



Universidade Estadual de Goiás
Unidade de Ciências Exatas e Tecnológicas
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais do Cerrado

SINÉSIO VIRGÍLIO ALVES DE MELO

**PURIFICAÇÃO PARCIAL DOS POLISSACARÍDEOS DE
Anadenanthera macrocarpa E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA
INCORPORAÇÃO EM FILMES DE PVA / QUITOSANA**

Anápolis
2015

SINÉSIO VIRGÍLIO ALVES DE MELO

**PURIFICAÇÃO PARCIAL DOS POLISSACARÍDEOS DE
Anadenanthera macrocarpa E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA
INCORPORAÇÃO EM FILMES DE PVA / QUITOSANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais do Cerrado, da Universidade Estadual de Goiás para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais do Cerrado.
Orientador: Prof. Dr. Flávio Marques Lopes

Anápolis
2015

Melo, Sinésio Virgílio Alves de.

Purificação parcial dos polissacarídeos de *Anadenanthera macrocarpa* e avaliação dos efeitos da incorporação em filmes de PVA / quitosana – 2015.

112 folhas. il figuras.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Marques Lopes

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Goiás, 2015.

1. Pegico. 2. Hidrogel. 3. Filmes Poliméricos. 4. Testes Mecânicos.
I. Purificação parcial dos polissacarídeos de *Anadenanthera macrocarpa* e avaliação dos efeitos da incorporação em filmes de PVA / quitosana

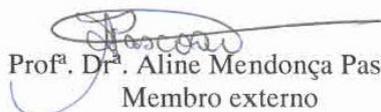
SINÉSIO VIRGÍLIO ALVES DE MELO

PURIFICAÇÃO PARCIAL DOS POLISSACARÍDEOS
DO ANADENANTHERA MACROCARPA E
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA INCORPORAÇÃO
EM FILMES DE PVA/QUITOSANA

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos
Naturais do Cerrado da Universidade Estadual de Goiás,
para a obtenção do grau de Mestre, aprovada em 10 de março de 2015, pela
Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



Prof. Dr. Flávio Marques Lopes
Presidente da Banca
Universidade Federal de Goiás



Prof.ª Dr.ª Aline Mendonça Pascoal
Membro externo
Instituto Federal de Goiás



Prof.ª Dr.ª Samantha Salomão Caramori
Membro interno
Universidade Estadual de Goiás

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha esposa Roquilane e a meus filhos Isabella e Ítalo, que são a razão de todo o meu esforço e de tudo que penso e faço nessa vida.

Agradecimentos

- Ao Papai de Céu, que pela sua infinita misericórdia e bondade, providenciou as soluções de todos os problemas e me fortaleceu para superar as dificuldades durante toda essa caminhada, suprimindo as minhas limitações e guardando os meus enquanto estava longe.
- À minha família pela paciência e apoio neste período.
- À minha mãe, meu pai e meu irmão, que mesmo de longe certamente acompanharam e torceram pelo meu sucesso, inclusive com subsídios de gastos em época de crise.
- Ao meu cunhado e amigo, Raminho, pelo apoio, tempo e trabalho para a coleta de material.
- Ao meu orientador Dr. Flávio Marques Lopes, pela proposta, delineamento e suporte em todas as fases desse trabalho.
- Aos professores membros da banca de qualificação Dr. Ricardo Neves Marreto (UFG) e Dra. Joelma Abadia Marciano, pelas pontuações pertinentes e norteamento do trabalho.
- Às pessoas iluminadas e de bom coração que encontrei pelo caminho, os quais dedicaram seu conhecimento e precioso tempo para compor a estrutura dessa dissertação, em especial, Gustavo Mota, Deivis, Laís, Gisele, Raíra, Gledsen, Cleiber e Gerson. A todos minha sincera e eterna gratidão.
- À família LENZIBIO (Danilo, Jéssika, Luane e Monike,) pelo apoio e suporte técnico para um estranho no ninho.
- À querida Nina e professores do RENAC pela dedicação e apoio.
- Aos colegas de turma do mestrado, aos quais rendo minhas homenagens e agradeço pela colaboração durante o curso.
- Aos colegas de turma e professor na disciplina “Introdução à Ciência de Polímeros” do programa Ciências Moleculares (UEG), pelo apoio e enriquecimento de conteúdo.
- À Universidade Federal de Goiás – UFG, pelo espaço e infraestrutura concedida para a parte experimental em laboratório.
- À Universidade Estadual de Goiás – UEG, pela organização e oferta do programa de mestrado gratuito.
- À FAPEG pelo apoio financeiro recebido.

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito nos aproxima.”

(Louis Pasteur)

Lista de Figuras

Figura 1: Aspectos morfológicos do Angico Vermelho.....	20
Figura 2: Estrutura do polissacarídeo da goma do Angico	23
Figura 3: Estrutura do ARAGAL, segundo Delgobo et al., (1998).....	24
Figura 4: Estrutura molecular da Quitina e Quitosana	26
Figura 5: Diferença entre as estruturas químicas de quitina e quitosana e unidades estruturais de glicosamina com os sítios de reações de reticulação.....	27
Figura 6: Conversão de quitina em quitosana pela reação de desacetilação	28
Figura 7: Esquema de possibilidades de aplicações da quitina e quitosana	29
Figura 8: Estrutura química do Álcool Polivinílico - PVA.....	32
Figura 9: Representação de estrutura do hidrogel reticulado	37
Figura 10: Estrutura química do Glutaraldeído.....	38
Figura 11: Reticulação da quitosana (a) e do PVA (b).....	38
Figura 12: Viabilidade celular para concentrações de Glutaraldeído em hidrogel PVA/quitosana	39
Figura 13: Estrutura química do glicerol.....	43
Figura 14: Propriedades físico-químicas do glicerol a 20°C.....	44
Figura 15: Estrutura química do Polietilenoglicol - PEG.....	44
Figura 16: Estrutura química do Propilenoglicol - PG.....	45
Figura 17: Coleta do exudato do Angico Vermelho (A: Exudato do tronco do Angico; B: Processo de coleta; C, D e F: Exudato coletado).....	56
Figura 18: Fotômetro de absorção atômica de chama	57
Figura 19: Gráfico de curvas de calibração para os testes de teores de Na ⁺ e K ⁺	58
Figura 20: Teores de íons metálicos Na ⁺ e K ⁺ do Pegico.....	58
Figura 21: Microfotografias do Pegico (Ampliação: A=250x, B=500x, C=1500x e D=3000x)	60
Figura 22: Difratoograma do DRX do Pegico.....	61
Figura 23: Espectro no Infravermelho por transformada de Fourier do Pegico	62
Figura 24: Viabilidade celular após a exposição por 48 horas a diferentes concentrações do extrato de Pegico. *Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle (p<0,05).....	65
Figura 25: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 5% sem Pegico).....	67
Figura 26: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 10% sem Pegico).....	68
Figura 27: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 5% com Pegico 2%)	68

Figura 28: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 10% com Pegico 2%)	69
Figura 29: Microscopia Eletrônica de Varredura (Ampliação: A: 10.000X – Filme sem Pegico, B: 1.000X – Filme com Pegico, C: 1.000X – Filme com Pegico, D: 5.000X – Filme com Pegico)	72
Figura 30: Conteúdo de água nos filmes	75
Figura 31: Solubilidade dos filmes PVA 5%	77
Figura 32: Solubilidade dos filmes PVA 10%	78
Figura 33: Espaço de cores L* a* b*	80
Figura 34: Características relacionadas à cor dos hidrogéis.....	81
Figura 35: Gráfico das propriedades mecânicas no ensaio no Texturômetro.....	83
Figura 36: Ensaios mecânicos à tração – Resistência (N) – Filmes PVA 5%	84
Figura 37: Ensaios mecânicos à tração – Resistência (N) – Filmes PVA 10%	84
Figura 38: Ensaios mecânicos à tração – Elongação (mm e %) – Filmes PVA 5%	85
Figura 39: Ensaios mecânicos à tração – Elongação (mm e %) – Filmes PVA 10%	86
Figura 40: Ensaios mecânicos à tração – Tensão (Pa) – Filmes PVA 5%	87
Figura 41: Ensaios mecânicos à tração – Tensão (Pa) – Filmes PVA 5%	88
Figura 42: Ensaios mecânicos à tração – Módulo de Elasticidade (MPa) – Filmes PVA 5%	88
Figura 43: Ensaios mecânicos à tração – Módulo de Elasticidade (MPa) – Filmes PVA 10%	89

Sumário

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1 Angico do Cerrado	19
3.2 Polissacarídeos	21
3.2.1 Polissacarídeos do Angico (<i>Anadenanthera macrocarpa</i>) – PEGICO	22
3.2.2 Quitosana.....	25
3.3 Hidrogéis	30
3.3.1 Álcool Polivinílico – PVA.....	31
4 DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS.....	33
4.1 Aditivos	35
4.1.1 Agentes Reticuladores	36
4.1.2 Plastificantes.....	40
4.1.2.1 Glicerol.....	43
4.1.2.2 Polietilenoglicol – PEG	44
4.1.2.3 Propilenoglicol	45
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
5.1 Materiais	46
5.1.1 Equipamentos	46
5.1.2 Materiais	47
5.2 Métodos	47
5.2.1 Coleta do Material	48
5.2.1.1 Amostras para identificação taxonômica do Angico Vermelho.....	48
5.2.1.2 Coleta do exudato do Angico Vermelho	48
5.2.2 Purificação dos Polissacarídeos do Angico Vermelho.....	48
5.2.3 Caracterização Química, Física, Físico-Química do Pegico	49
5.2.3.1 Análise química dos teores de sódio (Na ⁺) e potássio (K ⁺).....	49
5.2.3.2 Análise Física do Pegico.....	49

5.2.3.3	Análise Físico-química do Pegico	49
5.2.4	Análise Biológica	50
5.2.4.1	Citotoxicidade do Pegico.....	50
5.3	Desenvolvimento dos Filmes à Base de Pegico	51
5.3.1	Caracterização Físico-Química, Física e Óptica dos Filmes	51
5.3.1.1	Análise Físico-Química dos filmes	51
5.3.1.2	Análise Física dos filmes.....	52
5.3.1.3	Mensuração da espessura.....	52
5.3.1.4	Conteúdo de Água nos Filmes.....	52
5.3.1.5	Solubilidade	53
5.3.1.6	Cor e Opacidade dos filmes.....	53
5.4	Caracterização Mecânica dos Filmes de hidrogel	54
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
6.1	Coleta do material.....	56
6.2	Purificação Parcial dos Polissacarídeos de Angico Vermelho	57
6.3	Teores de sódio (Na ⁺) e potássio (K ⁺)	57
6.4	Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV	59
6.5	Difração de Raio - X.....	60
6.6	Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	61
6.7	Citotoxicidade.....	63
6.8	Caracterização Físico-Química, Física e Óptica dos Filmes	66
6.8.1	Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada.....	67
6.8.2	Análise Física dos filmes.....	71
6.8.2.1	Avaliação qualitativa macroscópica	71
6.8.2.2	Avaliação microscópica (MEV)	71
6.8.2.3	Espessura dos Filmes.....	73
6.8.2.4	Conteúdo de Água nos Filmes.....	74
6.8.2.5	Solubilidade	77
6.8.2.6	Cor e Opacidade dos filmes.....	78
6.9	Ensaio mecânicos.....	82
7	CONCLUSÃO.....	90
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
	APÊNDICES	103

RESUMO

A ciência de materiais tem investigado processos e produtos, aplicados à saúde, que atendam às exigências de qualidade e que sejam biocompatíveis e biodegradáveis, utilizando preferencialmente componentes naturais em sua formulação. Este trabalho tem como objetivo extrair e caracterizar os polissacarídeos do exsudato do Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), desenvolver e caracterizar um hidrogel em forma de filme e verificar o efeito dos polissacarídeos em suas propriedades. Os polissacarídeos do Angico Vermelho (Pegico) foram extraídos e caracterizados utilizando fotometria de absorção em chama, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios-X e avaliação do perfil de citotoxicidade pelo método da incorporação do vermelho neutro em células de fibroblastos da linhagem 3T3. Os hidrogéis em forma de filmes foram desenvolvidos variando a concentração de polissacarídeos e PVA, testados nas concentrações de Pegico: 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 e 4,0%, e PVA: 5 e 10%. Os filmes desenvolvidos foram caracterizados por meio de espectroscopia no infravermelho por refletância total atenuada (ATR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), ensaios mecânicos à tração (tensão/deformação), cor e opacidade, além de solubilidade e conteúdo de água. Como controle, foram consideradas formulações com ausência dos polissacarídeos. Os polissacarídeos do Angico apresentaram rendimento de 13,04 %, aspecto amorfo (não cristalino) ao DRX. Pelo MEV observa-se aspecto homogêneo com superfície irregular, microvilosidades e porosidade difusa. Apresenta teores de Na⁺ e K⁺ com valores 0,979% e 0,155% respectivamente e não citotóxico nas concentrações 0,5 e 1,0% de Pegico. Os efeitos das variações das concentrações de polissacarídeos nas propriedades mecânicas dos filmes de PVA/quitosana foram avaliados nos filmes PVA 5 e 10% obtendo os respectivos valores: resistência dos filmes: 0,75 ± 0,08 N a 5,9 ± 0,45 N e 0,68 ± 0,06 N a 11,32 ± 0,18 N, alongação: 3,82 ± 0,33% a 60,85 ± 12,15% e 13,45 ± 1,83% a 81,48 ± 7,59%, teor de água: 48,90 ± 1,15% a 58,31 ± 2,59% e 60,36 ± 2,08% a 35,13 ± 0,70%, solubilidade: 58,89 ± 2,14% a 70,63 ± 0,55% e 68,68 ± 1,41% a 81,64 ± 0,78%. Os filmes apresentaram aspecto flexível, cor amarelada com tom claro e transparente, com possibilidades promissoras para aplicação em nanotecnologia, administração tópica em sistemas de liberação de fármacos, na composição de matrizes biomiméticas e estudos de novos materiais poliméricos.

PALAVRAS-CHAVE: Pegico, Hidrogel, Filmes poliméricos, Testes mecânicos.

ABSTRACT

Materials science has investigated processes and products applied to healthcare, which meet quality requirements and are biocompatible and biodegradable, as natural ingredients are preferably used in their formulation. This work aims to extract and characterize polysaccharides from Red Angico gum (*Anadenanthera macrocarpa*), production and characterization of a film-shaped hydrogel and verify the effect of the polysaccharides and its properties. Red Angico polysaccharides (Pegico) were extracted and characterized by using absorption flame photometry, Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction and evaluation of cytotoxicity profile of neutral red uptake method in a 3T3 fibroblast cell line. Film-shaped hydrogels have been produced by varying the concentration of polysaccharides and were tested in concentrations of 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0% and PVA 5 and 10%. The films were characterized by using infrared spectroscopy with attenuated total reflectance (ATR), scanning electron microscope (SEM), mechanical testing (tensile strength/strain), color, opacity, solubility and water content. As control, formulations without polysaccharides were taken in consideration. Angico polysaccharides showed a yield value of 13.04%, an amorphous aspect (non-crystalline) to DRX. Through SEM, it can be observed a homogeneous appearance with an irregular surface, microvilli and diffuse porosity. It shows contents of Na⁺ and K⁺ with values of 0.979% and 0.155% respectively, and non-cytotoxic concentrations of 0.5 and 1.0% Pegico. The effects of variations in concentrations of polysaccharides on the mechanical properties of PVA/chitosan blend films were assessed in PVA films 5 and 10% with the respective amounts: film resistance: 0.75 ± 0.08 N to 5.9 ± 0.45 N and 0.68 ± 0.06 N to 11.32 ± 0.18 N, elongation: 3.82 ± 0.33% to 60.85 ± 12.15% and 13.45 ± 1.83% to 81.48 ± 7.59%, water content: 48.90 ± 1.15% to 58.31 ± 2.59% and 60.36 ± 2.08% to 35.13 ± 0.70%, solubility: 58.89 ± 2.14% to 70.63 ± 0.55% and 68.68 ± 1.41% to 81.64 ± 0.78%. The films had a flexible aspect, yellowish color and clear and transparent shade, with promising possibilities for application in nanotechnology, topical application in drug delivery systems, composition of biomimetic matrices and in the study of new polymeric materials.

KEYWORDS: Pegico , Hydrogel , Polymeric films , Mechanical tests.

1 INTRODUÇÃO

A ciência dos Polímeros tem evoluído grandemente nas últimas décadas, demonstrando uma potencialidade quase ilimitada na produção de novos materiais, dentre eles os homopolímeros, copolímeros, termopolímeros, blendas, compósitos, micro e nanopartículas, tendo uma enorme expressão na variedade de características, múltiplas propriedades e aplicações industriais (PASSATORE, 2013).

Rapidamente os polímeros têm sido substituídos por outros materiais de tradição como os metais e ligas, vidros, cerâmicas e madeira, tendo um avanço tecnológico notável em todos os campos de aplicação, incluindo a indústria farmacêutica, eletroeletrônica, construções, em materiais bélicos e para uso espacial. As modificações dos polímeros existentes e a criação de novos com uma estrutura química diferenciada têm-se reconhecidamente a inclusão de produtos naturais no processo reacional e terminação, obtendo propriedades finais dos materiais adequadas à finalidade de uso, permitindo que os mesmos sejam aplicados com a maior segurança, durabilidade e custo reduzido, tornando assim um componente indispensável (RABELLO, 2000).

Os processos de polimerização, copolimerização ou blendas surgem como uma real perspectiva de aplicação em novos sistemas de liberação de fármacos, medicamentos com desempenho terapêutico avançado, ampliando o tempo de entrega no organismo, sustentando a sua concentração plasmática e a localização, podendo ser alcançada redução de toxicidade, supressão de reações adversas e diminuição no número de doses diárias (VILLANOVA et al., 2010).

Medicamentos micro e nanotecnológicos estão na vanguarda das pesquisas associados à matriz polimérica específica para cada aplicação com função de excipiente, fornecendo maior segurança, disponibilização de ativos e melhor aceitabilidade do consumidor. Filmes hidrofílicos, higroscópicos e hidrossolúveis apresentam uma grande vantagem em aplicações tópicas, considerando as suas dissoluções e desintegrações rápidas como são características do PVA, quitosana e polissacarídeos. Plastificantes e reticuladores são adicionados à formulação para promover maior estabilidade ao material polimérico. A propriedade de intumescimento sem se dissolver permitem a liberação farmacológica após expansão em contato com o meio de dissolução ou em resposta a estímulos fisiológicos como temperatura, pH, enzimas, força iônica e oxidação. Novas estratégias de bioadesividade do

material a fim de ampliar o tempo de permanência no organismo e a efetividade terapêutica local do medicamento representa o grande desafio (VILLANOVA et al., 2010).

O desenvolvimento tecnológico na área de materiais poliméricos com finalidade de administração tópica de ativos farmacêuticos aponta para produções de blendas poliméricas com forças intermoleculares resultando em membranas permeáveis compatíveis com fármacos incorporados na sua matriz. As características dos filmes apresentam fragilidade, geralmente relacionada à estrutura primária do sistema e a inter-relação dos polímeros componentes como resistência à tração, taxa de permeabilidade ao vapor de água, porcentagem de alongamento e aderência. Para melhorar a qualidade do filme é indicado adicionar agentes plastificantes e reticuladores, permitindo que os hidrogéis apresentem propriedades mecânicas adequadas aos propósitos de sua utilização e aceitabilidade do paciente (CHEN et al., 2009).

Na indústria farmacêutica, há grande expectativa, com adesivos de aplicação tópica sobre a pele com incorporação dos ativos para sua administração com sistema de entrega transdérmica. Atualmente os modelos e formas farmacêuticas de aplicações tópicas, amplamente industrializadas e comercializadas são de origem sintética, insolúvel em água e não biodegradável (SILVA, 2014). Há trabalhos em busca de desenvolvimento e produção de filmes mistos, com utilização do PVA associado a produtos naturais, como a goma do Cajueiro, a goma do Angico, goma Xantana e na forma associada de ambas (SILVA, 2014; SILVA et al., 2012; ZAVAREZE et al., 2012).

No campo de engenharia de materiais e tecidos, vários arranjos poliméricos são criados, sejam como enchimento de espaços ou como veículos de entrega de moléculas bioativas e formas tridimensionais que estimulam as células a direcionar o seu crescimento e formação desejados. O sucesso dessas estruturas está na dependência de características físico-químicas e mecânicas dos materiais, dentre eles os hidrogéis apresentam-se atraente pela sua semelhança à matriz extracelular de muitos tecidos podendo ser minimamente invasivos e propícios para liberação tópica de ativos farmacológicos, fatores de crescimento e uma variedade de aplicações (DRURY et al., 2003).

Existem atualmente inovações tecnológicas capazes de solucionar o mecanismo de entrega de vários medicamentos que apresentem problemas de tal gênero. Sistemas de liberação de fármacos, controlada ou sustentada têm sido descritos, no entanto, nestes protótipos com os ativos, necessariamente estando dissolvidos ou dispersos dentro da matriz/hidrogel (NESSEEM; EID; EL-HOUSENY, 2011).

O interesse crescente por fontes potenciais de biomateriais e engenharia de tecidos para aplicação na medicina e ciências farmacêuticas tem apontado para polímeros biodegradáveis, biocompatíveis e não-tóxicos como compostos de quitosana e polissacarídeos (MINCHEVA et al., 2007).

Hidrogéis, especialmente à base de PVA – Álcool Polivinílico que é um polímero hidrofílico semicristalino, biocompatível e biodegradável tem sido utilizados como veículos de entrega de ativos nos tecidos orgânicos pela afinidade do hidrogel com os tecidos humanos devido à quantidade de água e a baixa tensão interfacial com a água e ou fluidos biológicos. Materiais filmogênicos reticulados com glutaraldeído estão sendo estudados e caracterizados, inclusive com nano-ordem para a criação de nanopartículas e nanocompósitos (MANSUR et al., 2008).

Filmes poliméricos utilizando o glutaraldeído como agente reticulador entre as cadeias tem se mostrado eficiente e de custo acessível, tendo alta reatividade dos aldeídos, utilizando polímeros naturais como polissacarídeos com boa acessibilidade e acondicionamento (DISTANTINA et al., 2013).

A possibilidade de desenvolver hidrogéis à base de espécies vegetais, principalmente oriundas do Cerrado com a riqueza dos seus recursos naturais, aumentou após a crise do petróleo na década de 1970, na tentativa de substituição dos adesivos comerciais convencionais sintéticos e ampliar os investimentos em pesquisas de bioprospecção. Dentre as fontes naturais destaca-se o Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), com produção economicamente viável e com o seu exudato possibilitar inúmeras formulações farmacêuticas favorecidas por suas características físico-químicas, levando as pesquisas neste campo vislumbrar uma alternativa para diversas aplicações industriais (CARNEIRO et al., 2009).

Uma das espécies mais exuberantes da fitofisionomia do Cerrado é o Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan), conhecido como Angico do Cerrado ou Angico do Campo, Angico de Curtume, Cebil e outros regionalizados. Dentre as espécies nativas do Cerrado esta é uma das que mais sofre pressões antrópicas, apesar da ampla ocorrência geográfica, facilmente adaptada a diversos tipos de ambientes e apresentar expressiva regeneração natural com crescimento de moderado a rápido, atingindo produções de até 25,55 m³.ha⁻¹.ano (CARVALHO, 2003).

O Angico possui grande demanda no mercado, sendo muito apreciada para fins ornamentais, fornecedora de tanino para o setor de curtume, energética, resinífera, madeireira e medicinal. A sua intensa exploração coloca em risco a existência dessa e de outras espécies com a ausência de cultivos ou de métodos de propagação (RODRIGUES et al., 2007).

Há estudos de viabilidade de se formar mudas para promover a recuperação de áreas degradadas com espécies nativas, de rápido desenvolvimento e melhoria dos componentes físicos e químicos do solo com reciclagem de nutrientes além da proteção da perda de sedimentos por erosão. Novas formas atuais para a melhora da sobrevivência de mudas e aumento significativo das condições de proliferação do Angico Vermelho e outras espécies do Cerrado tem sido alvo de pesquisas na perspectiva de repovoar áreas de perturbação antrópica, especialmente nas florestas ciliares concomitantemente ao desenvolvimento de técnicas de incorporação de polímeros hidroretentores no substrato de mudas para garantir o índice de sobrevivência e de disseminação (DURIGAN et al., 2011; LORENZI, 2002; RIBEIRO et al., 2012; SILVA et al., 2011; SOUSA et al., 2013).

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil e da América do Sul, com área superior a 2 milhões de hectares, compondo 22% do território nacional, ocupando 12 estados, com sua área nuclear ou “core” encontrando-se em toda área do Brasil central distribuído por Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia e Distrito Federal (MMA, 2014).

No Cerrado brasileiro, em escala mundial, é encontrada grande biodiversidade de micro-organismos, fauna e flora, compondo uma enormidade de fitofisionomias com várias espécies endêmicas e outras típicas adaptadas neste espaço geográfico (OLIVEIRA et al., 2008).

O bioma Cerrado vem sofrendo perturbações na sua composição ambiental e ecológica com a ocupação humana e a crescente pressão para a abertura de novas áreas visando incrementar a produção de carne e grãos para exportação. O resultado dessa expansão econômica da fronteira agropecuária brasileira provoca o esgotamento dos recursos naturais da região como o desmatamento destinado a material lenhoso para produção de móveis e carvão, extensas áreas de inundação para construção de hidroelétricas e substituição da vegetação nativa para formação de pastagens (MMA, 2014; OLIVEIRA et al., 2008). Persistindo as perdas anuais de 2,2 milhões de hectares de área nativa, considerando que manterá as áreas oficiais de conservação e territórios indígenas, o bioma Cerrado será aniquilado até 2030, de acordo com Machado et al. (2004).

