.; RALPH, B. Determination of the cation content of alginate thin films by ftir spectroscopy. **Polymer**, v. 38, n. 1, p. 43-51, Jan. 1997.

SEGATO, M. P. **Estudos termoanalíticos do ácido alginico e dos alginatos de metais alcalinos, alcalino-terrosos, amônio, mono-, di- e trietanolamônio**. 2007. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciências- Química Analítica) – Instituto de Química- Universidade de São Paulo – São Carlos.

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

SILVERSTEIN, R. M., et.al. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

SOARES, J.P. et al. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. **Eclética Quimica**, v. 29, n. 2, p. 53-56, July 2004.

SOUZA, V. M. **Ativos dermatológicos**: um guia dos novos ativos dermatológicos utilizados na farmácia de manipulação para médicos e farmacêuticos. São Paulo: Tecnopress, 2003. 214p.

SUNDARRAJAN, P. et al. One pot synthesis and characterization of alginate stabilized semiconductor nanoparticles. **Bull Korean Chem. Soc.**, v. 33, n. 10, p. 3218-3224, Oct. 2012.

TAGLIARI, M. P. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana e alginato de sódio para incorporação de ácido glicirrízico, ácido salicílico ou cafeína visando liberação tópica**. 2012. 229f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

TÖRMÄLÄ, P.; POHJONEN, T.; ROKKANEN, P. Bioabsorbable polymers: materials technology and surgical applications. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers (Part H)**, v. 212, p.101-111, Feb.1998.

VEIGA, I. G. **Uso de xantana em substituição ao alginato em membranas coacervadas de quitosana projetadas para a cicatrização de lesões de pele**. 2009. 111f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

VERMA, D. et al. Characterization of surface charge and mechanical properties of chitosan/alginate based biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 31, p. 1741-1747, Aug. 2011.

WANG, L.; KHOR, E.; WEE, A.; LIM, L.Y. Chitosan-alginate PEC membrane as wound dressing: Assessment of incisional wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 63, p. 610-618, 2002.

WANG, L.; KHOR, E.; LIM, L. Y. Chitosan-alginate-CaCl₂ system for membrane coat application. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, p.1134-1142, Aug. 2001.

WONG. P. Physical Evaluation of a Hydrogel as a Bum Wound Dressing. **MSc Thesis**, University of Strathclyde. 1980.

YAN, X.; KHOR, E.; LIM, L. Y. PEC films prepared from chitosan-alginate coacervates. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n.7, p. 941-946, July 2000.

YUDANOVA, T. N.; RESHETOV, I. V. Modern wound dressings: manufacturing and properties. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 40, n. 2, p. 85-92, Feb. 2006.

ZACTITI, E. M.; KIECKBUSCH, T. G. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 462-467, Aug. 2006.