É fundamental para o avanço tecnológico, a preservação deste bioma, garantindo a continuidade das pesquisas para o desenvolvimento de materiais poliméricos incorporando produtos naturais do Cerrado. Na busca de melhor compreensão dos efeitos do “Pegico” (Polissacarídeo do Angico Vermelho) na formulação conjunta com outros polímeros e melhor propriedade do filme há necessidade de maiores estudos, na expectativa de desenvolver um

produto estável, com a conservação das propriedades químicas do exudato, desenvolvendo a partir dele um filme de composição hidrogel, eminentemente para fins medicinais compondo uma forma farmacêutica tópica que atenda às exigências técnicas de aplicação produzindo um material biodegradável e biocompatível à base de produtos naturais do Cerrado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos dos polissacarídeos do exudato do Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*) nas propriedades dos hidrogéis na forma de filmes à base de PVA/quitosana.

2.2 Objetivos Específicos

- Extrair e purificar parcialmente os polissacarídeos presentes no exudato do Angico Vermelho;
- Caracterizar os polissacarídeos purificados do exudato do Angico Vermelho;
- Verificar os níveis de citotoxicidade dos polissacarídeos do Angico Vermelho, “Pegico”;
- Determinar as concentrações ideais dos polissacarídeos do Angico Vermelho (Pegico) e demais reagentes no desenvolvimento do hidrogéis na forma de filmes;
- Caracterizar as propriedades físico-químicas e mecânicas dos filmes.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Angico do Cerrado

Os recursos naturais do Cerrado são inesgotáveis e ainda muito pouco explorados. O desmatamento predatório das espécies nativas do Cerrado pela ofensiva frente agrícola, formação de pastagens e exploração madeireira geram impacto importante na preservação da vegetação do bioma e interferem no aproveitamento de recursos para uso sustentável, sendo necessárias medidas urgentes com maior atenção e investimentos para conter o avanço de degradação do Cerrado e ao mesmo tempo incentivar o reflorestamento para a recuperação de áreas degradadas (DHINGRA et al., 2002).

Na classificação taxonômica do Angico, inicialmente proposta por Brenan em 1955, eram compostas por quatro espécies anteriormente incluídas no gênero *Piptadenia* devido a semelhanças morfológicas. Conhecida também como *Anadenanthera colubrina* ou *Piptadenia colubrina* e após atualização taxonômica, convencionou-se em duas espécies, *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina* com sinonímia de *Anadenanthera macrocarpa* (SILVA, 2011).

O Angico Vermelho pertence taxonomicamente ao reino Plantae, filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae e subfamília Mimosoideae, a menor das Leguminosae. A espécie de Angico Vermelho, *Anadenanthera macrocarpa*, é encontrado praticamente em todo território do Cerrado e regiões de transição com outros biomas (CARVALHO, 2003). As folhas do Angico (Figura 1 - A) são compostas, bipenadas, com 15 a 20 jugos, folíolos opostos de 4-6 mm de comprimento com 20-80 jugos. As flores do Angico (Figura 1 - B) são alvas e hermafroditas, reunidas em glomérulos globosos, aromáticas com 10 estames livres sendo estas melíferas, brancas e pequenas que florescem a partir do mês de novembro, prolongando-se até janeiro. Os frutos (Figura 1 - C) são de vagem comprida e estreita, possuindo grande quantidade de sementes viáveis de cor castanho-avermelhado, planos, curvos ou sinuosos, com superfície rugosa. Cada fruto contém de oito a quinze sementes, coloração castanho a pardo-avermelhadas escuras, brilhantes, arredondadas, achatadas, sem asas, com cerca de 2 cm de diâmetro com maturação ocorrendo durante os meses de julho e agosto. É comum encontrar nas proximidades ou sob a árvore-

mãe vários indivíduos se desenvolvendo após a germinação com a formação de grupo de Angico de várias idades (LORENZI, 2002; GONÇALVES et al., 2008).

Figura 1: Aspectos morfológicos do Angico Vermelho.

A: Morfologia das folhas; B: Morfologia das flores; C: Morfologia dos frutos; D: Angico adulto; E: Tronco;
F: Exudato do Angico



Fonte: Elaboração do autor. (Câmera digital Sony – W330). Fotografado em 06/out/2013.

O Angico Vermelho é uma espécie arbórea (Figura 1 - D), chegando até 25 m de altura e tronco de 90 cm de diâmetro (Figura 1 - E). Apresenta caule ereto com casca grossa nas regiões de solos férteis e profundos caracterizando-se por ser uma árvore de grande porte dentre as demais típicas do Cerrado, tendo caule tortuoso em locais com solos mais pobres. Por entre as fendas do seu caule emerge uma resina natural de amarelada ao exudar, tornando-se avermelhada quando cristaliza, com aspecto de goma e propriedade adesiva (Figura 1 - F).

Após a exudação, o material tende a solidificar-se tornando uma estrutura vítrea, translúcida e com aspecto similar a mel solidificado (LIMA et al., 2011).

O exudato do Angico Vermelho tem característica de goma, sendo de aspecto amarelada e textura pegajosa, reunindo em sua composição estrutural polissacarídeos, taninos hidrolisáveis (galataninos e elagitaninos) e condensados, ligninas, além de fenóis e polifenóis como ácido carboxílico, glicosídeos e demais polímeros insolúveis como os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples e cumarinas, todos originados do metabolismo secundário da planta em condições ambientais adversas para a defesa da planta frente a herbívoros e ataques patogênicos de microorganismos, também essenciais para o seu crescimento e reprodução (SARTORI, 2012).

De acordo com Silva et al. (1998), exudatos de troncos de árvores da família das leguminosas como ocorre no Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), são gomas naturais contendo polissacarídeos que podem formar hidrogéis pela sua hidratação e dispersões coloidais tendo inúmeras aplicações tecnológicas como agentes espessantes, gelificantes, emulsificantes, floculantes, clarificantes, encapsuladores, controladores de calorias, adesivos, inibidores de cristalização, protetores coloidais, estabilizadores de espuma e de suspensão, além de formadores de filmes.

Presença de arabinose e galactose na goma do Angico além de xilose e ribose, identificados nos trabalhos de Rangel (1943) e Rosenthal (1955), foram investigados por Silva et al. (2008) revelando arabinose (67,8%), galactose (24,1%) e ramnose (2%), porém nenhuma existência de glicose, xilose e ribose, além de valores de proteínas (5,8%), ácido glucurônico (5,9%), açúcares neutros, cátions (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) e distribuição trimodal de massa molar de um complexo polissacarídeo-proteína ($7,9 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1}$) e polissacarídeos ($8,3 \times 10^4 \text{ g.mol}^{-1}$), indicando uma macromolécula ramificada porém em menor grau do que a goma arábica e a goma do cajueiro.

3.2 Polissacarídeos

Polissacarídeos, principalmente de fontes naturais, têm vasta aplicação nas áreas biomédicas, farmacêuticas, cosméticas e em engenharia de materiais, criação de tecidos e dispositivos de veículos de drogas, viscosuplementação e liberação controlada de fármacos devido à sua diversidade de estrutura química e propriedades físicas. O desenvolvimento de suspensões poliméricas à base de polissacarídeos apoia-se nas características de serem

biodegradáveis, bioativos e particularmente renováveis dando a eles múltiplas possibilidades de destinação, de forma especial o domínio da solubilidade dos polímeros em água e propriedades físicas em hidrogéis e filmes pela interação com a matriz. Devido ao grande número de radicais (-OH) na cadeia há grande capacidade de haver ligações intra e intermoleculares com demais componentes da cadeia gerando pontos de agregação com insolubilidade, proporcionando boas propriedades físicas na formulação de filmes. Os polissacarídeos tem pequeno caráter hidrofóbico em relação aos grupos componentes e devido a sua estereoregularidade apresentam conformações helicoidais, com caráter semirígido promovendo melhor estabilidade. Normalmente estão presentes nos exudatos produzidos por biossíntese em plantas ou em animais e também de fontes microbianas como o hialuronano bacteriano e a xantana (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009).

3.2.1 Polissacarídeos do Angico (*Anadenanthera macrocarpa*) – PEGICO

Polissacarídeos são polímeros de carboidratos formando uma ampla classe de moléculas orgânicas desempenhando grande variedade de funções energéticas e estruturais da matéria viva, constituindo um dos mais abundantes grupos de biopolímeros. Os polissacarídeos apresentam diversificação na sua composição química, massa molar, configurações e conformações no arranjo polimérico, refletindo nas propriedades físico-químicas e mecânicas da substância e nas aplicações em composição de materiais (FERREIRA, 2008).

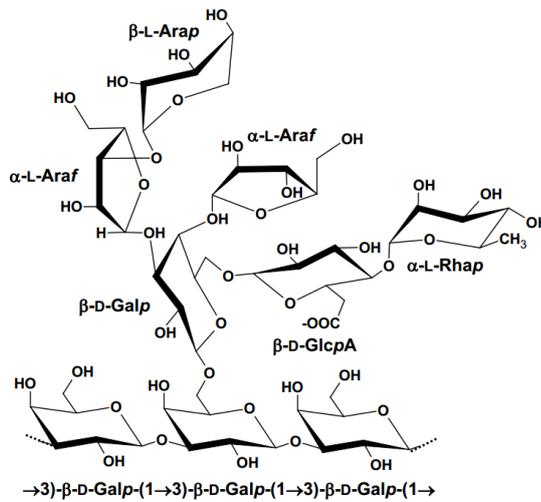
Polissacarídeos de exudatos de árvores brasileiras, em especial nativas da região nordeste, já foram estudados como o Cajueiro (*Anacardium occidentale*), Timbaúba (*Enterolobium contortisiliquum*), Ciriguela (*Spondia purpurea*) e o Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), todos apresentaram arabinose, galactose e ácido urônico com teores distintos. Algumas modificações estruturais, como a inserção de grupos carboxilato, oxidação dos grupos hidroxila a ácido e exertia com acrílamida tem sido realizadas, como é o caso do polissacarídeo carboximetilado reticulado do Angico para aplicação em matriz de adsorção de metal pesado e também nanopartículas com ácido acrílico (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009).

A estrutura química do polissacarídeo presente na goma do Angico (Figura 2) tem alta complexidade e consiste de um heteropolissacarídeo de alto teor de arabinose com (1→3)-β-D-Galp como cadeia principal e muitas cadeias laterais diferentes contendo (β-D-Galp-[(1→6)-β-D-Galp]_m-(1→6)-, substituído em O-3 por α-L-Araf-[(1→3)-α-L-Araf]₀₋₂.

Também estão presentes unidades de cadeia principal substituída em O-4 e O-6 por unidades α -L-Araf, grupos de cadeias laterais Rhap-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpA-(1 \rightarrow 6)- β -Galp-, α -L-Araf não redutor ligado a estrutura de unidade final (1 \rightarrow 6) para D-Galp, β -Araf e β -Arap (DELGOBO, C. L. *et al.*, 1998). Nos trabalhos de Delgobo (1998) e Tosin (2008), a caracterização química das cadeias laterais do polissacarídeo foi feita graças ao detalhamento dos oligossacarídeos livres redutores da goma.

Ainda, segundo Delgobo et al. (1998) os mono e oligossacarídeos não parecem surgir via auto-hidrólises da goma. A análise de composição da goma de *Anadenanthera colubrina* revelou valores de Arabinose (64%), Galactose (20%), Mannose (1%), Rhamnose (6%) e Ácido hexaurônico (10%), apresentando muita proximidade com os resultados da goma de *Anadenanthera macrocarpa*, de acordo com Silva et al. (1998) com metodologia de precipitação em etanol.

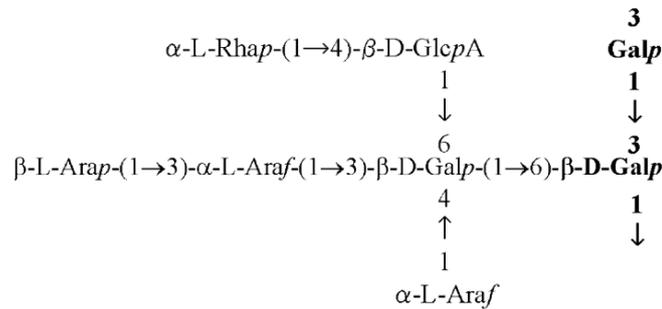
Figura 2: Estrutura do polissacarídeo da goma do Angico



Fonte: TOSIN (2008)

Arabinogalactanas são compostos presentes na maioria de gomas exudadas de plantas como encontradas nas gomas de cajueiro, paineira e limoeiro, de acordo com Tosin (2008). Essa mesma composição química é material de estudos de Moretão et al. (2004), referindo-se aos principais compostos da goma do Angico como ARAGAL (Figura 3) com testes *in vitro* de citotoxicidade e *in vivo* na comprovação de efeitos nas ações macrofágicas antitumorais em células peritoneais.

Figura 3: Estrutura do ARAGAL, segundo Delgobo et al., (1998)



Fonte: MORETÃO et al. (2004).

O heteropolissacarídeo é constituído por uma ligação (1→3)-β-D-Galp na cadeia principal e muitas cadeias laterais diferentes compostas de grupos de unidades de oligossacarídeos (α-Araf, α-Rhap e β-GlcpA).

Os exudatos de plantas são produzidos por ações metabólicas como mecanismo de defesa contra o estresse causado por injúria física ou ataque microbiano. Os polissacarídeos são heteropolissacarídeos com estrutura complexa, ramificados e polidispersos contendo ácido glucurônico e galactourônico, sendo divididos em três grupos. O primeiro, formado de uma cadeia principal β-D-galactose ligada a cadeias laterais de β-D-galactose e ácido glucurônico. O segundo, formado de uma cadeia principal β-D-ácido glucurônico ligado à D-manose com ramificações de arabinose e ácido glucurônico. O terceiro é composto por uma cadeia de α-D-ácido galactourônico ligado à α-L-ramnose com ramificações de ácido glucurônico e β-D-galactose (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009).

O grupo de polissacarídeos, como uma classe de macromoléculas naturais tem propensão extremamente bioativa e tem ganhado importância nas ciências de materiais pelas suas propriedades biocompatíveis e biodegradáveis, caracterizando produções de bioprospecção com acesso às matérias-primas nos recursos naturais vegetais provenientes das resinas obtidas a partir do caule, sementes e folhas (AZEVEDO et al., 2007).

O desenvolvimento de novos materiais com capacidade filmogênica contendo polissacarídeos na composição de sua matriz tem despertado o interesse de pesquisadores visando aplicações em diversas áreas e em especial em ciências farmacêuticas como sistema de liberação controlada de medicamentos via transdérmica com aplicação tópica (KAMOUN et al., 2015).

Efeitos benéficos são alcançados com a mistura dos polímeros sintéticos comprovadamente eficazes com características inócuas nos organismos vivos e formulações

de hidrogéis que determinam reagentes polimerizantes em matriz e outros incorporados a ela, fornecendo propriedades físicas e mecânicas desejáveis para finalidades propostas (SILVA et al., 2013).

3.2.2 Quitosana

A quitosana é um polímero atóxico, biocompatível e biodegradável, antibacteriana, anti-viral e fungicida, extraída de fontes renováveis, há 70 anos utilizada no meio tecnológico com comprovada eficiência de composição em blendas poliméricas, polimerizações filmogênicas e absorvedores de gorduras (AZEVEDO, 2007).

Seu potencial de aplicação é multidimensional abrangendo áreas nutricionais, biotecnológicas, ciências dos materiais, produtos farmacêuticos, agricultura e proteção ambiental e recentemente na terapia genética. Sua utilização reduz o impacto ambiental pelo descarte de rejeitos e resíduos de carapaças de crustáceos pela indústria pesqueira (AZEVEDO, 2007).

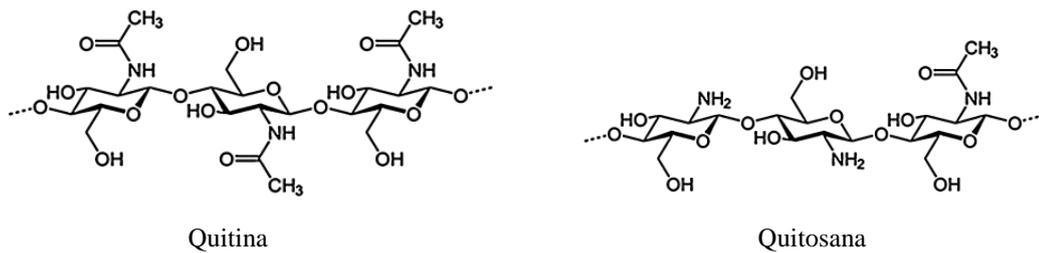
A quitina um polímero natural presente no exoesqueleto de crustáceos, na rádula de alguns moluscos, insetos, nas paredes celulares de algas verdes e secreções de alguns fungos e leveduras, sendo a quitosana seu principal derivado (ANITHA et al., 2014).

A disponibilidade e estrutura molecular da quitina (Figura 4) são comparáveis à de celulose, representando anualmente mais de 10^9 t, sendo os polímeros naturais mais abundantes. A quitina tem alta massa molecular, de 10^4 a 10^6 g.mol⁻¹ sendo insolúvel na maioria dos solventes, predominando unidades monoméricas de N-acetyl-2-amino-2-deoxy-D-glucose (grupos N-acetilados) e 2-amino-2-desoxi-D-glucose residuais (grupos N-desacetilados, grupos amino) (ANITHA et al., 2014).

A quitina contém pouca quantidade de 2-amino-2-desoxi-D-glucose, portanto é menos solúvel em solventes ácidos. A quitosana contém um número menor de N-acetyl-2-amino-2-desoxi-D-glucose e, conseqüentemente, é solúvel em solventes ácidos. A maioria dos autores considera a quitina formada por unidades 2-acetamino-2-desoxi-D-glucose e a quitosana predominantemente formada por unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucose, sendo solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos. Existem três formas da quitina encontrada na natureza tendo propriedades diferentes. As fontes de α -quitina são caranguejos e camarões, β -quitina de lulas e γ -quitina de lula comum, havendo diferenciação no arranjo das cadeias poliméricas, conferindo à primeira (α) maior dureza sendo associada à proteínas e materiais inorgânicos. As duas últimas (β e γ) oferecem maior flexibilidade e são

menos estáveis que a primeira (α). Condições heterogêneas durante a desacetilação da quitina origina quitosana com uma distribuição das cadeias em bloco enquanto em condições homogêneas geram cadeias aleatórias de grupos acetyl. Ambas as formas poliméricas possuem versáteis aplicações em engenharia de tecidos, excipientes para administração de fármacos e genes, tendo facilidade de processabilidade em géis, filmes, nanofibras, nanopartículas e formas semelhantes a esponjas (ANITHA et al., 2014; ANTONINO, 2007).

Figura 4: Estrutura molecular da Quitina e Quitosana

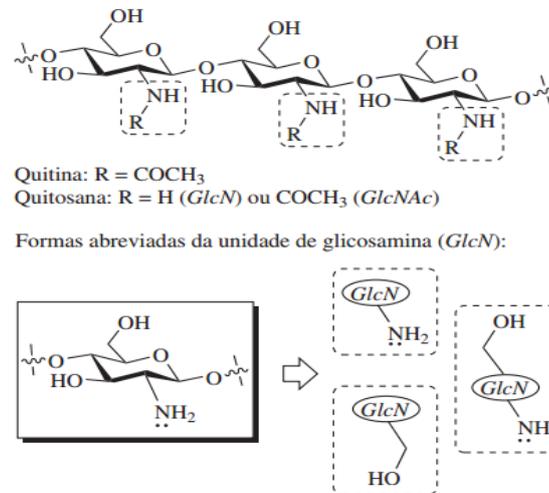


Fonte: VAN DEN BROEK (2015).

Um dos materiais biológicos mais abundantes na natureza, a quitina é depois da celulose e ao lado da lignina o polímero mais biosintetizado, apresentando forte ligação com proteínas e sais minerais. Na indústria, a quitina é obtida através de um tratamento ácido (descalcificação) e um alcalino (desproteinação) com uma descoloração. Na obtenção de quitosana é feito um tratamento alcalino extra para desacetilar a quitina sendo o grau de *N*-acetilação inferior a 50%, tendo a quitosana grau entre 0,05 a 0,30% (DUTTA et al., 2009).

Quitosana e quitina são polissacarídeos lineares, formado por copolímeros constituídos por unidades monoméricas diferenciando-se quanto à proporção relativa dessas unidades e quanto à solubilidade. Quando mais de 50% das unidades presentes na estrutura do copolímero são *N*-acetil-glicosamina, então o copolímero é denominado quitina. Na situação inversa em que mais de 50% das unidades presentes na estrutura são *N*-glicosamina, então o copolímero é denominado quitosano (Figura 5). A quitosana é obtida essencialmente pela *N*-desacetilação da quitina onde os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) das unidades de *N*-acetilglicosamina (*Gl-NAc*) da quitina são convertidos em grupos amino ($-\text{NH}_2$) em taxas variadas de graus de desacetilação. As propriedades químicas da quitosana são influenciadas pelo grau de desacetilação, tais como hidrofobia, capacidade de reticulação, solubilidade e viscosidade de suas soluções (DUTTA et al., 2009; GONSALVES et al., 2011).

Figura 5: Diferença entre as estruturas químicas de quitina e quitosana e unidades estruturais de glicosamina com os sítios de reações de reticulação



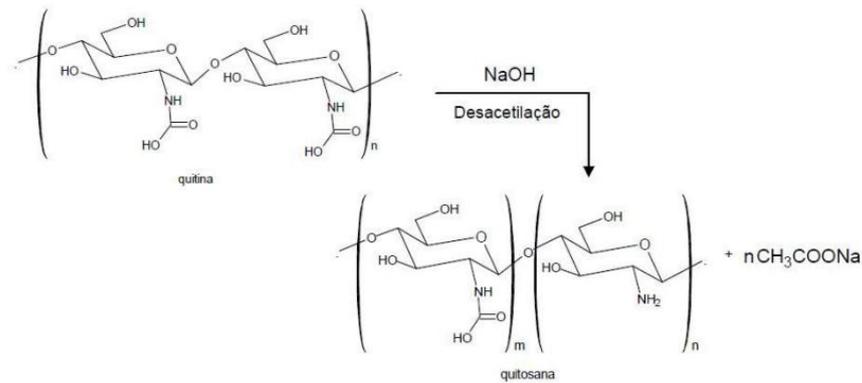
Fonte: GONSALVES et al. (2011)

A quitosana é pouco abundante na natureza, tendo sido observado apenas em alguns fungos, produzida em condições alcalinas ou por hidrólise enzimática. Muitos fatores influenciam nas propriedades da quitosana como a concentração de álcalis, tempo de incubação, temperatura ambiente, tipo de fonte, proporção alcalina, tamanho da partícula e *N*-desacetilação homo ou heterogênia (DUTTA et al., 2009).

Dependendo do grau de *N*-acetilação (Figura 6) e massa molar média, a quitosana poderá ser insolúvel em água e outros solventes orgânicos, mas podem facilmente solubilizar em solução ácida (pH < 6,3) apresentando muita viscosidade. Formulações de filmes a base de quitosana é favorecida pela sua propriedade de formar película, revestimentos antimicrobianos e membranas semipermeáveis a gases, com dimensões inferiores a 30µm para contatos diretos em alimentos e ou acima de 30µm na composição de blendas poliméricas (GOMES, 2013).

O maior número de pesquisas com filmes de quitosana tem sido na área alimentícia com finalidades de películas para revestimentos de alimentos com função antimicrobiana e conservação da qualidade dos mesmos, garantindo maior durabilidade dos produtos minimizando sua degradação, podendo ser associado a outros polissacarídeos como o amido (DUTTA et al., 2009; GOMES, 2013).

Figura 6: Conversão de quitina em quitosana pela reação de desacetilação



Fonte: CARVALHO (2010).

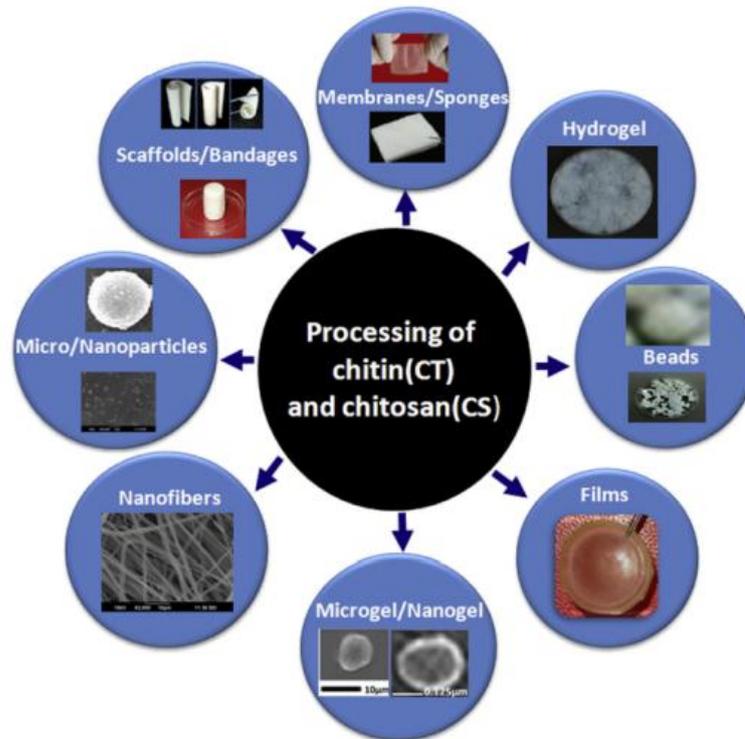
A derivação de materiais com base na quitosana apresenta incorporação de agentes de reticulação, conferindo a este biopolímero maior resistência à dissolução em meio ácido, menor hidrofília, porosidade e diminuição da reatividade química do material produzido conferindo uma gama de aplicações em muitas áreas. Este é o biopolímero que apresenta maior caráter catiônico, sendo a maioria dos heteropolissacarídeos de origem animal ou vegetal, neutros (celulose e amido) ou aniônicos (xantana e alginato). Por esse motivo apresenta algumas funções particulares de reticulações de suas cadeias (GONSALVES et al., 2011).

A quitina tem garantida sua degradabilidade pela ação da quitinase é amplamente distribuída na natureza, encontrada em bactérias, fungos, plantas e no aparelho digestivo de muitos animais com função bactericida, tendo como resultados da sua degradação em organismos vivos, as glicosaminas. Presente na clara de ovo, a liozina também degrada a quitina (RINAUDO, 2006).

Muitos produtos são propostos utilizando a quitosana em composições de materiais associados a vários polímeros e solventes como a celulose, álcool polivinílico, polietilenoglicol, PVA e recentemente desenvolvimento de filmes com nanotubos de carbono exibindo grande aumento do módulo de tensão. Sua característica hidrofílica ocorre por adição de grupos polares capazes de formar interações secundárias (-OH e -NH₂ envolvidos nas ligações H com outros polímeros). Aplicações notáveis da quitosana (Figura 7) são descritas por diversos autores na área biomédica e farmacêutica em materiais de liberação de ativos em locais e dosagens controladas, funcionando como veículo para fármacos hidrofóbicos contra o câncer, aumentando sua eficácia. Filmes poliméricos à base de

quitosana para administração transmucosa incorporando prednisolona foram testados nos trabalhos de Kanke et al. (1999) e Illum et al. (2005).

Figura 7: Esquema de possibilidades de aplicações da quitina e quitosana



Fonte: ANITHA et al. (2014).

A quitosana tem uma melhor reatividade química e bioquímica que a quitina. O grupo amino presente na quitosana ligado ao segundo átomo de carbono, não sendo muito encontrado em polissacarídeos, funciona como o lado reativo. Existem três formas hidratadas de quitosana e uma forma anidra. Sua atividade antibacteriana intrínseca é explicada pelo fato da positividade do grupo amino das unidades de glucosamina alterar as propriedades de barreira das membranas microbianas interagindo com os seus componentes com cargas negativas, impedindo a entrada de nutrientes ou causando o extravazamento do conteúdo citoplasmático (ALMEIDA et al., 2008).

Outra explicação seria que a entrada da quitosana no interior da célula promoveria a ligação com o DNA, provocando a inibição da transcrição de RNA e a síntese protéica. Outra atividade comprovada é a antitumoral, dependendo da solubilidade e a acetilação parcial e o polissacarídeo, exibindo formas de baixa massa molar com seis açúcares (quitoligossacarídeo) que inibem a proliferação e o crescimento de células CT26 e células tumorais sarcoma 180, como revelam testes em ratos como em testes *in vitro* indicam

potencialidade como agente antitumoral. A quitosana apresenta também atividade antioxidante, retardando ou inibindo alguns substratos celulares contra doenças degenerativas e os radicais livres de oxigênio reagindo com os grupos hidroxila e amina formando radicais de macromoléculas mais estáveis (ALMEIDA et al., 2008).

O desenvolvimento de filmes com mistura de PVA e quitosana tem se apresentado promissor e com bons resultados como dispositivos antimicrobianos, pois a quitosana tem ação inibidora de uma ampla variedade de fungos, leveduras e bactérias, somando também as excelentes propriedades filmogênicas tendo aplicações em produção de embalagens por formar barreira a gases e aromas, representando uma tecnologia para a criação de embalagens ativas, melhorando a segurança, qualidade e conservação de alimentos perecíveis (TRIPATHI et al., 2009).

3.3 Hidrogéis

Hidrogéis são estruturas poliméricas, hidrofílicas, formadas por dois ou mais componentes unidos por ligações covalentes e/ou eletrostáticas dispostos em uma ou mais redes tridimensionais. São cadeias macromoleculares interligadas por algum agente reticulador, envoltas por moléculas de um solvente, geralmente água. A quantidade de água absorvida está relacionada com a hidroflicidade das cadeias com os grupos hidroxilas e a densidade de agentes de reticulação presentes na matriz. O controle sobre tais fatores que interferem no arranjo das cadeias poliméricas como suas densidades, quantidade dos reagentes e balanço hidrofílico-hidrofóbico, o controle do ambiente externo, temperatura, pH e força iônica entre outros é fundamental para alcançar propriedades ideais para o propósito de utilização do material (AOUADA et al., 2009).

Segundo Peppas et al. (2000), os hidrogéis apresentam características hidrofílicas que podem absorver e reter grande quantidade de água, fluidos biológicos, soro fisiológico ou soluções fisiológicas. Esses materiais são formados por homopolímeros, copolímeros e/ou blendas poliméricas que pela existência de ligações químicas e físicas cruzadas tridimensionais tem caráter insolúvel, podendo haver em sua morfologia, macroporos (50nm a 1000nm), microporos (5nm a 50nm) ou não apresentar poros. Considerando todas essas características justifica-se a ampla utilização na área biomédica por sua semelhança a tecidos orgânicos devido ao teor de água e propriedades mecânicas moderadas e sintonizáveis por interações poliméricas naturais e sintéticas. Os hidrogéis são também de grande interesse para

a incorporação de proteínas e células, entrega de drogas, engenharia de tecidos, biossensores, absorventes para remoção de metais pesados e na agricultura. Hidrogéis à base de polímeros naturais, em particular polissacarídeos, tem atraído interesse dessas áreas por apresentarem biocompatibilidade, biodegradabilidade, hipotoxicidade, baixo custo de produção e matérias-primas abundantes nas proximidades locais, porém o controle da sua estabilidade requer amplo processo experimental para ajustar as concentrações e massa dos reagentes (DISTANTINA et al., 2013; RASIA et al., 2013; DESHAYES et al., 2013).

Hidrogéis são conhecidos por sistemas de distribuição inovadores que possibilitam a inserção/imobilização de medicamentos destinados à aplicação na pele com o objetivo de alcançar um efeito local ou sistêmico, dependendo da permeabilidade do fármaco. Tais hidrogéis devem apresentar características como menor taxa de adesão bacteriana, boas propriedades físico-mecânicas, ser biocompatível e apresentar boa bioestabilidade (SHANG et al., 2008).

Os hidrogéis são aplicados extensivamente na área biomédica em lentes de contato e intraoculares, pele artificial, matriz de crescimento de tecidos e sistemas de liberação controlada de fármaco e agentes bioativos contraceptivos, antibióticos, antiarrítmicos, antinoplásicos e anticoagulantes. Apresentam capacidade de intumescimento de água de milhares de vezes o seu peso seco dependendo da massa molar entre as ligações cruzadas e a afinidade com a água é atribuída a grupos hidrofílicos, tais como a hidroxilas (-OH), carboxilas (-COOH), amidas (-CONH₂) e sulfônico (-SO₃H) presentes na estrutura do polímero, de acordo com Hamidi (2008); Oréfice (2006); Soto e Oliva (2012) e Ranade et al., (2003).

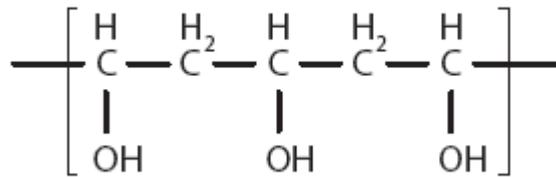
3.3.1 Álcool Polivinílico – PVA

O PVA (Figura 8) é um polímero sintético altamente hidrofílico, não-tóxico, não carcinogênico, solúvel em água, apresentando boas propriedades físico-químicas, capacidade de formação de películas membranosas e gel (TRIPATHI et al., 2009). O uso deste polímero é importante em muitas aplicações, tais como sistemas controlados de entrega de drogas, preparação de membranas, reciclagem de polímeros e embalagens com características de excelente formação de filmes altamente hidrofílicos, solúveis em água e com boa estabilidade química (TRIPATHI et al., 2009).

Estudos sobre o mecanismo de dissolução e mudanças na cristalinidade e comportamento do PVA como também de suas propriedades físicas e capacidades de

formação de gel são devido ao grande número de grupos hidroxila (-OH) que permite reagir com muitos grupos funcionais, comportando-se como agente espessante até mesmo como parte de sistemas de liberação controlada. Blendas poliméricas compostas de mistura física de polímeros naturais e sintéticos representam uma nova classe de materiais, apresentando melhora das propriedades morfológicas e mecânicas dos materiais resultantes (EL-HEFIAN et al., 2010).

Figura 8: Estrutura química do Álcool Polivinílico - PVA



Fonte: Royal Society of Chemistry (2013).

Dispositivos poliméricos com propriedades desejáveis por serem bioabsorvíveis, biocompatíveis e biodegradáveis, apresentando também propriedades mecânicas suficientes para integrar sistemas de curativos, cartilagens artificiais, entrega de drogas entre outras finalidades médicas tem sido atraente para indústrias ao longo da última década. Blendas poliméricas de Álcool Polivinílico – PVA, associado a polímeros naturais como alginato, amido e quitosana tem alcançados excelentes resultados devido às suas características renováveis e propriedades biológicas (KAMOON et al., 2015). Outra propriedade do PVA, de acordo com Tripathi et al. (2009), é o fato de apresentar características apropriadas para obter efeitos benéficos biológicos confirmados em filmes à base de PVA e quitosana misturados em especial como o objetivo de alcançar efeito antibacteriano.

4 DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAIS

Biomateriais são substâncias ou dispositivos elaborados à base de produtos naturais aplicáveis em sistemas diagnósticos ou terapêuticos que estão em contato com fluidos biológicos e que deverão conter propriedades essenciais para satisfazer aos objetivos finais, como por exemplo, formas, dimensões, estabilidade, porosidade e permeabilidade de ativos farmacológicos, além de garantirem condições inócuas antigênicas, não tóxicas, assépticas, criando uma harmonia biocompatível entre os dispositivos biotecnológicos e o paciente em contato. Há algumas estratégias para contornar certas incompatibilidades interferindo na estrutura química ou física do material modificando as técnicas de polimerização e arranjos estruturais para conseguir inércia química não provocando reações, interação melhorada em nível celular, capacidade de reabsorção e de funcionar como suporte e orientador de crescimento regenerativo orgânico (STAMATIALIS et al., 2008). No mercado tecnológico de membranas há grande importância nas áreas médicas de órgãos artificiais, regeneração de tecidos, dispositivos de revestimento e entrega de drogas transdérmica com administração contínua, semelhante ao proporcionado pela perfusão intravenosa, porém não invasivo e sem necessidade de isolamento ou internação, sendo na forma de difusão passiva na pele ou estimulada por corrente elétrica (STAMATIALIS et al., 2008).

O uso de polímeros naturais na saúde não é novidade, pois a composição em medicamentos fitoterápicos há séculos é conhecida e praticada. Dispositivos poliméricos a partir de misturas de polímeros naturais e sintéticos associados a aditivos com finalidade de melhorar as suas propriedades é relativamente recente e a incorporação de drogas e sistemas de administração de fármacos pode ser considerada moderna. Biopolímeros ocorrem em abundância na natureza e têm aplicação potencial em várias áreas da medicina, como a utilização da quitosana (polissacarídeo de origem animal) com qualidades intrínsecas como biodegradabilidade, biocompatibilidade, serem atóxicos, excelente mucoadesivo e aumento de permeação, com propriedade filmogênica em especial quando misturado a outros polímeros naturais e sintéticos (IGE, 2012).

Avanços tecnológicos com produção de filmes poliméricos para uma série de aplicações como sistemas de entrega de drogas, regeneração de tecidos e órgãos artificiais, revestimento e biosensores, bioseparação em diálises tem apresentado como realidade nos dias atuais, levando à denominação de “polímeros inteligentes” com propriedades de liberação de drogas através da membrana porosa em contato com a superfície corporal

contemplando uma determinada área aderida estimulada por pequenas alterações de pH e temperatura como influência de fluidos fisiológicos (STAMATIALIS, 2008).

“Biomateriais podem ser descritos como materiais de origem natural ou sintética, que são passíveis de ser utilizados ou adaptados para uso médico, implicando a sua interação com sistemas biológicos. Neste contexto específico de aplicação, destacam-se quatro grupos distintos de materiais que podem ser utilizados como biomateriais: cerâmicos, metais, polímeros e compósitos. Nestes, verifica-se uma evolução mais acentuada no uso de polímeros como biomateriais. O interesse neste tipo de biomateriais prende-se com a sua facilidade de preparação, a grande variedade de compostos gerados por reações de polimerização e a sua biocompatibilidade. As suas aplicações na área da medicina são vastas, indo desde a oftalmologia (na criação de novas lentes), à ortopedia, cardiologia e cirurgia cardiovascular, até aos sistemas de libertação controlada (Wu et al., 2005; Qiu e Park, 2001; Hoffman, 1987) in: ALMEIDA, 2010.

“Outro fator importante a considerar na utilização de certos polímeros como biomateriais é a biodegradação. Nos casos em que o polímero não se degrada dentro do corpo é necessária a remoção do mesmo com recurso à cirurgia, implicando um alto custo e risco para o paciente. Desta forma o uso de polímeros biodegradáveis é muito importante. Este tipo de material degrada-se *in vivo* em fragmentos menores que podem ser excretados pelo corpo. A degradação pode ocorrer através de um processo biológico ativo (através da participação de enzimas presentes no organismo), por meio passivo (como resultado de reações químicas) ou simplesmente pela solubilização do polímero. A vantagem de se usarem biopolímeros resulta da capacidade de estes serem manipulados ou alterados, produzindo-se deste modo biomateriais contendo grupos hidrofílicos específicos ou com grupos biodegradáveis. Além disso, modificações na superfície desses materiais com a fixação de grupos químicos específicos podem melhorar ou introduzir características novas como biocompatibilidade” (ALMEIDA, 2010).

Um biomaterial ideal congrega propriedades-chaves de não imunogênico, biocompatível, biodegradável e biofuncional que pode ser incorporado a proteínas bioativas e a produtos químicos, ter boa disponibilidade e fontes renováveis tendo como objetivo final a aplicação na pele ou tecido conjuntivo humano (IGE, 2012).

Filmes para fins de proteção de produtos alimentícios da deterioração e da perda de qualidade há tempos são utilizados com propriedades biodegradáveis, biocompatíveis, atóxicos, estáveis quimicamente. Nas duas últimas décadas, com mais intensidade, a evolução das pesquisas buscam desenvolver filmes mais resistentes à ruptura e abrasão com estabilidade dimensional para substituição de embalagens sintéticas, sobretudo aqueles originários de fontes renováveis. Os de destinação comestíveis têm sido desenvolvidos e caracterizados em escalas laboratoriais utilizando polissacarídeos e proteínas como biopolímeros (MENDIETA-TABOADA et al., 2008). Os alimentos *in natura* são altamente perecíveis e de difícil conservação especialmente em razão das mudanças das condições do ambiente como temperatura, umidade e irradiação UV. Os biopolímeros mais utilizados são as proteínas (gelatina e caseína) e os polissacarídeos (amido e celulose) (VICENTINI, 2003).

De acordo com Baptista et al. (2010), novas perspectivas de utilização de filmes finos, aqueles que apresentam dimensões aproximadas de algumas dezenas de micrômetros, como dispositivos e sistemas de conversão de energia atualmente corroboram com a tendência de atenção ambiental. O clamor da sociedade e comunidade científica aponta para tecnologias inovadoras de baixo custo e mais ecológicas. A miniaturização de novos materiais como os filmes biodegradáveis reduzem a quantidade de material utilizado, a energia consumida durante a manipulação e conseqüentemente reduzindo os custos de produção, tendo ainda a seu favor os aditivos, agentes coadjuvantes ao sistema para conquistar propriedades desejáveis de um filme.

Estudos para o desenvolvimento de películas a partir de produtos naturais exclusivos ou formando blendas com mistura física entre polímeros naturais e sintéticos tem ganhado destaque nas áreas de engenharia de materiais e aplicações biomédicas. O Álcool Polivinílico – PVA, um polímero sintético apresenta excelentes propriedades de formação dessas películas por ser biodegradável, atóxico, não carcinogênico, biocompatível e solúvel em água, ainda com característica hidrofílica e higroscópica tem sido misturado a polímeros sintéticos e naturais, podendo agregar propriedades ao produto final com a mistura ao PVA de proteínas e polissacarídeos oriundos de exudatos de plantas para aplicações em suporte de regeneração de tecidos e entrega de ativos farmacológicos de forma controlada (SILVA et al., 2013).

4.1 Aditivos

A aditivação de polímeros representa um avanço tecnológico na busca de melhorar as propriedades dos materiais poliméricos dando a eles características adequadas à sua aplicação, podendo um mesmo polímero ser utilizado para fins diferentes graças à interferência do aditivo incrementado modificando as conformações da matriz polimérica (BERENS et al., 2003).

Para proteger polímeros contra processos degradativos e dar a eles características almeçadas é necessário o conhecimento da sua estrutura química, dos processos de difusão reativa, da morfologia, da complexidade na interação com aditivos, das massas molares e das propriedades mecânicas (BERENS et al., 2003; CANEVAROLO JR, 2008).

Os aditivos representam importância fundamental devendo apresentar alta eficiência funcional, estabilidade no processamento e na aplicação, fácil dispersão, não

migrarem para a superfície do polímero, serem atóxicos, inodoros e insípidos (a não ser que se deseje), não afetarem negativamente as propriedades do polímero, além de apresentarem custo reduzido em toda a cadeia de processamento (RABELLO, 2000).

Se as vantagens de tecnologias de criação de polímeros e aditivos prevalecem sobre as suas limitações, um avanço significativo pode ser esperado, especialmente na área de materiais médicos em que o fator preponderante não é regido pelo preço, como nos outros produtos comerciais e sim pela qualidade do acabamento e funcionalidade de aplicação para seu fim, de acordo com Leong et al. (2014) e Wendel et al. (2008).

A área de prototipagem de tecidos orgânicos para substituir órgãos de sustentação esquelética (ossos e cartilagem) tem apresentado novidades como arranjos tridimensionais de fabricação de peças poliméricas com porosidade capaz de reproduzir uma forma e funcionalidade próxima do real. Modelos de prototipagem rápida (PR) a base de Modelagem com Deposição Fundida (FDM) tem sido promissor e adicionalmente, esta tecnologia oferece a flexibilidade e facilidade de variar o projeto estrutural característico para satisfazer os requisitos anatômicos e funcionais específicos dos dispositivos e do tecido de interesse (HUTMACHER et al., 2000).

O resultado final de todo processo de aditivação deverá seguir um cuidadoso delineamento para não ocorrer prejuízo das propriedades físico-químicas e mecânicas em razão da adição do aditivo no sistema como os reticuladores e plastificantes, havendo dois objetivos gerais da incorporação de aditivos no processo de polimerização: Primeiro, proteger o material polimérico, tornando-o mais rígido ou elástico e minimizar custos de produção e segundo, modificar sua estabilidade, tanto no processamento quanto nos serviços a que se destina (RABELLO et al., 2013).

4.1.1 Agentes Reticuladores

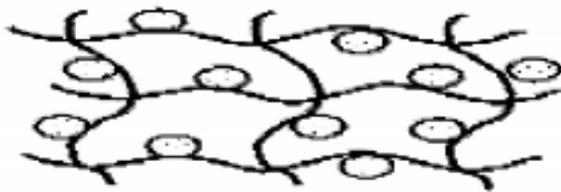
Os aditivos poliméricos com a função de reticulação da matriz, formando uma rede tridimensional (Figura 9) entre as cadeias, determinam alterações na plasticidade e propriedades mecânicas dos materiais reticulados, proporcionando uma melhor estabilidade dimensional, maior retenção de água sem se dissolverem, maior resistência à tração associado à permeabilidade de água ou fluidos orgânicos, retenção e liberação de substâncias de forma eficiente e controlável (COELHO, 2012).

Sistemas matriciais de polímeros hidrofílicos, higroscópicos, interligados por uma rede intermolecular proporcionam modificações importantes de estabilidade química e

térmica, rigidez estrutural, permeabilidade com formação de poros, cor, eficiência em quelação, permitindo a imobilização proteica e celular ou incorporação de fármacos para liberação controlada (NETO et al., 2005).

Segundo Berger et al. (2004), em casos de concentração elevada de agentes reticuladores poderá provocar uma diminuição da porosidade do material, retenção de água e a difusão de possíveis substâncias aprisionadas na matriz polimérica, assim quanto maior o grau de reticulação menor o índice de intumescimento experimentado pela quitosana também devido a maior rigidez das cadeias poliméricas. Tais substâncias apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos que permitem ligações inter ou intramoleculares das cadeias poliméricas.

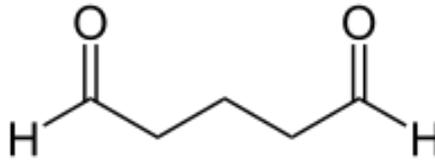
Figura 9: Representação de estrutura do hidrogel reticulado



Fonte: COELHO (2012).

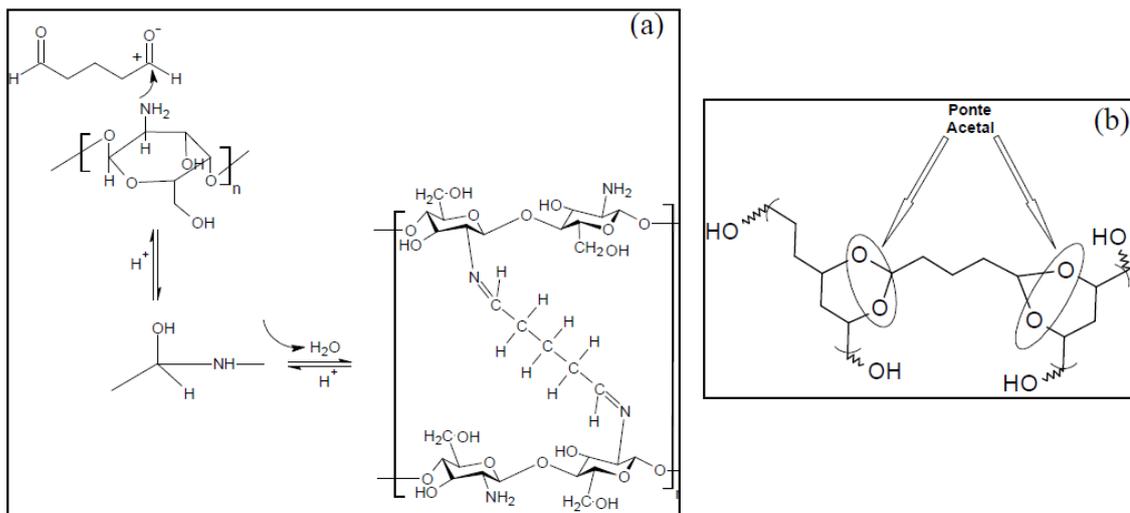
De acordo com Bispo (2009), o produto natural Genipin, extrado da fruta Gardênia, representa uma opção como agente de reticulação com formação de ligações cruzadas, apresentando boa reatividade com o PVA (Álcool Polivinílico) e a quitosana nas formações de matrizes poliméricas apresentando baixo nível de citotoxicidade.

A maioria das ligações de reticulação é do tipo covalente, empregando aldeídos monofuncionais (formaldeído) ou bifuncionais (glioxal e glutaraldeído) através das carbonilas desses agentes. O Glutaraldeído (GA), um dos agentes reticuladores mais utilizados no meio acadêmico e industrial (Figura 10) tem característica de formar interações intermoleculares covalentes. Trata-se de um dialdeído saturado que surgiu como alternativa de substituir o formol, com menor toxicidade e aspecto nocivo à saúde. O GA tem uma vasta aplicação como desinfetante e produto para assepsia de instrumentos hospitalares combatendo bactérias aeróbicas e anaeróbicas, fungos e vírus, fixador de tecidos em histologia, componente de detergentes e também é utilizado no curtimento de couro (GONSALVES, 2011).

Figura 10: Estrutura química do Glutaraldeído

Fonte: COELHO (2012).

Normalmente o glutaraldeído é utilizado na formação de redes de polipeptídeos e proteínas pela forte reatividade dos grupos aldeído que formam a base de Schiff com o grupo amina das proteínas. Composto misturas poliméricas de PVA/quitosana e polissacarídeos, o glutaraldeído é um excelente reticulador (Figura 11), face interagir quimicamente com ambos, promovendo a sua maior resistência física, química e microbiológica (COSTA JÚNIOR; MANSUR, 2008).

Figura 11: Reticulação da quitosana (a) e do PVA (b)

Fonte: COSTA JÚNIOR; MANSUR (2008).

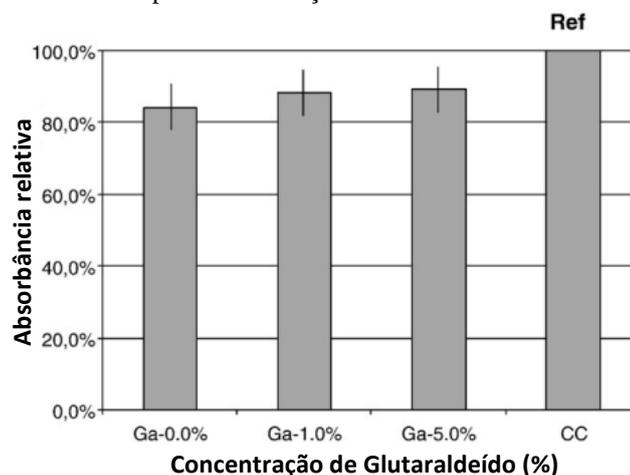
O glutaraldeído é uma substância classicamente considerada citotóxica, sendo necessários cuidados na sua manipulação para prevenir intoxicações de vários níveis, humanos e ambientais, porém recomenda-se serem observados os critérios de segurança e proteção com utilização de equipamentos de proteção individual (EPI). Ele é um dos produtos autorizados para soluções de assepsia manual e automatizado de instrumentais cirúrgicos e ambientes hospitalares nos procedimentos de Desinfecção de Alto Nível (DAN) para o combate a germes e bactérias patogênicas. Ainda é o desinfetante mais utilizado no mundo, havendo estudos para apontar produtos tão eficientes e com menor índice de toxicidade, que

não represente depreciação de equipamentos, saúde ocupacional e altos custos (BRASIL, 2007; PSALTIKIDIS et al., 2014).

A funcionalidade química reativa do glutaraldeído com grupos amina e hidroxila, em particular com o Álcool Polivinílico – PVA e a Quitosana, forma uma rede tridimensional com ligações covalentes intra e intercadeias poliméricas em busca de conquistar propriedades do material adequado às suas destinações. Para alcançar as propriedades requeridas têm sido verificados os resultados de polimerizações de componentes sintéticos e naturais separadamente ou misturados, como redes de enxertos ou reticulados. As formações reticulares podem alterar o comportamento de degradação em condições de contato com fluidos fisiológicos e ter irregularidades desse processo em diferentes locais da rede polimérica. Mesmo os grupos aldeídos serem classificados como citotóxicos em reticulações sintéticas, prejudicando a biocompatibilidade de biomateriais reticulados, ainda assim em contato com moléculas de aminoácidos e proteínas possam ser efetivamente bloqueadas, não havendo resíduos de aldeídos no sistema, estando todos ligados na reticulação das cadeias. Recentemente o óxido nítrico secretado por células endoteliais é um sinalizador de perturbação citotóxica nos tecidos fornecendo um parâmetro do processo fisiológico e patológico envolvidos com a administração de biomateriais (MANSUR et al., 2009).

Ainda de acordo com Mansur et al. (2009), foi verificado a citotoxicidade de hidrogéis de PVA/quitosana reticulados com glutaraldeído em proporções distintas. Os resultados revelaram biocompatibilidade dos biomateriais, apresentando viabilidade celular acima de 80%, o que garante uma biosegurança com uso do glutaraldeído como reticulador nas concentrações de 1 a 5%, portanto considerado não tóxico nessas condições e abre boas perspectivas na linha de engenharia de tecidos e dispositivos biomédicos (Figura 13).

Figura 12: Viabilidade celular para concentrações de Glutaraldeído em hidrogel PVA/quitosana



Fonte: MANSUR et al. (2009)

De acordo com os resultados de Granato et al. (2009) o glutaraldeído como reticulador em biomateriais com quitosana, em testes de citotoxicidade com ensaio colorimétrico com sal de tetrazólio (MTT), demonstrou perfil não citotóxico em concentrações de 0,5%.

Segundo Wei et al. (2008) o glutaraldeído tem baixa toxicidade, havendo várias substâncias reticuladas por ele disponíveis no mercado ou em tratamento clínico sem nenhum caso de toxicidade relatado, comprovado pela análise de fluorescência de raios-X, mostrando que a base de Schiff (C=N) formada pela presença do glutaraldeído na reação de reticulação com amina da quitosana é reduzida no fígado e no baço, se transformando em C-N que é estável *in vivo*, dificultando o retorno do glutaraldeído como um reagente de ligação cruzada em aplicações clínicas, perdendo as características de grupos aldeídos.

Costa-Júnior (2008) verificou a viabilidade celular em filmes PVA/quitosana reticulados com Glutaraldeído. Nas duas variações de concentração de GA (1% e 5%) não houve sinais de toxicidade ou valores significativos que indique inviabilidade celular. Mesmo com GA 5%, houve 85% de viabilidade celular após 24 h. pelo método da absorção do sal MTT, indicando assim garantindo que o uso de GA nessas proporções é biocompatível.

Por outro lado, De Paoli (2008) aponta que os processos de reticulação de polímeros e blendas poliméricas apresentam fortes alterações nas propriedades mecânicas como maior resistência do material, tornando o mesmo quebradiço ou vulnerável a fraturas perdendo sua flexibilidade e reduzindo a mobilidade entre as cadeias, que dependendo da designação do produto inviabiliza a sua aplicabilidade, havendo a necessidade de proceder a sua aditivação com algum plastificante.

Quanto maior o grau de reticulação menor o índice de intumescimento experimentado pela quitosana também devido a maior rigidez das cadeias poliméricas (BERGER, et al., 2004; WANG, 2004).

4.1.2 Plastificantes

São aditivos modificadores de propriedades amplamente empregados em polímeros com o objetivo de melhorar a processabilidade e dar flexibilidade ao material, alterando a viscosidade do sistema permitindo maior mobilidade entre as cadeias das macromoléculas. Geralmente são sólidos ou líquidos com alto ponto de ebulição. Há registros de uso de óleos e graxas desde a antiguidade e atualmente faz parte da grande maioria dos polímeros comerciais, como todos eles melhora o escoamento, reduzindo a temperatura de

transição vítrea (T_g) e o ponto de fusão (P_m) além de afetar todas as propriedades mecânicas e físicas, mas preservando a estrutura química das macromoléculas (RABELLO et al., 2013).

Os plastificantes, também conhecidos por anticongelantes, elasticadores ou amolecedores dependendo da área de produção que está concentrado devem ser miscíveis e compatíveis aos demais componentes da mistura e permanecer no sistema sem ser vaporizado no processo de secagem. Havendo migração para o exterior do material compromete a aderência a uma superfície pela deposição interfacial ou mesmo pode ser atacado por roedores, fungos e bactérias (RABELLO et al., 2013).

O aditivo pode não atuar simplesmente como espaçador molecular, mas pode formar uma interação dipolo entre grupos polares com as moléculas do polímero. Plastificantes primários são altamente compatíveis com o polímero não exudando durante o uso o que não ocorre tão adequadamente com os secundários, recomendando uma combinação entre ambos. Os procedimentos de plasticização podem seguir uma teoria de lubrificação onde o aditivo é adicionado ao sistema com efeito de lubrificação interna facilitando o movimento das moléculas e melhorando o processamento. Nas formulações gel com polímeros amorfos tem-se uma interação polar entre o aditivo e o polímero, formando um equilíbrio dinâmico minimizando a exudação (RABELLO et al., 2013).

Em polímeros semicristalinos a eficiência é duvidosa e há exudação do aditivo por não aceitação em regiões não-amorfas, o que irá depender da massa molar o plastificante. Em geral verifica-se aumento de alongação com diminuição da resistência e módulo de elasticidade. Tudo dependerá da finalidade do material, procurando adicionar a quantidade adequada para garantir a processabilidade, observando o não comprometimento físico do produto. Em pequenas adições de plastificante observa-se um aumento na resistência tensil e no módulo de elasticidade do material denominada antiplastificação devido às interações polares na interface molecular e formação de cristalitos, funcionando assim como reticuladores físicos. Os epoxídios são uma classe de óleos vegetais (soja, girassol, linhaça) epoxidados que fornecem adequadas propriedades e não toxicidade para uso a alimentos e dispositivos médico. Os hidrocarbonetos (alifáticos, aromáticos, cíclicos e clorados) atuam principalmente como plasticizantes secundários, barateando a produção (RABELLO et al., 2013).

Muitos polímeros na sua forma pura apresentam propriedades que inviabilizam o seu uso para alguns fins, como é o caso da quitosana que mostra uma temperatura de degradação inferior ao seu ponto de fusão, o que impede o seu desenvolvimento em várias aplicações. Uma maneira de superar esse problema é a plastificação do carboidrato.

De acordo com o trabalho de Matet (2013), a quitosana plastificada foi preparado por um método de compressão termo-mecânica com os efeitos de diferentes plastificantes não-voláteis de poliol (glicerol, xilitol e sorbitol). A microestrutura e morfologia foram caracterizadas a fim de compreender o mecanismo de plastificação. O sorbitol, o poliol com maior massa molar, resultou em quitosana plastificada com maiores propriedades térmicas, mecânicas e reológicas.

Por outro lado, a amostra plastificada com glicerol, o poliol de menor massa molar, tinha o teor mais importante na fase amorfa e as mais baixas propriedades térmicas, mecânicas e reológicas. Além disso, quando o teor de poliol aumenta na formulação, a quitosana é plastificada mais amorfa e conseqüentemente a sua processabilidade mais facilitada. A conclusão foi uma menor cristalinidade da quitosana utilizando glicerol como aditivo plasticizante e maior cristalinidade alcançada com o sorbitol. Estes resultados mostram que esta técnica de plastificação é uma alternativa interessante para o método de moldagem em solução tradicional para preparar filmes de quitosana numa escala maior (MATET et al., 2013).

Dependendo da aplicação considerada (biomédico, embalagem, agricultura, etc.), a formulação de quitosana plastificada pode ser adaptada de acordo com os requisitos para as propriedades reológicas, mecânicas e físico-químicas. Um sistema multifásico específico poderia ser apropriado para embalagem quando associada por mistura em fusão ou co-extrusão com outro polímero termoplástico. Também pode fazer parte de projetos de construção de uma arquitetura polimérica para fins de protetização 3D e com ação antibacteriana que já é uma propriedade da quitosana, sendo esta atóxica e biocompatível (MATET et al., 2013).

Inovações na área de nanopartículas e biocompósitos são promissores na busca de melhorar as propriedades dos polímeros e abertura de novas perspectivas de aplicações dos materiais incorporando aditivos plastificantes. Grande atenção tem sido recentemente voltada para a associação entre biopolímeros com cargas nanométricas formando sistemas híbridos orgânico-inorgânicos, especialmente aquelas adicionados silicatos dispersos em um nível nanométrico em uma matriz do biopolímero. Tais nanocompósitos chamado nano-biocompósitos, muitas vezes mostram melhores propriedades de barreira, mecânica e estabilidade à oxidação, redução da absorção de solvente, comportamento com biodegradabilidade melhorada (MARTINO et al., 2011).

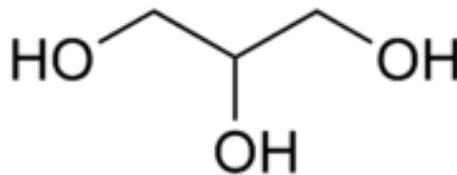
4.1.2.1 Glicerol

Quimicamente o glicerol é um tri-álcool com três carbonos (Figura 13), denominado de acordo com a IUPAC (1,2,3-propanotriol), apresentando em condições normais na forma líquida com muita viscosidade, incolor, inodoro e com gosto adocicado, derivado de fontes naturais ou petroquímicas (Figura 14). Esta substância comercialmente é conhecida como glicerina tendo versáteis aplicações no meio científico, tendo característica higroscópica e solubilidade em água pela presença de três hidroxilas na sua estrutura molecular tendo propriedade funcional plastificante quando dispersa em meio reacional polimérico (BEATRIZ et al., 2011).

De acordo com Oliveira (1996), os plastificantes tem efeito de redução das forças intermoleculares, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas. A glicerina é um coproduto do biodiesel ocorrendo a sua separação por decantação, o que facilita a sua purificação. Após o processo de transesterificação com metanol formam duas fases, uma metanólica e uma de biodiesel. Interpondo as duas encontra-se a glicerina bruta que contém 20% de impurezas.

Com destinação a procedimentos farmacêuticos exige-se um grau de purificação (> 99,5%) feita através de eletrodialise (membranas), nanofiltros e ao final por resinas de trocas iônicas originando a Glicerina P.A. (BEATRIZ et al., 2011).

Figura 13: Estrutura química do glicerol



Fonte: BEATRIZ et al. (2011)

Figura 14: Propriedades físico-químicas do glicerol a 20°C

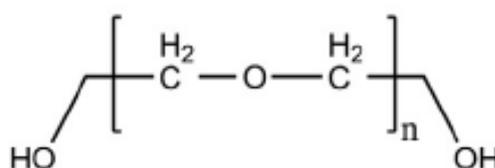
Fórmula química	$C_3H_8O_3$
Massa molecular	92,09382 g mol ⁻¹
Densidade	1,261 g cm ⁻³
Viscosidade	1,5 Pa s
Ponto de fusão	18,2 °C
Ponto de ebulição	290 °C
Calorias	4,32 kcal g ⁻¹
Ponto de fulgor	160 °C
Tensão superficial	64,00 mN m ⁻¹
Coefficiente de temperatura	-0,0598 mN (mK) ⁻¹

Fonte: BEATRIZ et al. (2011)

4.1.2.2 Polietilenoglicol – PEG

O PEG é um polímero de baixa massa molar obtido a partir de reação de polimerização do Óxido de Etileno tendo como iniciador Etileno Glicol, Álcool ou Água e um catalizador, gerando um produto que poderá apresentar na forma de líquido viscoso ou sólido (Figura 15). O polímero tem capacidade higroscópica, absorvendo e retendo água num meio reacional por formação de pontes de hidrogênio pela quantidade de grupos hidroxila. Como produto não-iônico apresenta boa estabilidade térmica e baixa volatilidade (MOREIRA et al., 2010).

De acordo com Suyatma et al., (2005) e Fiori et al., (2014) filmes de quitosana apresentam baixa resistência e quebradiços, porém quando utilizado PEG juntamente com o Glicerol como plastificantes apresentaram melhora da propriedade mecânica de elasticidade e maior estabilidade no processo de armazenamento do filme por longo período sem alterar suas características.

Figura 15: Estrutura química do Polietilenoglicol - PEG

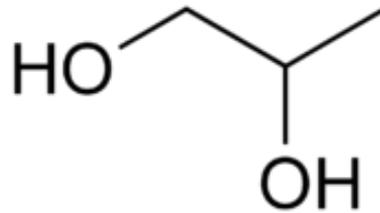
Fonte: KAMOUN et al. (2015)

Segundo Mincheva et al. (2004), o PEG pode ser utilizado como agente reticulador covalente em hidrogéis de quitosana e poly(oxiethylene) necessitando de manter temperatura de 80 – 100° C durante 5 horas para obter uma formação de rede, gerando filmes transparentes, flexíveis e incolores com objetivo de incorporação de fármacos.

4.1.2.3 Propilenoglicol

O Propilenoglicol (PG) faz parte do grupo dos polióis como o glicerol, é um líquido (CNTP) inodoro, incolor, higroscópico, miscível em água, alcoóis, ésteres e cetonas além de capacidade de solubilização de materiais orgânicos (Figura 16). Tem sido utilizado na indústria alimentícia de panificação como umectante, nos cosméticos como fixador nos produtos de higiene pessoal e como plastificante não tóxico em formulações gel e excipiente em óleos essenciais (MENDIETA-TABOADA et al., 2008).

Figura 16: Estrutura química do Propilenoglicol - PG



Fonte: CAMELO (2010)

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

5.1.1 Equipamentos

- Agitador magnético 78HW-1 BIOMIXER Constant Temperature Magnetic Stirrer;
- Balança analítica da marca Celtac, modelo FA-2104N (TDS Instrumental Tecnológico Ltda);
- Centrifugadora de marca MARCONI modelo CENTRIBIO 4.000 rpm;
- Colorímetro da marca HUNTER ASSOCIATES LABORATORY, INC. RESTON, VIRGINIA – USA. Modelo *ColorQUEST II*. Software *Master Color Data* (CIELAB 10°/D65);
- Espectrofotômetro de Infravermelho da marca *PerkinElmer FT-IR Spectrometer Frontier*;
- Estufa de secagem e esterilização da marca TECNAL modelo TE-393/I;
- Estufa de secagem para secagens dos filmes da marca De Leo Equip. para Laboratórios;
- Fotômetro de absorção em chama da marca CORNING 400 Flame Photometer;
- Freezer Eletrolux Super FE 22;
- Lavadora Ultra-sônica da marca UNIQUE modelo Ultra Sonic Cleaner 1400;
- Liquidificador da marca FAET modelo Astro Predileto (1 velocidade);
- Liquidificador/triturador de baixa rotação da marca CEMAF 2L;
- Micrômetro NSK 0-25 mm com precisão de 0,01 mm, Japão;
- Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV da marca JEOL JSM-6610, equipado com EDS, THERMO SCIENTIFIC NSS SPECTRAL IMAGING, utilizando um sistema de deposição de filmes de ouro DENTON VACUUM DESK V equipado com acessório de carbono;
- Peneira para análise granulométrica (Tamis) da marca BERTEL Indústria Metalúrgica Ltda, com abertura em 250 μm (ABNT/ASTM 60);
- Texturômetro da marca *Texture Analyzer TA-Xt Plus, Surrey, Inglaterra*, acoplado a um computador com software *Texture Exponent Lite Version 4.0*.

5.1.2 Materiais

- Exudato do Angico Vermelho;
- Polissacarídeo extraído da resina do Angico Vermelho (Pegico);
- Álcool Etílico Absoluto 99,5° INPM da marca Celeste;
- Quitosana – Ch: (média Massa Molar);
- Polietilenoglicol – PEG: (massa molar média 6.000);
- Poly(Vinyl Alcohol) – PVA: 87-90% hidrolizado (massa molar média 30.000-70.000);
- Solução de Glutaraldeído – GA: (Grade II, 25% em H₂O);

Obs.: Os materiais reagentes (Ch, PEG, PVA, GA) foram todos adquiridos de SIGMA-ALDRICH Brasil Ltda.

- Glicerol (Glicerina P.A.) P.M. 92,09 adquirido do LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda.;
- Propilenoglicol P.A./ACS (Teor > 99,9%) adquirido da NEON Comercial Ltda.

5.2 Métodos

A metodologia de extração dos polissacarídeos do Angico Vermelho, desenvolvimento dos Filmes e suas respectivas caracterizações foram realizadas nos laboratórios: Laboratório de Enzimologia e Materiais Bioativos (LENZIBIO – Faculdade de Farmácia – UFG), Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (FARMATEC – Faculdade de Farmácia – UFG), Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic – Instituto de Física – UFG), Laboratórios de Química Analítica e de Físico-Química – Instituto de Química – UFG, Laboratório Multiusuário de Análises de Textura, Reologia e HPLC (LabMulti – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos – UFG) e Laboratório de Química Analítica da UEG/UnUCET – Anápolis/GO).

5.2.1 Coleta do Material

5.2.1.1 Amostras para identificação taxonômica do Angico Vermelho

Foram coletadas dez amostras de espécimes de Angico Vermelho, no mesmo período das coletas dos exudatos, em outubro de 2013 e fevereiro de 2014, com partes estruturais da planta para identificação taxonômica, com folhas completas, flores, frutos tipo vagem com sementes, sementes e caule com espinhos de indivíduos jovens. Foram acondicionadas entre placas de papelão e transportadas em temperatura ambiente até o herbário onde as excicatas foram confeccionadas e depositadas.

5.2.1.2 Coleta do exudato do Angico Vermelho

O exudato do Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*) foi coletado em áreas de Cerrado na região da cidade de Catalão / GO, às margens das rodovias BR-050 (18° 15' S e 47° 59' O) e GO 330 (GPS: 18° 03' S e 47° 59' O), nos meses de outubro de 2013 e fevereiro de 2014. O acondicionamento do material foi feito em recipientes de plástico com tampa, mantidos em temperatura e umidade ambiente.

5.2.2 Purificação dos Polissacarídeos do Angico Vermelho

A goma-resina do Angico foi processada no Laboratório de Enzimologia e Desenvolvimento de Materiais Bioativos (LENZIBIO) na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG), segundo a metodologia descrita por SILVA et al. (2013). O procedimento iniciou-se com a trituração da resina até obter pó fino, utilizando **tritador** e liquidificador. A extração do polissacarídeo ocorreu em cinco fases: 1ª. Extração do material em água destilada na concentração de 20% (p/v), mantido 24 horas sob agitação à temperatura ambiente; 2ª. Filtração do material em filtro sintético de Tecido não tecido (TNT); 3ª. Precipitação do polissacarídeo em álcool etílico absoluto (99,5° GL) resfriado, misturando álcool e o material precipitado numa proporção de 3:1, permanecendo no freezer por 24 horas; 4ª. Separação e lavagem do material precipitado com álcool etílico absoluto (99,5° GL), centrifugando-se por 15 min a 4.000 rpm. Esta etapa foi repetida por 3 a 4 vezes até obter-se um álcool numa tonalidade límpida. 5ª. Secagem do material em dessecador a vácuo com sílica até obter peso constante. Finalizadas todas as etapas, obteve-se a purificação parcial dos polissacarídeos do Angico Vermelho (Pegico) em forma de pó, o qual ainda foi triturado em gral de porcelana com pistilo e depois peneirado em tamis com malha de 250

mm/ μ m. Foram verificadas as massas finais de cada purificação e estabelecido o rendimento aplicando-se a equação (1) (SILVA et al., 2013).

$$\text{Fórmula do rendimento: } \rho = (\mu_p / \mu_b) \cdot 100 \quad \text{equação (1)}$$

Onde: μ_p = massa purificada (pegico)

μ_b = massa bruta (goma filtrada)

5.2.3 Caracterização Química, Física, Físico-Química do Pegico

5.2.3.1 Análise química dos teores de sódio (Na^+) e potássio (K^+)

A análise dos teores de Na^+ e K^+ foi realizada no Instituto de Química da UFG (Campus Samambaia), utilizando-se um Espectrofotômetro por absorção atômica em chama (CORNING 400 Flame Photometer) para verificar os teores de íons metálicos. Foram construídas as curvas de calibração para o Na^+ a partir do NaCl ($58,44 \text{ g.mol}^{-1}$) e K^+ a partir de KCl ($74,55 \text{ mol.g}^{-1}$) nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5 mg.L^{-1} em balões volumétricos de 100 mL. A calibração do fotômetro foi ajustada por nebulizações de água *Milli-Q* de modo a acusar zero de leitura e o de maior concentração do padrão secundário até atingir valores constantes, sempre em triplicata para todas as concentrações. Foram então, feitas as leituras das soluções de análise contendo o Pegico, registrando-se os valores em triplicada.

5.2.3.2 Análise Física do Pegico

O Pegico foi analisado fisicamente por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com três resoluções de ampliação da imagem, no LabMic – UFG. Feito tratamento inicial da amostra com fixação em suporte metálico com fitas de carbono (C) e recobrimento de ouro em câmara de vácuo (Denton Vacuum), segundo Dedavid *et al.* (2007). Logo após, as amostras foram colocadas no interior da câmara do aparelho (*JEOL JSM-6610*), gerando imagem para o computador acoplado, visualizando nas resoluções de ampliação de 250, 500, 1.500 e 3.000 vezes.

5.2.3.3 Análise Físico-química do Pegico

Os polissacarídeos extraídos do exudato do Angico Vermelho, após a sua purificação parcial, foram caracterizados por meio de Espectroscopia no Infravermelho com

Refletância Difusa por Transformada de Fourier – DRIFT, por método de pastilhamento com KBr (Brometo de potássio), seguindo a metodologia utilizada por Pascoal et al. (2013), no qual foi misturado ao KBr uma quantidade de 200 – 300 mg de Pegico (pó) e triturado em cadinho de ágata até obter-se uma mistura homogênea e pastilhas de boa transparência, com medidas normalmente de 0,3 mm de espessura e 13 mm de diâmetro. A mistura foi colocada em molde com orifício e pistão sendo levado a uma prensa hidráulica e imposta uma pressão de aproximadamente 6.000 – 8.000 Kgf, produzindo as pastilhas, as quais foram colocadas no espectroscópio.

A Difração de Raios X de 40kV e 100mA com varredura goniométrica variando de 10° a 80°, onde o Pegico (pó) foi colocado numa placa que fixada no aparelho. Os testes foram realizados no Laboratório de Química Analítica e de Físico-Química – Instituto de Química – UFG.

5.2.4 Análise Biológica

5.2.4.1 Citotoxicidade do Pegico

As análises de citotoxicidade foram realizadas de acordo com a OECD 432 e com modificações realizadas por Cunha et al. (2013), em que as amostras do polissacarídeo do Angico Vermelho (Pegico) foram analisadas nas concentrações [0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% (p/v)] utilizadas na elaboração dos filmes, avaliando *in vitro* o efeito citotóxico na busca de um perfil de segurança para a sua aplicação *in vivo*. Os ensaios foram realizados em cultura de fibroblastos, linhagem 3T3, derivada do tecido epitelial de ratos Balb/c avaliando a citotoxicidade do composto pelo teste de incorporação do vermelho neutro (2-amino-3-metil-7dimetil-amino-cloreto de fenazina), verificando assim a viabilidade celular em contato com o corante contendo o Pegico. A cultura celular foi mantida em estufa com ambiente controlado (5% de CO₂, pH 7,2 a 37 °C), cultivadas em DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium), suplementado com 10% de soro bovino fetal, observado em triplicata durante 48 h, determinando-se o grau de letalidade das células visualizado no espectrofotômetro a 540 nm. As análises estatísticas (ANOVA) e o índice de citotoxicidade (IC₅₀) foram obtidos, com auxílio do programa GraphPad 5.0 software ®, considerando-se diferenças estatística com (p<0,05).

5.3 Desenvolvimento dos Filmes à Base de Pegico

Os filmes poliméricos foram desenvolvidos no Laboratório de Enzimologia e Materiais Bioativos (LENZIBIO), de acordo com metodologia adaptada de NESSEEM; EID; EL-HOUSENY (2011); BATISTA et al. (2013). A elaboração dos filmes ocorreu a partir de uma mistura física de polímeros sintéticos e naturais com ausência e presença do Pegico nas concentrações de 0,5%, 1%, 2%, 3% e 4% para análise das propriedades dos filmes e seleção da concentração ideal, vislumbrando características desejáveis de um material para aplicação tópica na superfície epitelial como veículo de fármacos nele incorporados. A formulação do hidrogel é composta por 6 mL de solução de PVA – Álcool Polivinílico, pH 2,0, nas concentrações de 5% e 10%, 2 g de Quitosana em soluções 2% (v/v) de ácido acético e 2 ml de Pegico, 80 µL de Glutaraldeído (GA), 0,2 g de Polietilenoglicol (PEG), 0,2 g de Glicerol e 0,5 g de Propilenoglicol (PG). Para otimizar a relação volume/massa do filme o procedimento foi modificado multiplicando em quatro vezes a formulação original, assim a suspensão foi vertida em 3 placas de Petri. Após 15 min com agitação magnética para formar a blenda polimérica apresentando homogeneidade do hidrogel, este é vertido em placa de Petri com diâmetro de 8,5 cm e sua massa foi padronizada em 13,2 g. Mantido em ambiente com controle de temperatura (38-40°C) e umidade (50-55%) por 48 horas até evaporação dos solventes, apresentando aspecto de membrana. Após evaporação dos solventes, o filme foi mantido em dessecador a vácuo com solução salina saturada de Cloreto de Sódio (NaCl) mantendo a umidade à temperatura ambiente.

5.3.1 Caracterização Físico-Química, Física e Óptica dos Filmes

5.3.1.1 Análise Físico-Química dos filmes

Os filmes foram caracterizados por meio de Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada – ATR (4000–700 cm^{-1}), utilizando o acessório para ATR acoplado ao aparelho *PerkinElmer FT-IR* sendo colocadas amostras pequenas dos filmes (25 mm^2) sobre o cristal onde os feixes eletromagnéticos incidem atravessando a amostra. Os cuidados de sempre manter limpa a superfície do cristal é fundamental para a leitura correta dos dados. Os testes foram realizados no Laboratório de Química Analítica da UEG/UnUCET – Anápolis/GO).

5.3.1.2 Análise Física dos filmes

Os filmes foram avaliados macroscopicamente observando a sua uniformidade de superfície, presença de bolhas de ar, transparência, flexibilidade, orifícios ou perda de continuidade e defeitos na estrutura física, como também à sensibilidade tátil de textura, de acordo com Cavalcante et al. (2002).

A suspensão dos hidrogéis foi padronizada, vertendo em cada placa de Petri, 13,2 g, sendo depois de secos, pesados em triplicatas.

5.3.1.3 Mensuração da espessura

Nos processos de produção de filmes seguindo o método *casting*, o processo de secagem ocorre por evaporação dos solventes da suspensão vertida em superfície plana, porém há dificuldades no controle da distribuição harmônica da solução filmogênica, tendo muitas variáveis como nivelamento, formação de bolhas de ar e grumos, dispersão irregular, variações de temperatura e umidade, afetando diretamente na qualidade da espessura dos filmes (SOBRAL, 2000).

A espessura dos filmes foi avaliada utilizando um micrômetro de precisão 0,01 mm, com ponteiros de diâmetro 6,5 mm, sendo as medidas tomadas aleatoriamente em dez pontos na área do filme com verificação em triplicata.

5.3.1.4 Conteúdo de Água nos Filmes

A metodologia para a determinação do conteúdo de água presente nos filmes foi realizada com todas as variáveis de concentração PVA/Pegico, em triplicatas. As amostras dos filmes foram imersas em água destilada (50 mL) em placas de Petri e mantidas 24 horas. Após remover o excesso de água dos filmes através de papéis de filtro foi verificado suas massas iniciais (M_i) em balança analítica e foram colocadas para secarem à temperatura ambiente até obtenção de peso constante. Em seguida foram colocadas em estufa de esterilização a 60 °C durante 6 horas, sendo verificada a massa final (M_f). O cálculo da porcentagem de conteúdo de água seguiu a seguinte equação (2), conforme Young et al., (2004).

$$\text{Conteúdo de água (\%)} = [(M_i - M_f) / M_i] \times 100 \quad \text{equação (2)}$$

Onde: (M_i) é a massa dos filmes intumescidos e (M_f) é a massa dos filmes secos.

5.3.1.5 Solubilidade

A solubilidade dos filmes foi determinada com amostras das variáveis PVA/Pegico, em triplicata, com formato de discos de 20 mm de diâmetro mantidos em estufa de secagem e esterilização a (105 °C) por 24 horas. Em seguida, foi verificada a massa seca inicial (Mi). As amostras foram então imersas em 50 mL de água destilada, mantendo agitação lenta por 24 horas e logo após foram colocadas na estufa de secagem e esterilização a (105 °C), por 24 horas, sendo verificada a massa seca final (Mf). O cálculo para determinar a porcentagem de solubilidade expressa pela equação (3), de acordo com GONTARD; GUILBERT; CUQ (1992).

$$\text{Solubilidade} = [(Mi - Mf) / Mi] \times 100 \quad \text{equação (3)}$$

Onde: (Mi) é a massa seca inicial e (Mf) é a massa seca final.

5.3.1.6 Cor e Opacidade dos filmes

A análise das cores e opacidades dos filmes foram realizados no LabMulti (Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos – UFG), utilizando um colorímetro acoplado a um computador com software Master Color Data (CIELAB 10°/D65). Foram utilizados para os testes de cor e opacidade os mesmos filmes, nas placas onde foram retirados os corpos de prova para os testes de tensão/deformação e nos mesmos dias. Previamente o aparelho é calibrado nos padrões de cores CIE L*a*b* aplicando muitas réplicas para compor o máximo de leituras nos mais variados pontos do filme, valendo a média como a determinação matemática das cores dos filmes, além de informações da sua opacidade e variação de cores (ΔE) registradas imediatamente após a exposição das amostras sobre a superfície branca e preta, de acordo com Sobral (2000).

O padrão de cores utilizado pelo colorímetro utilizado nas análises das amostras dos filmes de acordo com o sistema CIELab foi de 10° e o Iluminante D-65. Assim, o branco total é igual a 100 e o preto total igual à zero. As coordenadas a* e b* se aproximam do zero para as cores neutras (branco, cinza) e aumentam a magnitude para as cores mais saturadas. A percepção visual das cores é muito subjetiva e mesmo quando determinado por sistema cartesiano deverá ter certa tolerância nas variações de definição fina das cores (TAKATSUI, 2011).

Para a visualização das cores de cada filme a partir dos dados matemáticos gerados pelo sistema CIE L*a*b* do colorímetro, houve o acesso pela internet do site

<<http://www.easyrgb.com/index.php?X=CALC#Result>>, com as opções de acordo com o sistema utilizado como demonstra a figura abaixo:

5.4 Caracterização Mecânica dos Filmes de hidrogel

As amostras (filmes) foram preparadas por método *casting*, o que representa um procedimento filmogênico onde a dispersão líquida polimérica é espalhada numa superfície limpa e plana para resultar na formação de uma película ou filme após a evaporação dos solventes, no entanto este método não garante a plena homogeneidade do material membranoso devido a uma série de fatores não controlados como irregularidade das placas de Petri, presença de bolhas, grumos e impureza do ambiente, além do rigoroso controle de temperatura e umidade (BIANCHI, 2002; CAVALCANTI et al., 2002).

As propriedades mecânicas dos filmes foram analisadas através de um Texturômetro acoplado a um computador, avaliando resistência à tração (TS), alongação (E) em mm, porcentagem de alongamento (% E) na ruptura e módulo de elasticidade (EM) de acordo com a metodologia utilizada por Batista et al. (2013).

As corridas de avaliação foram padronizadas de acordo com a ASTM D882-10, com célula de carga de 50 kg, velocidade de pré-teste ($0,10 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$), teste ($0,21 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$) e pós-teste ($10 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$), obtendo-se a tração axial longitudinal do filme até a sua ruptura, com os registros da relação Tensão/Deformação pelo software Texture Expert (Stable Micro Systems) com intervalos de 0,02 segundos. O tempo de corrida foi previamente estabelecido com a porcentagem limite de 100%.

Os corpos de prova (CP) foram produzidos em secções lineares, com forma retangular, gerando duas tiras em cada filme. Os ensaios mecânicos de tração foram padronizados segundo metodologia modificada de Sobral (2000), entre as garras da probe do texturômetro, medindo 60 mm de comprimento e 15 mm de largura, portanto 900 mm^2 de área transversal.

De acordo com Silva et al. (2013), os corpos de prova foram rigorosamente inspecionados, adotando-se critério de exclusão aqueles que apresentassem irregularidades estruturais tais como rachaduras, fissuras, bolhas de ar, impureza visível (grumos) e diferenças de espessura superior a 5% nas medidas tomadas. Em razão de sua alta sensibilidade à umidade do ambiente e temperatura, houve a exigência de mantê-los em dessecador com solução salina (NaCl) e temperatura ambiente variando de 25 a 30 °C.

Os valores registrados em tabelas do software Excell® informam a tensão de resistência à tração em Newtons (N), sendo expresso por valores negativos em função do sentido de aplicação da força, porém podem ser considerados em módulo e a deformação sofrida pelos corpos de prova expressa em milímetros (mm) que pode ser convertidos em porcentagem. Os valores de Tensão de tração (σ), foi calculado pela razão entre a carga ou força de tração (F) com unidade (N) e a área da secção transversal inicial do corpo de prova (A_0) com unidade (m^2), expressa em Pascal (Pa), com a seguinte equação (4):

$$\sigma = F / A_0 \quad \text{equação (4)}$$

Elongação do filme ou alongamento específico (ε), cuja unidade é expressa em milímetros, significa quanto o material submetido à carga de tração deformou em relação ao seu tamanho inicial, ou seja, é calculado dividindo o valor obtido na variação do alongamento em milímetros pela dimensão longitudinal inicial, considerando que a força é aplicada uniaxialmente, como mostra a equação (5), onde: $\Delta l = l_f - l_0$

$$\varepsilon = (\Delta l / l_0) \quad \text{equação (5)}$$

Módulo de Elasticidade ou módulo de Young (E) representa a relação entre a tensão de tração exercida no material e a sua deformação elástica na região linear do diagrama tensão/deformação. Em resumo o Módulo de Elasticidade é expresso pela razão da tensão (σ) e a elongação (ε) em mm, de acordo com a equação (6):

$$E = \sigma / \varepsilon \quad E = (F / A_0) / (\Delta l / l_0) \quad \text{equação (6)}$$

Onde: (F) é a força de resistência medida em Newtons (N)

(A_0) é a área da seção do corpo de prova medido em m^2

(Δl) é a variação do comprimento do material medido em metros (m)

(l_0) é o comprimento inicial do material medido em metros (m)

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Coleta do material

O exudato do Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*) foi coletado na região de Catalão / GO, às margens das rodovias BR-050 entre os municípios de Catalão e Cumari e da GO-330 entre os municípios de Catalão e Ipameri, tendo o Sistema de Posicionamento Geográfico (GPS), respectivamente, (18° 15' S e 47° 59' O) e (18° 03' S e 47° 59' O) (Figura 17).

Figura 17: Coleta do exudato do Angico Vermelho (A: Exudato do tronco do Angico; B: Processo de coleta; C, D e F: Exudato coletado)



Fonte: Fotos do próprio autor (Câmera Digital Sony W330, fotografado dia 06/10/2013 às 15:50 h.)

6.2 Purificação Parcial dos Polissacarídeos de Angico Vermelho

Os resultados dos rendimentos ao final da purificação foram calculados com base na massa (g) da porção filtrada (PF) em relação à porção purificada (PP), triturada e peneirada, determinado pela média da triplicata, com valores de 83,38 g (PF) e 10,87 g (PP), totalizando um rendimento de 13,04%.

Oliveira (2005) extraiu e purificou os polissacarídeos do Angico Vermelho, diluindo o exudato em água destilada à temperatura ambiente em solução de 5% (m/v) com modificação química e ajuste de pH para 7,0. A precipitação dos polissacarídeos foi feita em álcool etílico na razão 1:4 (v/v) e carboximetilado com ácido monocloroacético em meio básico de NaOH, obteve rendimento de 7,5%. Silva Filho et al. (2012) analisaram misturas de solventes para melhor precipitação dos polissacarídeos do Angico Vermelho e o melhor resultado obtido foi com proporções iguais de etanol e solução salina com rendimento em média de 54,95 %.

6.3 Teores de sódio (Na^+) e potássio (K^+)

A presença dos íons metálicos, verificada através do Fotômetro de absorção atômica de chama (Figura 18), nas amostras de polissacarídeos (Pegico), pode interagir de forma diferenciada com algumas moléculas, podendo alterar o padrão de eluição, sendo muito importante o controle desses cátions no desenvolvimento de tais materiais (SILVA; RODRIGUES; PAULA, 1998).

Figura 18: Fotômetro de absorção atômica de chama



Fonte: Elaboração do autor (Câmera Digital Sony W330, foto dia 17/mar/2014 às 15:30 h.

Após as calibrações das concentrações de NaCl e KCl, (Figura 19), obteve-se com a equação da reta é: $y = 1,00 + 17,5x$, para o Na^+ . Para a calibração de K^+ , a equação da reta é: $y = -1,36667 + 36,33333x$. A reta determinou os seguintes valores dos teores de sódio Na^+ ($0,979\% \pm 0,130$) e potássio K^+ ($0,155\% \pm 0,015$) nas amostras analisadas (figura 20).

Figura 19: Gráfico de curvas de calibração para os testes de teores de Na^+ e K^+

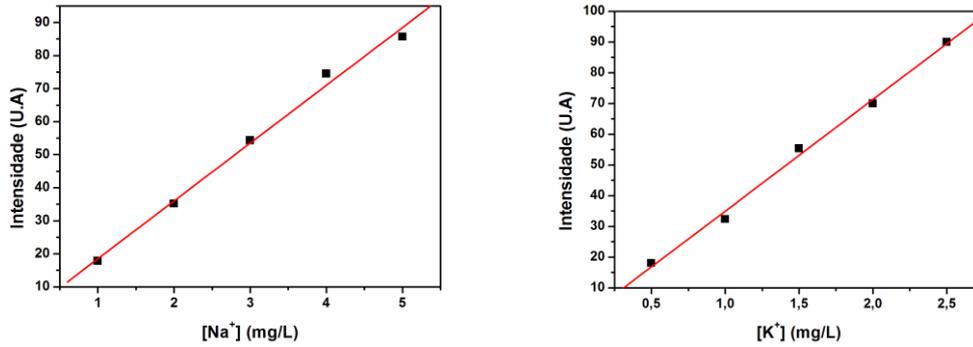
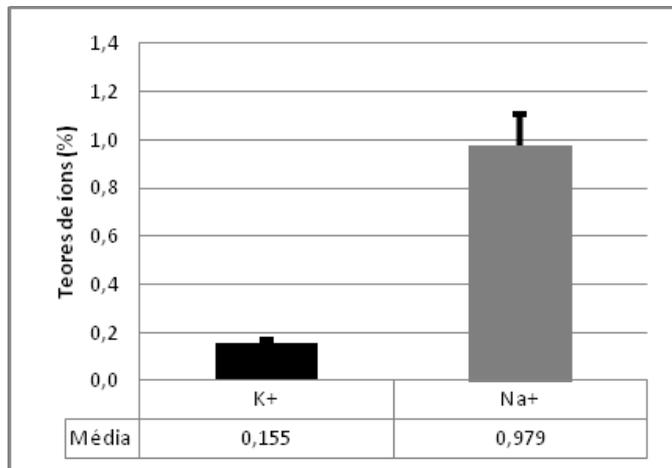
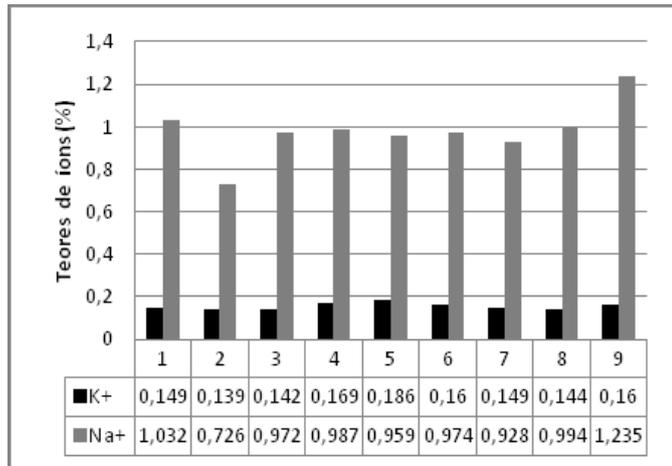


Figura 20: Teores de íons metálicos Na^+ e K^+ do Pegico



Segundo Silva, Rodrigues e Paula (1998), o resultado dos teores dos íons (Na^+) e (K^+), comparados com os obtidos neste trabalho, apresentaram o (Na^+) com valor inferior aproximado de 0,5% e o (K^+) com valor semelhante aproximado de 0,2%.

6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

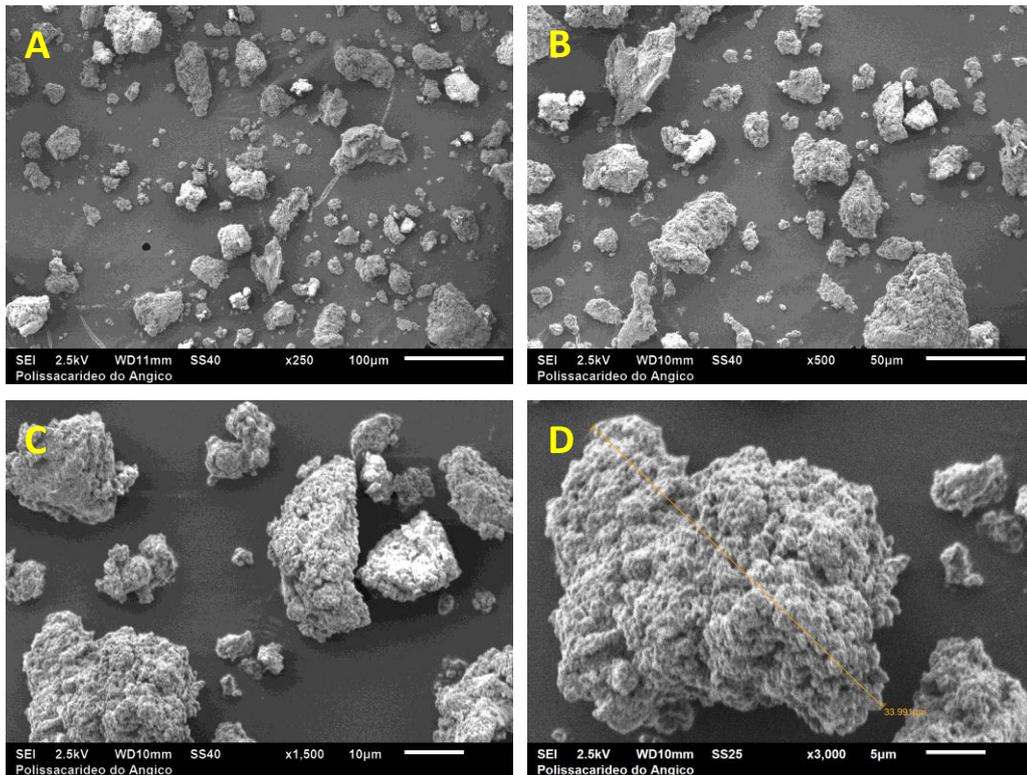
A Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV, consiste de uma técnica de análise estrutural de compostos e substâncias através de feixes de elétrons que varre a superfície da amostra gerando elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios X característicos. Estes sinais são detectados e geram imagens em uma tela de tubo de raio catódico sendo transmitido para o monitor de um computador, assim visualizado a morfologia estrutural e superficial da amostra (BRANT, 2008).

De acordo com Pawley (1997), o sistema de escaneamento por microscopia eletrônica é altamente versátil para análise de compostos sólidos fornecendo rapidamente imagem da morfologia e dimensões das amostras, dando uma aparência tridimensional pela grande profundidade de campo e foco.

A microfotografia por Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV, representa um avanço tecnológico nas caracterizações de materiais revelando aspecto estrutural importante para as finalidades de aplicação.

Os resultados da purificação parcial da goma do Angico, os polissacarídeos apresentaram em forma de pó fino, macroscopicamente homogêneo, com coloração marrom e tonalidade clara. As imagens do MEV do Pegico possuem características não amiloide com os fragmentos secos e triturados, assemelhando à sólidos com textura e contornos heterogêneos em toda a superfície, apresentando irregularidade quanto ao tamanho das partículas e a sua forma. As imagens fotomicroscópicas no MEV (Figura 21), revelaram uma estrutura dos polissacarídeos com aspecto heterogêneo e forma irregular, tanto nas dimensões dos fragmentos como na forma de cada um, tendo a maior delas diâmetro de 33 μm .

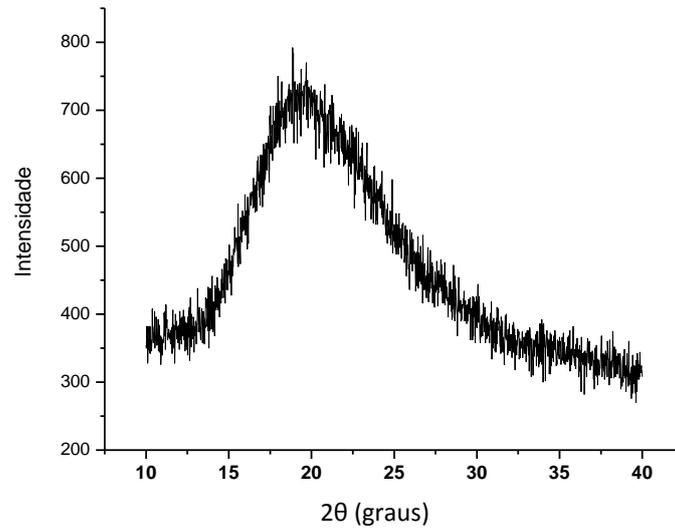
Figura 21: Microfotografias do Pegico (Ampliação: A=250x, B=500x, C=1500x e D=3000x)



Gomes (2008), desenvolveu filmes de amido/PVA/Quitossana com imagens do amido com aparência de grânulos elípticos variando de 19 – 40 μm .

6.5 Difração de Raio - X

Os resultados da Difração de Raio-X nas amostras de Pegico através do difratograma (Figura 22), revelaram sinais característicos de uma estrutura amorfa, sem identificação de estrutura cristalina apresentando um traçado largo, sem picos de intensidade ou alterações bruscas em todos os ângulos varridos pelo goniômetro com variação de 2θ . Em difração de outros polissacarídeos como o amido, apresenta traçado característico de padrão de empacotamento cristalino de hélices duplas, com presença de vibrações de intensidade irregular de acordo com Jayakody (2001).

Figura 22: Difratoograma do DRX do Pegico

Faria; Vercelheze; Mali (2012) analisando o amido da mandioca, revelou espectro característico de substância cristalina com picos agudos no traçado. Gomes (2008), caracterizou amido de algumas raízes comestíveis e os testes de DRX revelaram uma estrutura cristalina, com pico fortes. Kacuráková et al. (2000) também confirmou a característica não cristalina de polissacarídeos de plantas contendo arabinogalactanas (principal componente do Pegico) e hemiceluloses.

6.6 Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica de caracterização é amplamente utilizada na investigação do arranjo estrutural de substâncias sólidas e secas, identificando os grupos químicos funcionais presentes na amostra analisada, baseando-se na animação das ligações químicas que absorvem a luz infravermelha num comprimento de onda na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} (2500 a 25000 nm), em frequências típicas dos tipos de ligações químicas, representando num espectro uma impressão digital da composição da amostra, revelando sua principal estrutura química (TORRES, 2003; MANSUR, 2008; GULREZ; AL-ASSAF; PHILLIPS, 2011).

A caracterização de materiais pelo método de espectroscopia na região infravermelho médio é validada e atualmente fundamental para qualquer área da ciência de materiais, pois revela a presença de grupos moleculares componentes das amostras e de

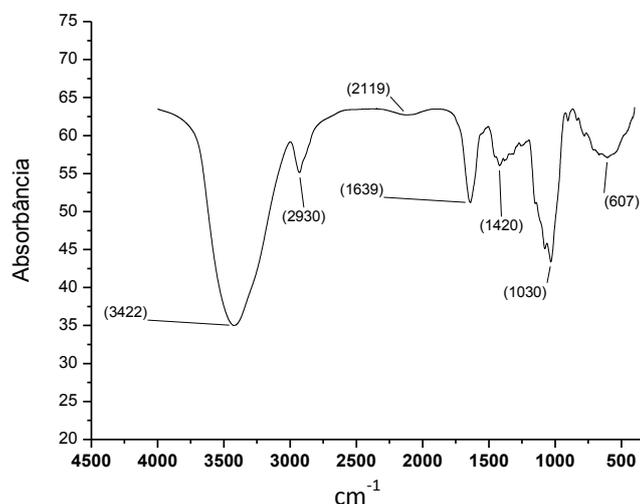
acordo com o comportamento vibracional das moléculas no seu estado excitado devido à especificidade das bandas de absorbância nessa faixa espectral (HUMMEL, 2002).

A variação do momento de dipolo elétrico das moléculas componentes de um material pela sua movimentação vibracional ou rotacional é a condição de ocorrer a absorção da radiação infravermelha interagindo com os átomos dentro das moléculas, sendo identificados de acordo com o compatibilidade eletromagnética correspondente à onda do infravermelho ($100 - 10000 \text{ cm}^{-1}$). Todo o espectro é obtido de uma só vez possibilitando aumentar o número de varreduras melhorando a captação do sinal/ruído gerado pelas vibrações moleculares, considerando que diferentes grupos funcionais absorvem diferentes frequências da radiação infravermelha. Usualmente o KBr (Brometo de Potássio) é utilizado para formar pastilhas com a amostra em pó, como ele não absorve radiação infravermelha deixa os registros exclusivos da estrutura da amostra (FERREIRA, 2008).

A padronização do método de acordo com a ASTM E 1252 descreve o procedimento para análise qualitativa de materiais orgânicos e inorgânicos com o uso de espectroscopia no infravermelho para amostras de polímeros, filmes, líquidos e pó (HAACK, 2010).

Nesse trabalho foi realizada a análise do polissacarídeo do Angico Vermelho (Pegico) e dos filmes desenvolvidos à base de PVA/Quitosana e Pegico. Os espectros de infravermelho foram registrados no aparelho Espectrofotômetro de Infravermelho FTIR ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) da marca *PerkinElmer, modelo Spectrum 400*, com resolução espectral fixa de 4 cm^{-1} e uma velocidade de varredura do espelho fixa de $0,2 \text{ cm} / \text{s}$. O procedimento para o Pegico seguiu a metodologia de pastilhamento de KBr .

Figura 23: Espectro no Infravermelho por transformada de Fourier do Pegico



O espectro correspondente às bandas do espectro no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do Pegico (Figura 23) foi analisado de acordo com Silverstein; Webster (2000) e Lopes; Fascio (2004).

3.422 cm^{-1} – Apresenta um ombro largo na região espectral (3.700 a 3.100 cm^{-1}) com vibração OH ($\nu\text{O-H}$) de alcoóis e fenóis com ligação de hidrogênio e moléculas de água ou ao estiramento de NH de lactamas ($\nu\text{N-H}$);

2.930 cm^{-1} – Estiramento de compostos saturados C-H ($\nu\text{C-H}$) de metileno, alifáticos saturados (3000-2800 cm^{-1});

2.119 cm^{-1} – Estiramento assimétrico do grupo $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ (2273 cm^{-1});

1.639 cm^{-1} – Estiramento do grupo (C=C) amidas primárias. Carboxilatos e aromáticos (1650-1450 cm^{-1});

1.420 cm^{-1} – COO – Estiramento simétrico do grupo $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ (1460-1340 cm^{-1});

1.030 cm^{-1} – Vibrações de anéis de polissacarídeos com C-O-C, C-O, C-O-P e P-O-P;

607 cm^{-1} – região de janela espectral de *fingerprint* (proteínas, lipídeos e carboidratos) Deformação angular de O-C-O (633 cm^{-1}).

Silva Filho et al. (2012) analisou o espectro no infravermelho dos polissacarídeos do Angico Vermelho identificando bandas e estiramentos semelhantes com presença das mesmas vibrações dos grupos funcionais descritos. Kacuráková et al. (2000) também confirmou a identificação na banda (1.030 cm^{-1}), estiramento C-O-C atribuída a polissacarídeos com ligações glicosídicas, característica de arabinogalactanas (principal componente do Pegico).

6.7 Citotoxicidade

Os testes *in vitro* são métodos alternativos para determinação de citotoxicidade de materiais e/ou substâncias sem a necessidade de utilização de cobaias animais, tendo validação pela fidedignidade dos resultados, atualmente utilizados como primeira linha na avaliação da biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos e posterior verificação de citotoxicidade de biopolímeros *in vivo* (ROGERO et al., 2003).

Ainda de acordo com Rogero et al. (2003), os estudos com culturas de células de vários tecidos de origem humana ou animal proporcionam análises de forma rápida, reprodutível e sensível. O método de incorporação do vermelho neutro (NRU), um corante

vital, fornece parâmetro avaliador de toxicidade pela viabilidade celular frente ao contato com a substância analisada padronizadas com Índice de Citotoxicidade (IC_{50}), o que significa potencial toxicológico para provocar a lise lisossomal ou morte celular em 50% da população da cultura celular com a consequente inibição de incorporação do corante.

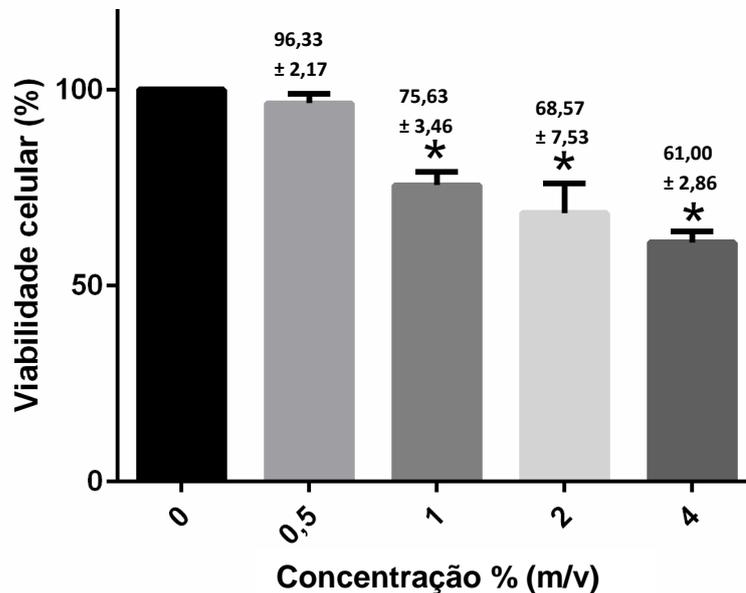
O princípio do ensaio é baseado na capacidade do corante que é catiônico ser absorvido e se ligar à membrana do lisossoma, não sendo retido nas células que sofreram danos pela exposição química ao produto testado, verificando a relação dose/resposta utilizando um espectrofotômetro (SVENDSEN et al., 2004).

As plantas produzem uma grande diversidade de substâncias químicas destinadas à sua defesa frente a micro-organismos como vírus, bactérias e fungos invasores, ataques de insetos e herbívoros incluindo também proteção contra oxidação e irradiação UV através de metabólitos secundários como o catecol, flavonoides, terpenoides e lignina. Estas substâncias são essenciais para a sua sobrevivência interferindo no seu metabolismo primário nas interações ecológicas entre a planta e o ambiente, estando também relacionados com efeitos sobre outras plantas (alelopatia) e atração de polinizadores ou dispersantes de sementes, porém quando em contato poderão induzir reações alérgicas e inflamatórias pelos agentes químicos presentes variando de acordo com a concentração e potencial tóxico como também da reatividade individual (CUNHA et al., 2013; FÜRSTENBERG-HÄGG et al., 2013).

Os polissacarídeos do Angico já são amplamente utilizados em sistemas de tratamento como produto fitoterápico com indicações para ulcerações de pele e mucosa gastrointestinais, queimaduras, anti-inflamatória, antibiótica, expectorante e analgésica, já aceita pela prática popular, como o medicamento Sanativo®, comprovado de acordo com ARRUDA (2008).

Os ensaios de citotoxicidade deste trabalho foram realizados pelo método de incorporação do vermelho neutro em células da linhagem 3T3, obtendo o resultado (Figura 24) da viabilidade celular quando em contato com as concentrações do Pegico utilizadas na formulação dos filmes, comparadas com o grupo de células controle negativo (100%) após a exposição de 48 h ao extrato de Pegico nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0% (m/v).

Figura 24: Viabilidade celular após a exposição por 48 horas a diferentes concentrações do extrato de Pegico.
*Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$)



Considerou-se a porcentagem de viabilidade não comprometida pela substância analisada de 80%, o que determina a não citotoxicidade, sendo o seu uso definido como perfil de segurança para uso em seres vivos, inclusive em humanos. A concentração de Pegico de 0,5% obteve perfil médio de 96,33% de viabilidade celular. A concentração de 1,0% apresentou média de 75,63% de viabilidade, o que também poderá ser considerado não citotóxico limítrofe com limite de segurança. A concentração de 2,0% (68,57%) e de 4% (61,00%), sendo estes valores determinantes citotóxico, de acordo com a metodologia utilizada *in vitro*, não sendo recomendado o uso de tal substância para fins de aplicação em seres vivos. A concentração de 3% utilizada na formulação do filme, a citotoxicidade está implícita no intervalo de 2 – 4%, portanto considerada restrita pelo comprometimento da viabilidade celular. Aplicado teste estatístico ANOVA ($p < 0,05$) para o valor de intervalo de confiança ($IC_{50} = 5,97\%$).

Sobrinho (2010) investigou a citotoxicidade dos metabólicos secundários presentes no extrato da casca do Angico pelo método da absorção do sal tetrazólio de metiltiazol – MTT, nas mitocôndrias celulares e concluiu um perfil de ausência de citotoxicidade com boa viabilidade quando em contato com taninos e flavonoides, as principais substâncias bioativas.

Na revisão sistemática de Weber et al. (2011) sobre o potencial terapêutico do Angico revelou um crescente número de investigações para esclarecer o perfil fitoquímico e farmacológico da planta, porém ainda mais explorada do ponto de vista etnobotânico.

Atividades biológicas através de bioensaios *in vitro* e *in vivo* foram publicados com ênfase nas folhas e casca do caule, inclusive com resultados de perfil de toxicidade de galhos e das folhas do Angico Vermelho, especialmente quando jovens em brotos do que maduras, apresentando toxicidade neuromuscular em coelhos (Brito et al., 2000; Tokarnia et al., 1999).

Segundo Moretão et al. (2003) e Moretão et al. (2004), investigando atividade fagocitária pela exposição *in vitro* do ARAGAL (Arabinogalactamas), observando aumento da atividade sugerindo ter potencial mediador imunológico. Moretão et al. (2006) e Brandão et al. (2008) estudaram o uso da resina-goma do Angico Vermelho para tratamento da Bronquite.

6.8 Caracterização Físico-Química, Física e Óptica dos Filmes

Hoffman (1995) denominou “Polímeros Inteligentes” hidrogéis reticulados que são muito sensíveis, apresentando grande alteração física e química como resposta a um pequeno estímulo físico ou químico e a alterações do ambiente.

Os filmes elaborados no presente trabalho mostraram-se extremamente sensível às alterações do ambiente, portanto sendo necessário padronizar todas as etapas e processamento para não comprometer a qualidade dos materiais e comprometer as leituras das propriedades.

O processo experimental de desenvolvimento dos hidrogéis na forma de filmes foi realizado pelo método *casting*, sendo difícil o controle absoluto sobre a qualidade do material, dependendo fortemente de alterações do ambiente como temperatura e umidade além do nivelamento do suporte das placas de Petri. Por essa razão foi utilizado o equipamento (Estufa de secagem e esterilização da marca TECNAL modelo TE-393/I com solução salina saturada) e após a secagem foi armazenado em dessecador com solução salina saturada. De acordo com Bianchi (2002), as alterações do ambiente influenciam na qualidade do material polimérico elaborado por este método, devendo ser observado a temperatura, taxa de aquecimento, concentração da solução e o solvente utilizado.

6.8.1 Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada

A técnica de análise espectroscópica no infravermelho por ATR é indicada para materiais com características gel, líquida ou filmes hidratados onde não é possível produzir pastilhas de KBr. Consiste em captar o reflexo dos feixes de infravermelho produzido pelo material (menos denso) com a luz ultrapassando, sendo emitida através do cristal (mais denso) sobre o qual é colocada a amostra, representando um método fácil e rápido do processo de ensaios e análise dos espectros. Quando a estrutura química da amostra absorve a onda evanescente há uma atenuação do feixe gerando o espectro dos comprimentos de ondas correspondentes às bandas de absorção no infravermelho (CORREA, 2012).

Os filmes desenvolvidos à base de PVA/Quitosana e Pegico foram caracterizados na Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada – ATR (4000-700 cm^{-1}), utilizando o acessório para ATR acoplado ao aparelho *PerkinElmer FT-IR*.

Figura 25: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 5% sem Pegico)

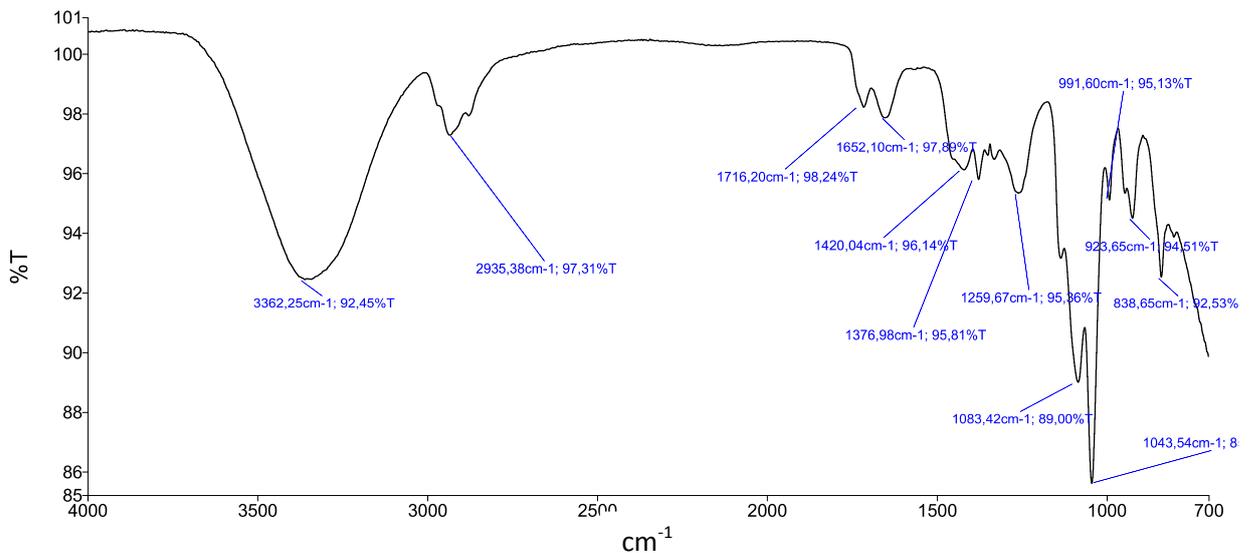


Figura 26: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 10% sem Pegico)

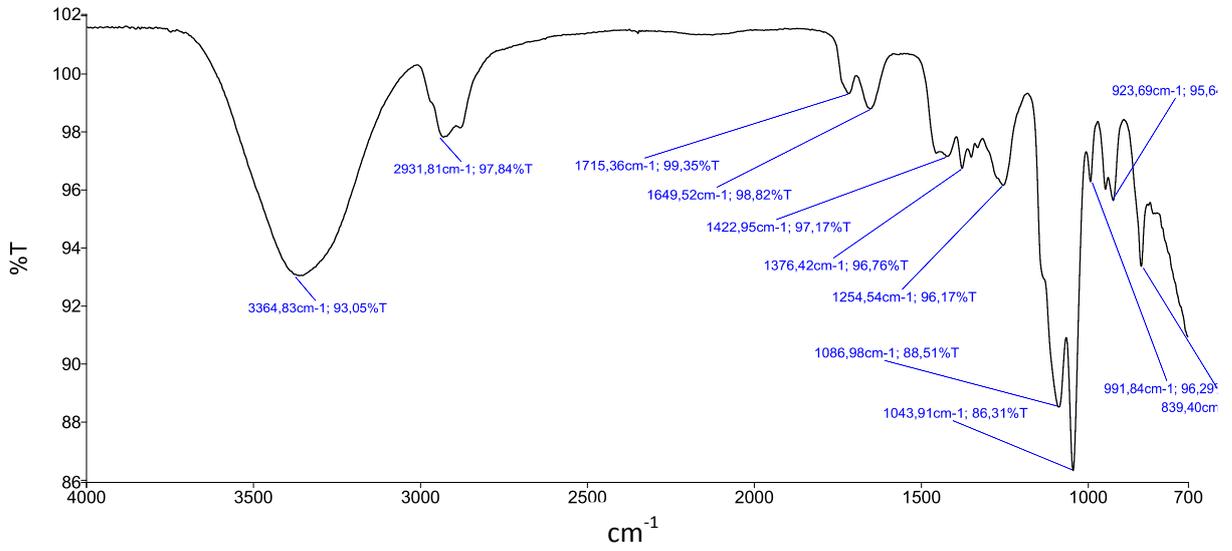


Figura 27: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 5% com Pegico 2%)

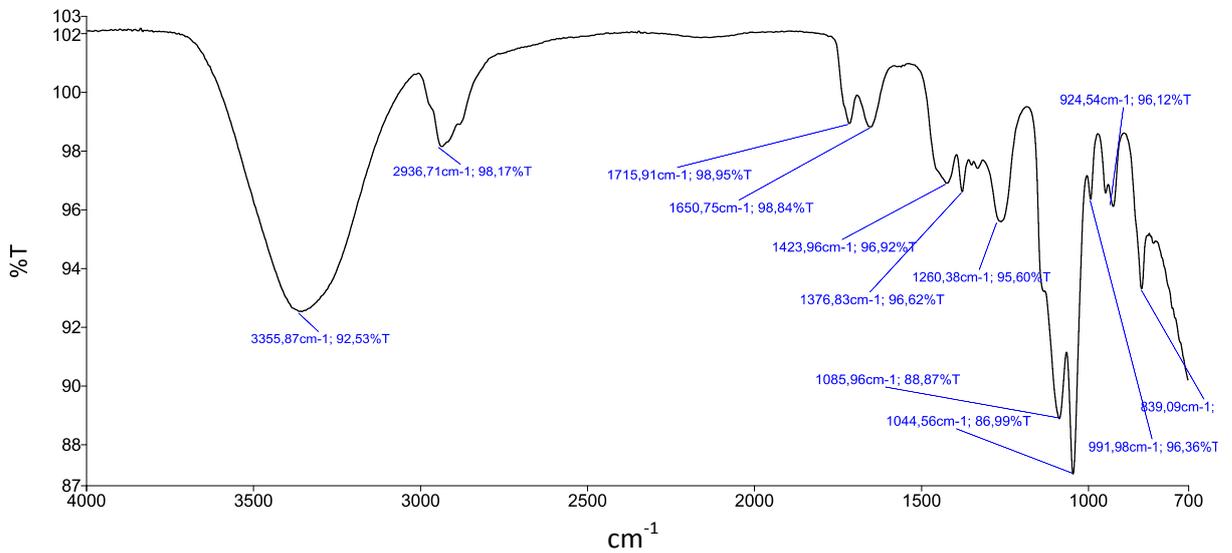
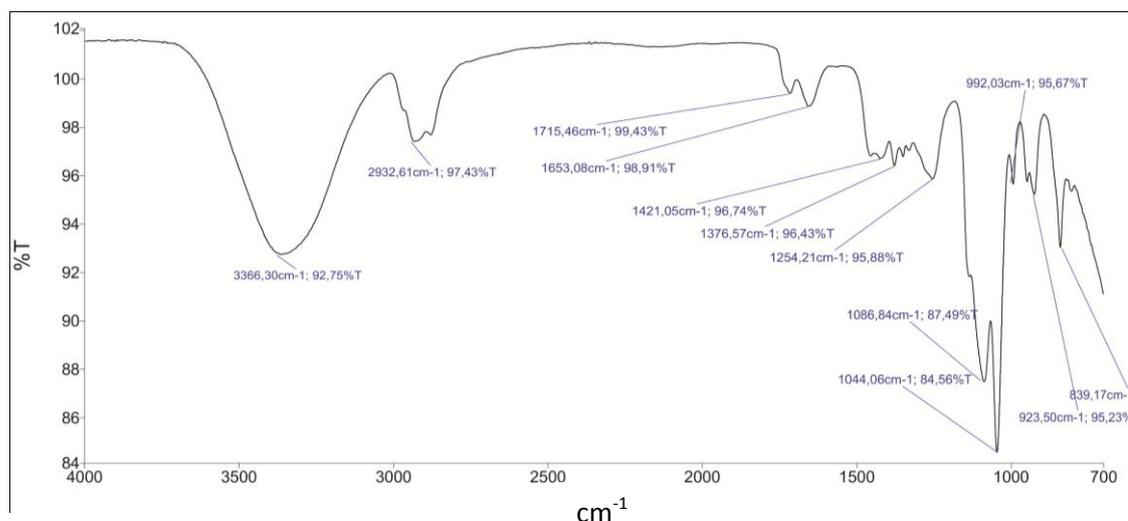


Figura 28: Espectroscopia no Infravermelho por Refletância Total Atenuada (PVA 10% com Pegico 2%)

Os espectros no Infravermelho por transformada de Fourier dos filmes poliméricos de PVA/quitosana com presença e ausência do Pegico e variações de concentração do PVA revelaram as bandas de vibrações e estiramentos, caracterizando os grupos funcionais presentes nas amostras (Figuras 25, 26, 27 e 28), a seguir:

3366 cm^{-1} : Estiramento da ligação O-H de água, quitosana e PVA e estiramento N-H da quitosana;

2932 cm^{-1} : As bandas nesta região podem ser atribuídas ao estiramento simétrico e assimétrico de C-H da quitosana e PVA;

1715 cm^{-1} : Estiramento C=O da reticulação características entre (1700-1732 cm^{-1}) relacionadas aos grupos aldeídicos livres, os quais reagiram com o polímero, sendo esta banda também atribuída ao grupo carbonila da quitosana;

1653 cm^{-1} : Deformação angular N-H e deformação do grupamento -OH das moléculas de água adsorvidas no material, atribuído a ligação imina N=C, banda da amida I – ν -estiramento da carbonila identificando a quitosana. Esta faixa é confirmatória das reações de reticulação do PVA/Quitosana pelo Glutaraldeído que ocorre pela perda da molécula de água pelo deslocamento da oxigênio do aldeído, base de Schiff.

1421 cm^{-1} : Deformação angular do grupamento (CH)-CH₂ do PVA e Quitosana;

1376 cm^{-1} : Deformação angular do grupo (CH)-R-CH₃ do PVA;

1321 cm^{-1} : Estiramento C-N, de amina primária da quitosana;

1254 cm^{-1} : Estiramento C-N, de amina secundária da quitosana e estiramento =CO-C do PVA e deformação do OH devido à mistura dos polímeros;

1086 cm^{-1} : Estiramento (C-O)-C-OH do PVA e PEG (estiramento C-C, onde o 1° carbono tem ligado um oxigênio e no 2° tem ligado um -OH), associado ao PVA;

1044 cm^{-1} : Estiramento C-O e C-C da quitosana, PVA e vibrações de anéis de polissacarídeos com ligações glicosídicas;

992 cm^{-1} : Deformação angular no plano C-OH do PVA;

923 cm^{-1} : Deformação angular (CH)-CH₂ do PVA;

839 cm^{-1} : Estiramento da ligação C-C do PVA.

Baseado em Silverstein; Webster (2000) e Costa-Júnior; Mansur (2008) observa-se que os espectros dos filmes revelam uma alta similaridade baseado nas bandas e vibrações que identificam os grupos funcionais presentes nas amostras, fica claro que não há diferença significativa com presença ou ausência de bandas extras e vibrações atenuadas ou intensificadas. Todos os espectros se assemelham nas suas características químicas. Quando comparadas as amostras dos filmes (A e B), (A e E), (A e E10), (B e E), (B e E10) e (E e E10) se observa uma alta semelhança o que demonstra que a introdução do Pegico não alterou os grupos funcionais presentes no material polimérico, o que pode estar relacionado a duas possibilidades, de acordo com Silverstein; Webster (2000). 1) O Pegico apresentou bandas de absorção nas mesmas regiões dos polissacarídeos componentes do filme (PVA/Quitosana), havendo sobreposição das bandas e conseqüentemente os espectros não apresentam discrepância. 2) O Pegico pode ter interagido com os polissacarídeos presentes através de ligações de hidrogênio e assim os espectros mantiveram a regularidade.

Gomes (2008) analisou espectros no infravermelho das blendas Amido/PVA/Quitosana com bandas e vibrações semelhantes à elaborada neste trabalho tendo a identificação dos grupos que compõem o PVA e a quitosana, correspondentes às mesmas bandas.

Dias et al. (2011) observaram espectro de filme híbridos de PVA/Quitosana com sílica bioativa com finalidade de produção de tecidos para implantes esqueléticos os quais se assemelham ao espectro do presente trabalho inclusive com estiramento e vibrações coincidentes, identificando os grupos dos componentes em comum.

Costa-Júnior; Mansur (2008) desenvolveram filmes poliméricos de PVA/Quitosana reticulado com Glutaraldeído para fins de obtenção de matriz dérmica variando todos os três componentes, identificando as bandas características dos componentes dentro das mesmas faixas de vibração obtidas no presente trabalho, apresentando como região

de referência à Quitosana o intervalo (1.420 e 1.320 cm^{-1}) pela maior estabilidade independente do grau de desacetilação.

Airoidi; Monteiro Jr. (2000) encontraram espectro em conformidade com os do presente trabalho e define o estiramento vibracional (1.715 cm^{-1}) como sugestivo de plena reticulação pelo Glutaraldeído com a Quitosana pela disponibilidade dos grupos amina da Quitosana e dos grupos carbonila do Glutaraldeído.

6.8.2 Análise Física dos filmes

6.8.2.1 Avaliação qualitativa macroscópica

Os filmes produzidos com padronização em massa da suspensão hidrogel vertida na placa (13,2 g), após a evaporação dos solventes e considerados secos, aptos a serem retirados das placas, apresentaram coloração amarelada, com tom claro, brilhante, transparente, aspecto sensorial liso e flexível.

Costa-Júnior; Mansur (2008) produziu filmes de PVA/Quitosana reticulado com Glutaraldeído com aparência e aspecto físico semelhante aos deste trabalho. Rigo (2006) desenvolveu filmes comestíveis à base de amido e alginato de sódio, adicionando glicerol como plastificante. Os filmes apresentaram aspectos semelhantes aos do presente trabalho, transparentes, flexíveis, permitindo a manipulação leve, sem danificar a estrutura.

Bispo (2009) desenvolveu filmes poliméricos de PVA/quitosana utilizando o Genipin como agente reticulador, obtendo filmes transparentes, com aspecto uniforme, tonalidade amarelada, progredindo para tons mais escuros quanto maior a adição do Genipin.

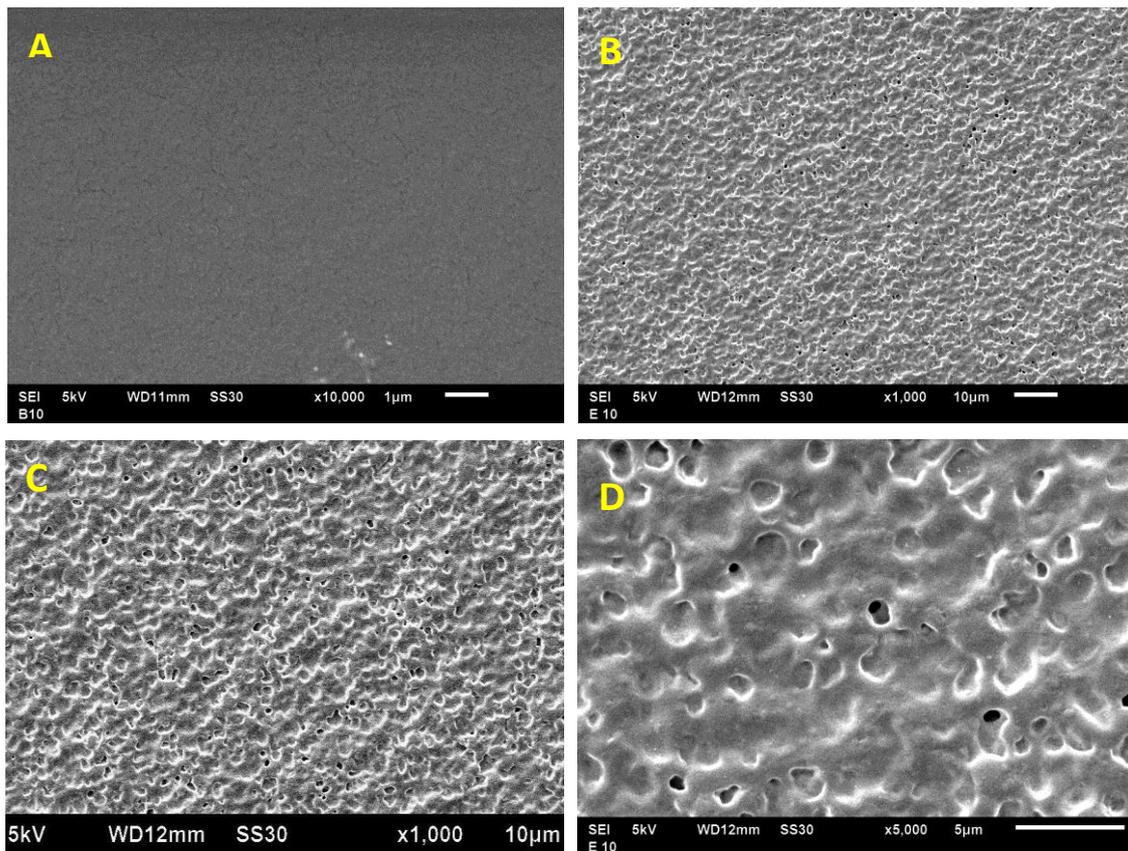
6.8.2.2 Avaliação microscópica (MEV)

As fotomicrografias dos filmes (Figura 29), conforme procedimento descrito anteriormente no corpo do presente trabalho (Metodologia e no item 6.4) representam, de acordo com Nagatani et al. (1987), uma técnica versátil e revela as características do polímero, identificando os aspectos superficiais e microestruturais, gerando imagem tridimensional.

As fotomicrografias da Microscopia Eletrônica de Varredura do filme sem Pegico (A) com ampliação de (10.000 x) revela uma superfície com relevo regular, compacta, sem porosidade. Os filmes com Pegico (B, C e D) revelam uma superfície com aspecto de relevo irregular, microvilosidades em toda a sua área e presença de microporosidade difusa que

permite permeabilidade ao vapor de água e aos gases O_2 e CO_2 , demonstrando que houve plena incorporação do Pegico junto à matriz polimérica reticulada, o que representa um material polimérico que permite permeação gasosa ou líquida e dependendo da finalidade de aplicação, propriedade de liberação de componente incorporado à matriz.

Figura 29: Microscopia Eletrônica de Varredura (Ampliação: A: 10.000X – Filme sem Pegico, B: 1.000X – Filme com Pegico, C: 1.000X – Filme com Pegico, D: 5.000X – Filme com Pegico)



Faria; Vercelheze; Mali (2012) produziram filmes à base de PVA, amido de mandioca e nanoargila, obtendo boa compatibilização com a matriz apresentando característica lisa e homogênea na superfície do material. Dias et al., (2011) observou uma superfície de um filme híbrido PVA/Quitosana e sílica bioativa, com objetivo de aplicação em tecido de reparo, contendo aspecto superficial irregular, globoso e com presença de porosidade difusa, assemelhando ao observado neste trabalho, sugestivo que os mesmos componentes base do filme associado a um componente extra e reticulado com glutaraldeído proporcione semelhança na estrutura do filme, embora não tenha a mesma destinação.

6.8.2.3 Espessura dos Filmes

Espessura em filmes é uma propriedade importante e dependendo da sua destinação poderá ter maior ou menor valor. Os filmes produzidos pelo método *Casting* apresenta irregularidade na distribuição das espessuras em toda sua área havendo dificuldade no controle dessa variável em razão de desnivelamento da superfície de secagem, placas irregulares e viscosidade da suspensão polimérica (SOBRAL, 2000).

Na avaliação das espessuras dos filmes desenvolvidos neste trabalho, os resultados (Tabela 1), demonstram que o Pegico não representou o principal influenciador do aumento de espessura e sim o PVA, com sensível aumento quando comparado nas concentrações de 5% com média de espessura dos filmes de 20,6 μm e com PVA 10% espessura média de 26,57 μm .

Tabela 1 – Espessura dos filmes em micrometros (μm) – 1a (PVA 5%) e 1b (PVA 10%)

1a		1b	
FILMES PVA 5%	MÉDIA	FILMES PVA 10%	MÉDIA
A	20,4 \pm 0,89	B	26,4 \pm 0,55
C	22,4 \pm 1,14	C10	26,2 \pm 1,10
D	19,6 \pm 1,14	D10	24,6 \pm 0,55
E	18,6 \pm 1,95	E10	22,4 \pm 1,82
F	19,0 \pm 1,22	F10	32,8 \pm 1,79
G	23,6 \pm 3,21	G10	27,0 \pm 2,24
MÉDIA	20,6 \pm 1,59	MÉDIA	26,57 \pm 1,34

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Faria; Vercelheze; Mali (2012) avaliaram as propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de PVA e amido de mandioca, obtendo valores nas espessuras dos materiais variando de 0,130 a 0,142 mm, tendo em média 0,137 mm (137 μm), mais espessos comparados aos filmes desse trabalho.

Bispo (2009) desenvolveu filmes poliméricos de PVA/quitosana reticulados com Genipin (produto natural não-tóxico) obtendo material com espessura de 25 – 75 μm com aspecto uniforme.

Sobral (2004) observou em filmes de proteínas miofibrilares de carne bovina e tilápia-do-nilo, o aumento linear da espessura com a adição de massa dos componentes da

formulação. Nos filmes deste trabalho sob este aspecto foi observado uma maior espessura em todos os filmes com PVA 10%, porém não confirmado o aumento com a concentração de Pegico.

De acordo com Vaz (2014), a produção de filmes de carboximetilcelulose com resíduos sólidos de cápsulas gelatinosas não apresentou relação de variação da espessura do material com as concentrações de componentes. Filmes de amido/PVA/Quitosana apresentaram espessura variando de 25 a 71 μm , com várias concentrações dos componentes. Na mistura de PVA/Quitosana (1:1) a espessura foi de $0,040 \pm 0,04$ mm (40 μm), com valores crescentes conforme maior a concentração de amido, fato que não foi observado com os filmes deste trabalho os quais não sofreram alterações lineares em conformidade com a concentração do Pegico.

Costa-Júnior; Mansur (2008) desenvolveram filmes de PVA/Quitosana reticulados com Glutaraldeído obtendo dimensões de espessura variando de acordo com as concentrações dos componentes valores de $250 \mu\text{m} \pm 150 \mu\text{m}$ (100 a 400 μm) demonstrando que é possível controlar as propriedades físicas com modificações da formulação. Em dois outros trabalhos de Costa-Júnior desenvolvendo filmes de quitosana/PVA reticulados com Glutaraldeído nas proporções variando de 1 e 5% verificou espessuras com média de $213 \mu\text{m} \pm 106$ e $75 \mu\text{m} \pm 25$.

Silva et al. (2008) elaboraram filmes biodegradáveis de gelatina e PVA, observando valores de espessura variando de 79 μm e 82 μm .

6.8.2.4 Conteúdo de Água nos Filmes

De acordo com Mota (2009), a propriedade de absorção de água é dependente da estrutura polimérica e de suas características hidrofílicas e hidrofóbicas, podendo reter água em sua rede tridimensional provocando um inchamento da matriz, como facilitar a permeabilidade de sólidos nela incorporados entre as faces do polímero, porém provoca uma maior fragilidade dimensional do material.

A propriedade de conteúdo de água em materiais poliméricos é de grande importância para estabelecer uma condição hidrofílica, tendo capacidade de intumescimento de água ou fluidos fisiológicos sem se desintegrar (DAVANÇO, 2006).

Os resultados do conteúdo de água nos filmes poliméricos (Figura 30) apresentaram os valores que demonstram alto grau de conteúdo de água, podendo ser observado não ter diferença significativa nas duas concentrações de PVA testadas, mas nos

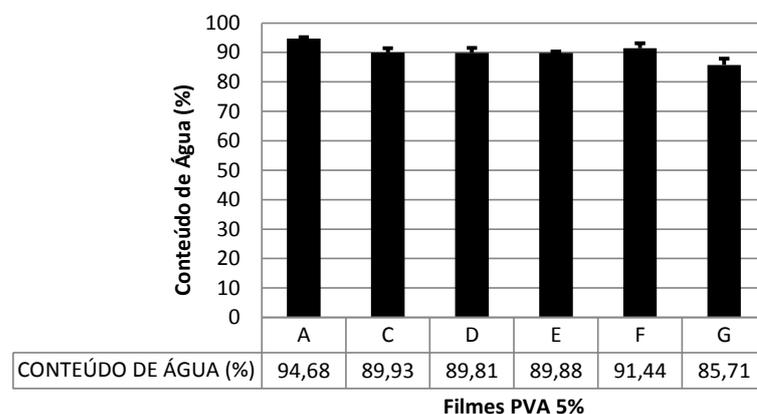
filmes sem Pegico (A e B) com valores respectivos de $94,68\% \pm 0,50$ e $94,78\% \pm 0,57$, representando os maiores valores, sugerindo que os polissacarídeos do Angico Vermelho interferem na capacidade de intumescimento do material tendo caráter hidrofóbico, possibilitando controle na estabilidade dimensional quando em contato com substratos úmidos não permitindo rápida desintegração e conferindo aos filmes melhor permeação de nutrientes e produtos celulares para fora da sua estrutura, de acordo com Hoffman (2002).

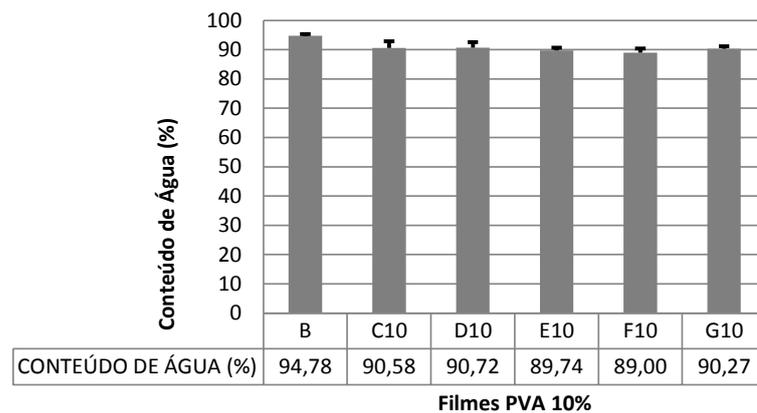
O conteúdo de água observado nos filmes apresentou maior nas amostras sem pegico (filmes A = $94,68\% \pm 0,50$ e B = $94,78\% \pm 0,57$), indicando comportamento hidrofílico na matriz polimérica com valor suavemente superior para o filme com PVA a 10%.

Segundo Bispo (2009) o grau de intumescimento de um hidrogel é característica fundamental quando se deseja um material biocompatível identificando-se pela semelhança física com os tecidos vivos que têm alto teor de água com aspecto macio e elástico. O intumescimento depende do caráter hidrofílico de seus componentes pela quantidade de hidroxilas e do número ou densidade de ligações cruzadas na formação da rede polimérica do hidrogel, como também a concentração de grupos ionizados na rede. O Álcool Polivinílico (PVA) tem 80% de grupos hidrolisados apresentando alta propriedade hidrofílica, mais acentuada que a quitosana. Tal propriedade mesmo em concentrações menores tem efeito de intumescimento do material quando numa matriz eminentemente hidrofílica.

Os resultados do conteúdo de água nos filmes com PVA 5%, após análise estatística com teste de Tukey demonstra que nos filmes A, F e B apresentam pouca diferença significativa. Os filmes C, D, E, F, C10, D10, E10, F10 e G10 não apresentaram diferença significativa.

Figura 30: Conteúdo de água nos filmes





Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Costa Júnior; Mansur (2008), constatou em seus estudos que variando a quitosana e o glutaraldeído na formulação das blendas poliméricas encontrou alterações significativas no seu grau de intumescimento, diretamente proporcional às concentrações, fazendo valer maior influência do glutaraldeído nas concentrações crescentes de 1% a 5%. Este comportamento se deve à formação de reticulações intercadeias na matriz polimérica, o que resulta em uma maior compactação e emaranhado da rede tridimensional, diminuindo espaço para a livre movimentação e aglomeração interna de moléculas de água. Uma importante observação no seu trabalho é a importância do glutaraldeído (reticulador) na estabilidade dimensional do material, que se dissolveu por completo com sua ausência na formulação.

Yang et al. (2004) formularam filmes PVA/quitosana reticulados com formaldeído verificando seu efeito na composição da matriz. Hoffman (2002), afirma que nas formulações de hidrogéis sintéticos, naturais ou misturados tem papel relevante nas áreas biomédicas e engenharia de tecidos, a sua propriedade de conteúdo de água é conveniente haver interação de componentes hidrofílicos e hidrofóbicos de forma balanceada, de acordo com a destinação desejada, mantendo um equilíbrio nas afinidades com substâncias incorporadas e a integridade dimensional do material.

Costa Júnior (2008), observou um grau de intumescimento de 700% nas blendas não reticuladas e uma queda acentuada para 400% e 200% para reticulações respectivas de 1% e 5% de glutaraldeído como agente reticulador, concluindo que o aumento de ligações cruzadas restringe o acúmulo de água na matriz polimérica.

6.8.2.5 Solubilidade

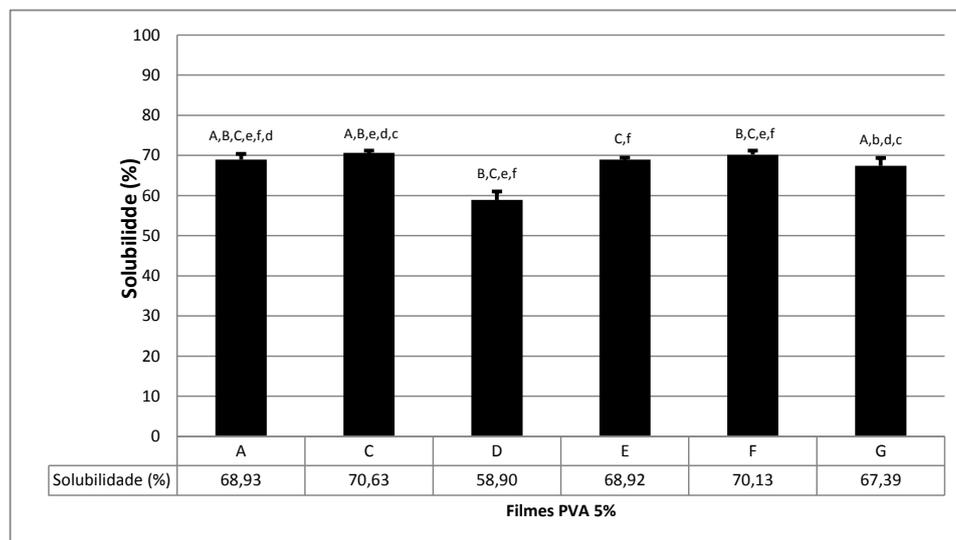
A solubilidade de um filme é uma propriedade importante dependendo da sua destinação, visto que pode provocar maior fragilidade dimensional que pode ter influência de aditivos componentes com hidroxilas (-OH) em sua estrutura (SILVA, 2011).

Segundo Hoffman (2002) a solubilidade dos hidrogéis em água depende da rede tridimensional formada pelos agentes de reticulação e como essas redes interagem com os polímeros componentes, conferindo maior ou menor estabilidade ao material conforme a formação de ligações cruzadas e regiões mais ou menos densas de reticulação.

De acordo com Lima; Gassetta; Magini (2006), uma boa solubilidade em água e em outros solventes orgânicos representa uma propriedade importante para um hidrogel com destinação biomédica, pela compatibilidade e facilidade de interação com drogas.

Os valores de solubilidade dos filmes de PVA 5% (Figura 31) apresentam em média $67,48\% \pm 1,65$. De acordo com o teste de Tukey, os filmes identificados com letras iguais sobre as barras, não apresentam diferenças significativas. As amostras dos filmes A, C e G não apresentam diferenças significativas. Os filmes A, C, D e F também não apresentam diferenças significativas.

Figura 31: Solubilidade dos filmes PVA 5%

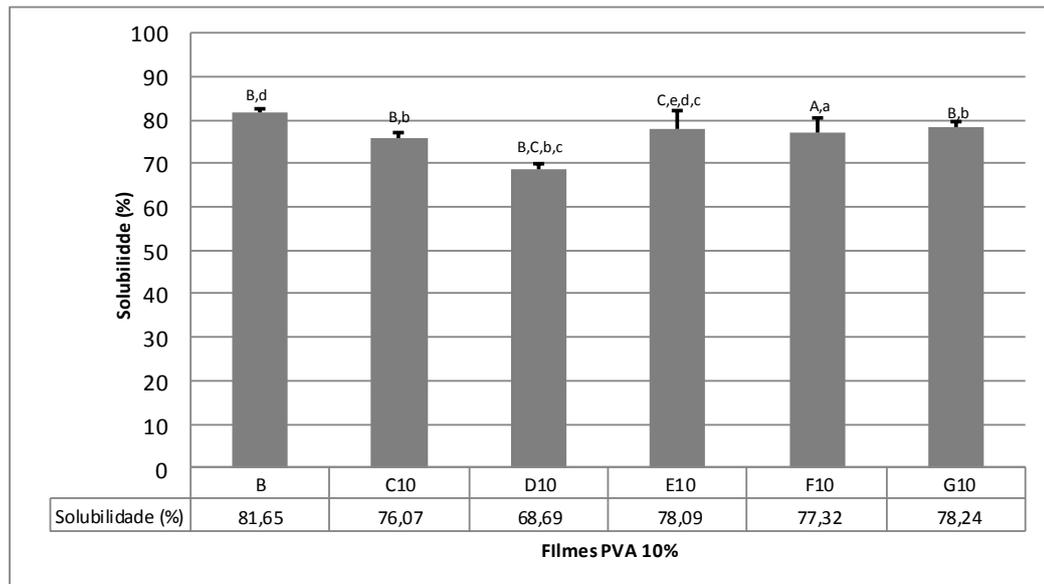


Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Os valores de solubilidade dos filmes de PVA 10% (Figura 32) apresentaram média de $76,68\% \pm 1,67$. De acordo com a análise estatística pelo teste de Tukey, os filmes

identificados com letras iguais sobre as barras, não apresentam diferenças significativas. Os filmes B, C10, D10 e G10 não apresentam diferenças significativas. Os filmes D10 e E10 também não apresentam diferenças significativas.

Figura 32: Solubilidade dos filmes PVA 10%



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Segundo Lima; Gassetta; Magini (2006), na produção de hidrogéis de dextrana e de acrilato de dextrana, verificando resultados semelhantes ao do presente trabalho, com conclusão de que a solubilidade está dependente à disponibilidade de grupos hidroxilas livres e a tensão da rede tridimensional da reticulação.

De acordo com Brangel (2011), analisando hidrogel elaborado com ácido lactobiônico apresentando grande capacidade de solubilização em água quando comparado com ácido cítrico, devido à maior quantidade de hidroxilas presentes, apresentando valores percentuais semelhantes aos do presente trabalho.

6.8.2.6 Cor e Opacidade dos filmes

Para que a cor exista é necessário considerar três parâmetros: observador, fonte de luz e o objeto, sabendo que a cor não é uma propriedade da luz e sim o efeito causado pelas ondas de luz refletidas de materiais opacos ou transmitidas de material translúcido ou transparente. A colorimetria é a técnica usada para quantificar e descrever por modelos

matemáticos as percepções humanas de cor, estando a fonte de luz de acordo com a sensibilidade do olho humano que envolve considerações geométricas e espectrais. Diferenças de cor numa superfície plana e homogênea podem ser sutis e não perceptíveis ao olho desarmado, por isso a análise instrumentalizada tem seu valor. A estabilidade ou coloração de um material poderá ter valorização conforme o emprego ou finalidade do material proposto (GOVEIA, 2004).

Os espaços de cores recomendados pela CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) tem as referências representadas pelas letras L^* a^* b^* . A luminosidade L^* pode ter valores entre 0 e 100 (preto perfeito e branco perfeito, respectivamente) e as coordenadas de cromaticidade a^* e b^* podem ter valores de (-80) a (+80). Outro dado expresso pelo colorímetro é a diferença de cor (ΔE) entre os valores de L^* a^* e b^* da amostra e do padrão. As diferenças de cores estão descritas pela magnitude e sinais algébricos como a seguir os referenciais proposto por Hering, de acordo com GOVEIA, 2004.

L^* positivo = cor mais claro

L^* negativo = cor mais escuro

a^* positivo = mais vermelho (menos verde)

a^* negativo = mais verde (menos vermelho)

b^* positivo = mais amarelo (menos azul)

b^* negativo = mais azul (menos amarelo)

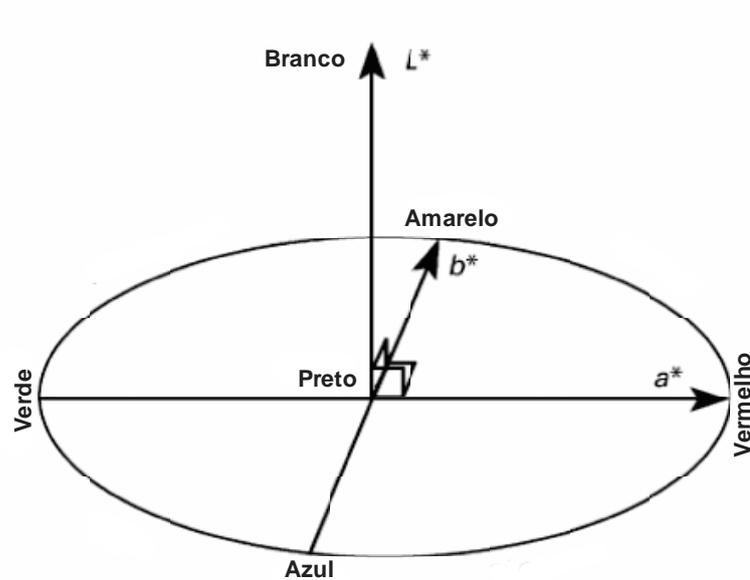
A opacidade é o oposto de translucidez sendo caracterizada pelo espalhamento de luz refletida quando esta atravessa o material e sua magnitude depende da refração dos componentes. Quando o interesse é ter materiais translúcidos e transparentes os valores de opacidade tem que ser inferiores considerando ser inverso à translucidez. A razão dos contrastes (RC) pode ser mensurada pela divisão da refletância de fundo preto (Y_P) e a refletância do fundo branco (Y_B), sendo os valores de Y convertidos a partir dos valores de luminosidade (L^*), como representado: $RC = Y_P / Y_B$ ou $RC = \{(L^*_{P+16}) / (L^*_{B+16})\}$ onde (L^*_P) é a luminosidade com o fundo preto e (L^*_B) é a luminosidade com o fundo branco (GOVEIA, 2004).

Chen (1995), afirma que a característica de opacidade em filmes depende da morfologia, estrutura química e massa molar dos constituintes do material.

O espaço de cor CIE $L^*a^*b^*$ (Figura 33) baseia-se na teoria da oposição de visão de cores que aponta apenas quatro cores (vermelho, verde, amarelo e azul) em substituição de milhares de tonalidades descritas por muitos. Quando tomadas em conjunto com o preto e branco formam um conjunto de seis cores básicas que podem se agrupadas em

três pares oponentes: branco/preto, vermelho/verde e amarelo/azul, confirmando a oponência onde nenhum dos pares pode ser descritos por ter propriedades de ambos (BROADBENT, 2010; GILCHRIST, 2013).

Figura 33: Espaço de cores $L^* a^* b^*$



Fonte: GILCHRIST, A. *et al.* (2013)

A opacidade representa o quanto de luz não consegue passar através do material, ou seja, quanto mais luz for absorvida pelo material maior será a sua opacidade sendo considerado inversamente proporcional à translucidez. Assim, quanto mais luz transmitida pelo material maior será a sua translucidez ou menor opacidade (OLIVEIRA, 1996).

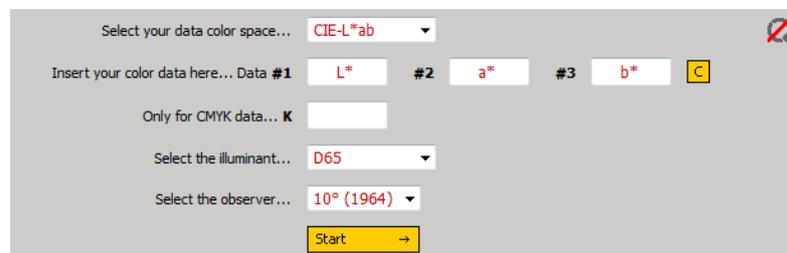
A escala de cores e opacidade dos filmes poliméricos deste trabalho (Figura 34) seguiu o padrão de cores como referência das verificações das amostras após a calibração do equipamento:

$$L^* = 94,55 \quad a^* = -0,88 \quad b^* = 0,34 \quad \text{Opacidade} = 0$$

As amostras analisadas apresentam como principal característica da coloração ser predominantemente amarela tendo os valores de b^* , que pode alcançar 80, variando de $32,94 \pm 1,77$ a $46,86 \pm 1,19$. Os valores de L^* , que tendem a 100 para materiais de tonalidade clara, variam de $69,01 \pm 0,68$ a $84,67 \pm 2,44$, caracterizando os filmes como claros.

Figura 34: Características relacionadas à cor dos hidrogéis

Filme	L*	a*	b*	Opacidade	ΔE	Cor
Filme A	83,38 ± 0,79	1,43 ± 0,48	36,47 ± 2,28	23,04 ± 2,09	37,62 ± 2,05	
Filme B	84,67 ± 2,44	-0,56 ± 1,67	36,46 ± 3,68	23,66 ± 4,96	37,21 ± 4,12	
Filme C	79,99 ± 0,92	4,49 ± 0,75	37,81 ± 0,67	21,83 ± 1,19	40,31 ± 0,63	
Filme C10	82,35 ± 1,10	-0,23 ± 0,55	32,94 ± 1,77	21,57 ± 1,71	34,54 ± 1,96	
Filme D	76,79 ± 2,39	6,03 ± 2,63	45,31 ± 1,73	23,12 ± 3,60	48,66 ± 2,64	
Filme D10	78,57 ± 1,66	3,93 ± 1,53	40,15 ± 2,19	28,51 ± 4,32	42,90 ± 2,63	
Filme E	80,37 ± 2,38	-0,11 ± 0,93	36,21 ± 3,20	20,83 ± 1,79	38,29 ± 3,80	
Filme E10	79,88 ± 2,30	-0,81 ± 1,03	34,04 ± 3,80	19,51 ± 1,94	36,48 ± 4,33	
Filme F	78,03 ± 2,83	3,29 ± 1,80	39,27 ± 3,66	21,90 ± 3,58	42,30 ± 4,60	
Filme F10	75,05 ± 2,56	6,30 ± 2,59	37,65 ± 3,69	24,93 ± 2,50	42,45 ± 4,73	
Filme G	69,01 ± 0,68	9,48 ± 0,87	46,86 ± 1,19	18,45 ± 1,11	53,92 ± 1,32	
Filme G10	73,80 ± 4,56	7,15 ± 3,68	39,00 ± 3,76	24,66 ± 4,62	44,48 ± 5,62	



Select your data color space... CIE-L*a*b

Insert your color data here... Data #1 L* #2 a* #3 b*

Only for CMYK data... K

Select the illuminant... D65

Select the observer... 10° (1964)

Start →

FPonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014; (<http://www.easyrgb.com/index.php?X=CALC#Result>).

De acordo com Faria; Vercelheze; Mali (2012), os filmes misturados com PVA, amido de mandioca e nanoargila apresentaram opacidade aparente, variando de 1,76 a 2,56 ocorrendo uma tendência de redução nesses valores quando adicionado a nanoargila.

Segundo resultados de Sobral (2000), a opacidade e a diferença de cor (ΔE) aumentaram linearmente com a espessura dos filmes de proteína e plastificante glicerol. Esta correlação não foi verificada entre os filmes desenvolvidos neste trabalho.

Gomes (2008) no desenvolvimento de filmes como matrizes biomiméticas para substituição de pele para tratamento de queimaduras, verificou que a luminosidade do seu material (L^*) diminui com a diminuição da concentração de amido tornando menos transparentes. Visivelmente os filmes deste trabalho não tiveram uma alteração linear pela maior ou menor concentração de Pegico.

Gontard (1992) observou nos filmes que continha glútem na sua formulação uma tendência de maior opacidade quanto maior a concentração. Para filmes destinados à aplicação alimentícia é fundamental uma aparência homogênea, transparente e brilhante.

Shirai et al. (2013) verificou nos filmes de amido e poly(lactic acid) menor opacidade quando plastificado com adipato ester e quando plastificado com citrato ester não houve alteração da opacidade com as diferentes concentrações.

Silva et al. (2008), encontrou diferença nos valores de cores (ΔE) e Opacidade (Y) em pequenas intensidades, comparados com o presente trabalho, com valores médios respectivamente $3,3 \pm 0,18$ e $1,55 \pm 0,36$ em filmes biodegradáveis à base de blendas de gelatina e PVA. A luminosidade apresentou alta (referência de 0 a 100) variando de $91,4 \pm 0,11$ e $91,7 \pm 0,09$ demonstrando serem de tonalidade clara.

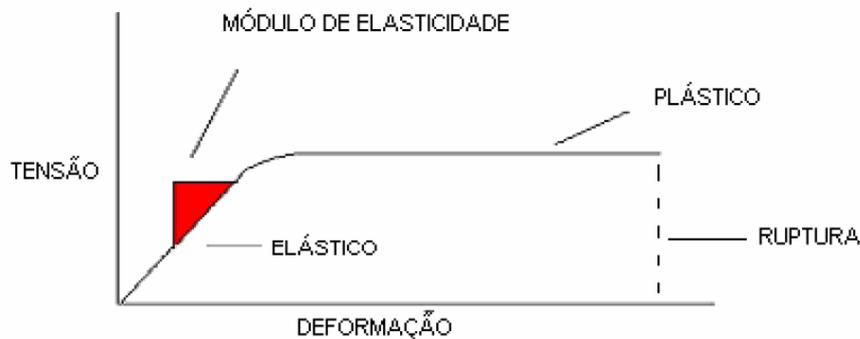
6.9 Ensaio mecânicos

A modalidade de testes mecânicos de tração é amplamente utilizada para filmes flexíveis sintéticos, naturais ou mistos, segundo Vicentini (2003). De acordo com a metodologia descrita anteriormente, os filmes foram submetidos a testes de tração para avaliação e determinação das suas propriedades mecânicas, diante de ensaio com um texturômetro (*Texture Analyzer TA-XT Plus*), verificando o comportamento Tensão / Deformação, tais como a resistência do material e a capacidade de alongação. A tensão em Pascal (Pa) e o módulo de elasticidade ou módulo de Young em megapascal (MPa) foram

calculados posteriormente através dos dados em relação a área do corpo de prova ($0,0009 \text{ m}^2$) padrão utilizado.

A resposta à aplicação de uma força de tração em filmes poliméricos (Figura 35) indicada por seus comportamentos elástico (retornando à forma original ao remover a força) e plástico (deformação permanente mesmo após ser removida a força) são importantes propriedades dos filmes. A resistência é representada pela máxima tensão suportada pelo filme até a sua ruptura. A deformação é a maleabilidade do filme representando a capacidade do material em deformar-se antes da ruptura. Outra propriedade avaliada em filmes poliméricos é o Módulo de Elasticidade ou Módulo de Young, que é dado pela relação entre a tensão na ruptura e a deformação do filme, calculado pela inclinação da curva de tensão em função da deformação na região elástica, sendo característico de cada material. O valor não altera com a variação das dimensões da amostra, porém a força de resistência é menor quanto menor for corpo de prova (AOUADA, 2009).

Figura 35: Gráfico das propriedades mecânicas no ensaio no Texturômetro



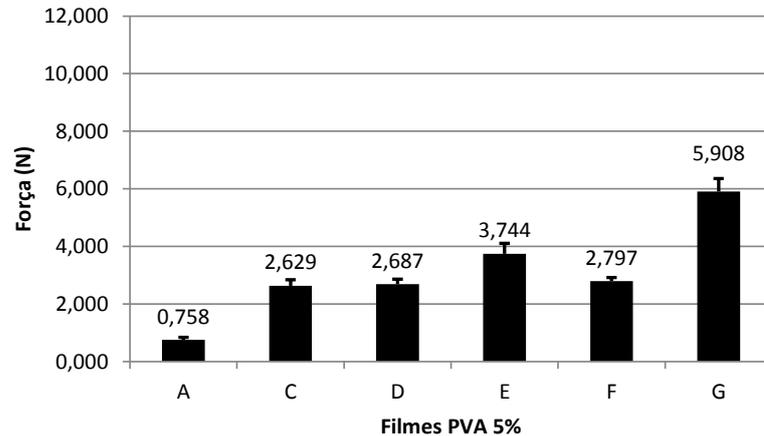
Fonte: (WARD e HARDLEY, 1998, in: AOUADA, 2009)

Segundo Psomiadou et al. (1997), a deformação elástica é um comportamento resultante das forças contrárias e axiais entre os pontos de fixação dos corpos de prova caracterizado pela mobilidade do arranjo inter e intramolecular ajustando as conformações das cadeias poliméricas das regiões amorfas tendendo a completa orientação com as regiões cristalinas até a sua ruptura. A presença de agente reticulador promove na matriz polimérica um reforço estrutural, conferindo maior resistência e diminuindo a sua elasticidade, sendo tais propriedades fortemente influenciadas pela natureza dos reagentes e compatibilidade química das cadeias poliméricas principais e adjacentes (VILA, 2004; DAVANÇO, 2007).

Os ensaios mecânicos das amostras dos filmes apresentaram deformação elástica até a sua ruptura não sendo observada deformação plástica do material (Figuras 36 e 37). Foi

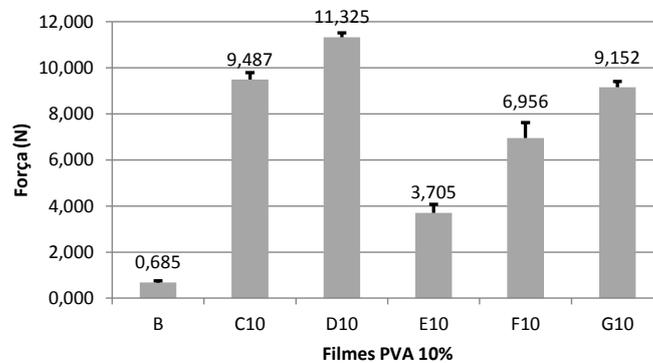
verificado nos filmes analisados, valores máximos de resistência à tração de $11,32 \text{ N} \pm 0,19$ e deformação de $48,89 \text{ mm} \pm 4,56$.

Figura 36: Ensaios mecânicos à tração – Resistência (N) – Filmes PVA 5%



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 37: Ensaios mecânicos à tração – Resistência (N) – Filmes PVA 10%



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Na avaliação da propriedade de resistência dos filmes (Figuras 36 e 37) foi verificado o seguinte:

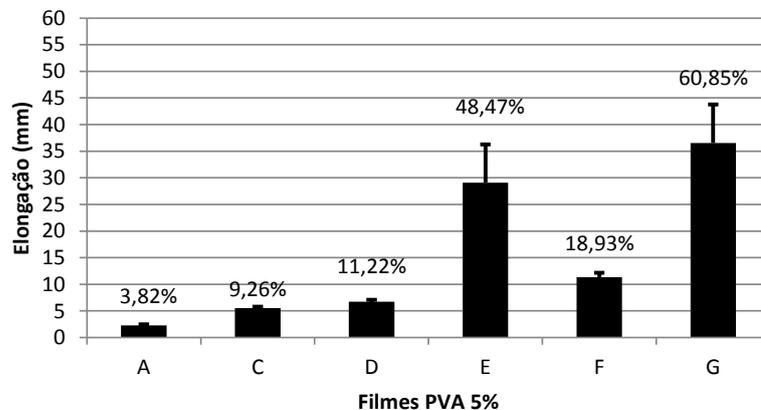
Os filmes G, contendo 4% de Pegico, apresentou maior força dentre os formulados com 5% de PVA, alcançando $5,91 \text{ N} \pm 0,45$. Os demais filmes apresentaram valores inferiores de acordo com a quantidade de Pegico adicionado, indicando assim que quanto maior o teor de polissacarídeos inseridos na formulação maior a resistência. Nos

filmes contendo 10% de PVA, esta relação não foi observada, uma vez que os filmes que apresentaram maior força foram aqueles que continham 1% de Pegico, filme D10 ($11,32N \pm 0,19$), seguido dos filmes contendo 3% de Pegico, filme C10 ($9,48 N \pm 0,31$), não apresentando assim uma relação entre a concentração de Pegico e a força (N). Pode se observar ainda que o filme D10 (10% de PVA e 1% de Pegico) apresentou aproximadamente o dobro da resistência (1,92 vezes) do filme G1 formulado com 5% de PVA e 4% de Pegico, mostrando que foi possível obter uma boa resistência com menor concentração de Pegico quando os filmes foram formulados com 10% de PVA. Os filmes controles A e B, contendo respectivamente 5 e 10% de PVA, não apresentaram diferença significativa.

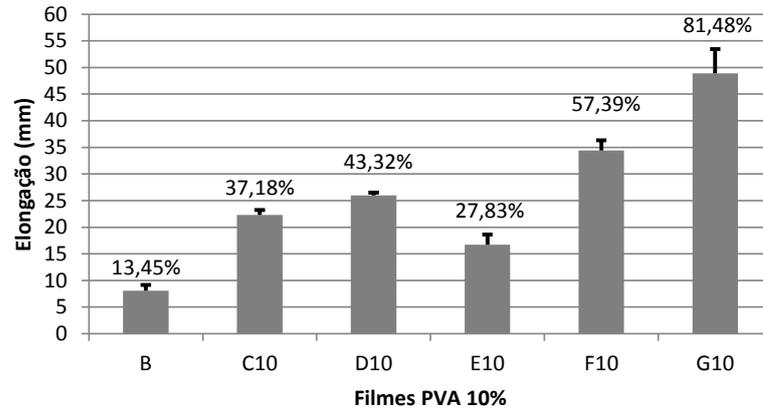
Segundo Cuq et al. (1997), geralmente quanto maior a resistência dos filmes poliméricos menor a flexibilidade. Nos resultados levantados neste trabalho não é confirmado esta relação, observando alguns filmes que apresentam maior resistência e menor alongação em relação a outros.

Faria; Vercelheze; Mali (2012), com produção semelhante a este trabalho adotando o método *casting* com glicerol como plastificante, observando nos filmes de PVA/amido de mandioca/nanoargilas um comportamento que demonstra uma influência pela adição dos polímeros com boa compatibilidade na matriz justificada pelas ligações de hidrogênio, levando ao aumento da resistência, especialmente com a incorporação de nanoargilas esfoliadas. Shirai et al. (2013) produziram e caracterizaram filmes flexíveis de amido e poly(lactic acid) com plastificante adipato, observando propriedade de força (0,6 – 0,9 N) e com Glicerol (13 N).

Figura 38: Ensaio mecânico à tração – Elongação (mm e %) – Filmes PVA 5%



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014

Figura 39: Ensaios mecânicos à tração – Elongação (mm e %) – Filmes PVA 10%

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014

Nos resultados da elongação (Figuras 38 e 39) verificou-se um comportamento progressivo conforme a concentração de Pegico exceto nos filmes E10 e F os quais também não tiveram a influência da concentração de PVA. Pode-se observar que os filmes A (sem Pegico) com PVA 5% apresentaram os menores valores de elongação, indicando menor flexibilidade e que nos arranjos enovelados das cadeias poliméricas não houve reorganização da conformação intermolecular, ocorrendo a ruptura precocemente. Os filmes B (sem Pegico) com PVA 10% foram os que apresentaram menor elasticidade dentre os filmes do mesmo grupo demonstrando que mesmo com o fator de hidratação pelo PVA e a mesma quantidade de plastificantes apresentaram maior fragilidade, o que pode ser sugestivo do efeito do Pegico nas demais formulações onde há compatibilidade e interação entre os três principais polímeros da matriz (PVA – Quitosana – Pegico). Foi possível verificar que os filmes G e G10, com maior concentração de Pegico (4%), nas concentrações de PVA (5 e 10%) após análise estatística de Tukey (Apêndice - Tabela 2), não houve diferença significativa na elongação ($G = 60,85\% \pm 12,16$ e $G10 = 81,48\% \pm 7,59$), demonstrando uma interação satisfatória do PVA e Pegico. Em síntese, os filmes formulados com PVA 10% apresentam melhor comportamento elástico, permitindo maior deformação até a ruptura, demonstrando compatibilidade da matriz com os aditivos plastificantes e o reticulador (GA), com boa estabilidade dimensional.

Faria; Vercelheze; Mali (2012), também observaram aumento na elongação dos filmes com deformação de 25 – 61%. Quando desenvolvidos com PVA e amido de mandioca apresentaram aumento na flexibilidade (valores maiores), porém quando adicionado nanoargila houve redução dessa propriedade (valores menores) explicada pela interação da

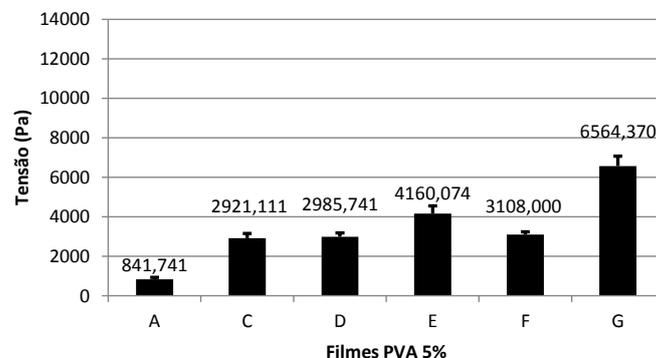
nanoargila na matriz conferindo maior rigidez diminuindo a flexibilidade intermolecular. Gomes (2008), produziu filmes de amido que revelaram-se quebradiços e frágeis até a adição de PVA e Quitosana o que proporcionou melhora das propriedades mecânicas principalmente o alongamento das blendas, justificado pela formação de pontes de hidrogênio entre as hidroxilas do amido e os grupos reativos do PVA e da Quitosana.

Shirai et al. (2013) produziu filmes flexíveis de amido e poly(lactic acid) com plastificante adipato, observando boa propriedade de flexibilidade com valores de (120 – 148%) de alongação quando comparado ao Plastificante Glicerol apresentando alongação (13%). Horn (2012), em filmes de quitosana e amido de milho obteve alongamento máximo dentre a amostras de $20,13\% \pm 0,29$.

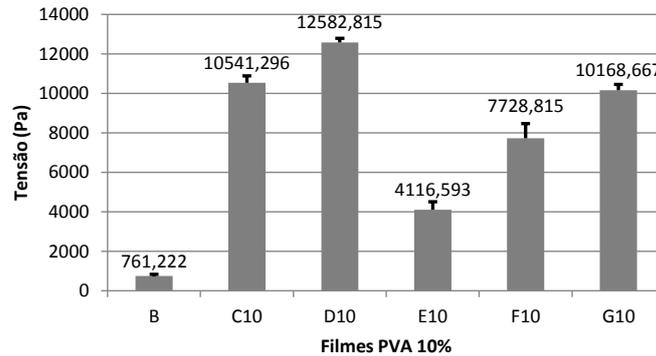
Carvalho (2010) elaborou filmes de PVA/quitosana e CuO obteve valores que variaram de $68,30\% \pm 1,9$ a $90,53\% \pm 3,73$. Quando adicionado glicerol como plastificante obteve valores que variaram de $79,12\% \pm 2,78$ a $104,30\% \pm 5,16$ evidenciando a alteração positiva da elasticidade dos filmes com aditivação plastificante, evidenciando uma maior mobilidade entre as cadeias da matriz polimérica.

Mali et al. (2005) avaliou o comportamento mecânico de filme de amido de fécula de mandioca, evidenciando a influência dos plastificantes glicerol e sorbitol na sua alongação, sendo o glicerol mais eficiente do que o sorbitol. Uma importante constatação é que a presença de água na matriz tridimensional trouxe efeito plastificante por permitir melhor arranjo das cadeias e ajuste nos momentos de tração, portanto mantendo uma maior umidade dos filmes a dependência de aditivação com plastificantes pode ser minimizada.

Figura 40: Ensaio mecânicos à tração – Tensão (Pa) – Filmes PVA 5%



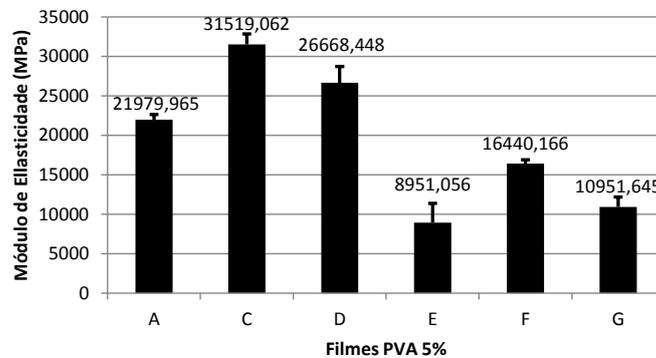
Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 41: Ensaio mecânico à tração – Tensão (Pa) – Filmes PVA 5%

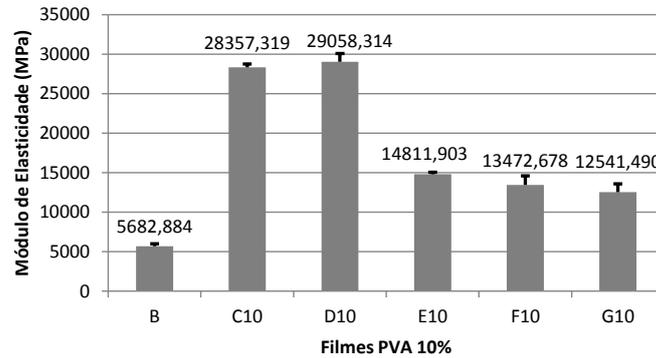
Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Os resultados de Tensão (Pa) (Figuras 40 e 41), registrados nos filmes, apresentaram os menores valores atribuídos aos filmes, A (PVA 5%) e B (PVA 10%), ambos sem Pegico. Dentre os filmes de PVA 5% a maior tensão foi registrada no filme G, com maior concentração (4%) de Pegico. Nos filmes de PVA 10% a maior tensão foi do filme D10, com concentração de 1% de Pegico.

Horn (2012), registrou tensão de $60,03 \text{ MPa} \pm 2,72$ em filmes de quitosana e amido de milho. Carvalho (2010), desenvolveu filmes de PVA/quitosana e CuO obteve tensão variando de $8,97 \text{ MPa} \pm 1,41$ a $19,59 \text{ MPa} \pm 1,46$. Quando adicionado glicerol como plastificante obteve valores que variaram de $8,34 \text{ MPa} \pm 0,57$ a $19,03 \text{ MPa} \pm 1,55$.

Figura 42: Ensaio mecânico à tração – Módulo de Elasticidade (MPa) – Filmes PVA 5%

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014

Figura 43: Ensaio mecânico à tração – Módulo de Elasticidade (MPa) – Filmes PVA 10%

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014

Os resultados de Módulo de Elasticidade (unidade em MPa) (Figuras 42 e 43) os maiores valores foram dos filmes C = $31519,06 \pm 1324,98$ e C10 = $28357,32 \pm 412,44$ com 0,5% de Pegico e os filmes D = $26668,45 \pm 2076,18$ e D10 = $29058,31 \pm 1042,73$ com 1,0% de Pegico. De acordo com análise estatística de Tukey (Apêndice – Tabela 2) tais filmes não apresentam diferença significativa do Módulo de Elasticidade.

De acordo com os estudos de Carvalho (2010), obteve Módulo de Elasticidade de filmes PVA/quitosana e CuO, os valores variaram de $163,75 \text{ MPa} \pm 8,71$ a $199,98 \text{ MPa} \pm 4,15$. Quando adicionado glicerol como plastificante obteve valores variando de $109,52 \text{ MPa} \pm 12,5$ a $170,79 \text{ MPa} \pm 5,07$. Rigo (2012) encontrou nas amostras dos seus filmes valores de Módulo de Elasticidade dependentes das concentrações do plastificante utilizado e que mesmo aumentando a concentração de polissacarídeo (amido) mantendo a concentração de plastificante não houve alteração significativa no Módulo de Elasticidade.

Mali et al. (2005) também encontraram os mesmos efeitos dos plastificantes usados na formulação dos filmes (glicerol e sorbitol) determinando a sua maior alongação e diminuição do Módulo de Elasticidade.

7 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram preparados hidrogéis em forma de filmes poliméricos de PVA/quitosana reticulados com Glutaraldeído e incorporado Polissacarídeos do Angico Vermelho (Pegico), além de Glicerol, Polietilenoglicol e Propilenoglicol como agentes plastificantes. Os filmes foram extensamente estudados nas variações de concentrações do Pegico e do Álcool Polivinílico (PVA), caracterizando física, química, biológica e mecanicamente na perspectiva de sua utilização como biomaterial em sistemas de entregas farmacológicas.

O Pegico foi caracterizado pela técnica de Infravermelho por transformada de Fourier, Difração de Raio-X, teores de Na^+ e K^+ , Microscopia Eletrônica de Varredura e avaliado seu perfil citotxicológico. Foram verificados os efeitos do Pegico, nas concentrações testadas, nas características dos filmes quando misturados aos outros reagentes, inclusive nas variações do PVA. Houve interação satisfatória com a matriz polimérica e melhora do comportamento mecânico do filme, conferindo maior resistência ao material, permitindo possibilidades de ajuste das concentrações para adequações funcionais do produto.

Dentre as amostras testadas, o filme que apresentou características mecânicas adequadas às finalidades almejadas do material foi com a concentração de 1% de Pegico e PVA a 10%. Todas as formulações produziram filmes finos com espessura média de $20,6 \mu\text{m} \pm 1,59$ e $26,57 \mu\text{m} \pm 1,34$ para PVA 5 e 10%, respectivamente. Os filmes apresentaram alto intumescimento de água e superfície com microporosidade difusa. Fisicamente os filmes apresentaram-se com coloração amarelada, transparente com textura lisa e brilhante, não obstante a sua característica frágil e tênue, configurando perspectivas promissoras no desenvolvimento de blendas poliméricas, buscando materiais com propriedades desejáveis para um sistema de aplicação tópica de liberação de fármacos.

A purificação parcial dos polissacarídeos contidos no exudato do Angico Vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), espécie vegetal arbórea típica do Cerrado brasileiro possibilitou a sua utilização potencial na produção dos filmes, tornando evidente o uso dos recursos naturais em sistemas biotecnológicos no desenvolvimento de materiais biocompatíveis e biodegradáveis, vislumbrando aplicações biomédicas, engenharia de tecidos e em sistemas de liberação farmacológica através de desenvolvimento de novos materiais.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIROLDI, C.; MONTEIRO JR., O. A. Chitosan-Organosilane Hybrids-Syntheses, Characterization, Copper Adsorption, and Enzyme Immobilization. **Journal of Applied Polymers Science**, v. 77, n. 4, p. 797-804, 2000.

ALMEIDA, D.; BALTHAZAR, L.; RIBEIRO, F. Biomedical Applications of Polymer-based Pharmaceuticals. **Biomedical Engineering**, 2008, 26p.

ALMEIDA, J. F. S. L. **Preparação e Caracterização de Hidrogéis para Aplicações Biomédicas**. 2010. 272 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2010.

ANITHA, A.; SOWMYA, S.; KUMAR, P. T. S.; DEEPTHI, S.; CHENNAZHI, K. P.; EHRLICH, H.; TSURKAN, M.; JAYAKUMAR, R. Chitin and chitosan in selected biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 39, p. 1644-1667, 2014.

ANTONINO, N. A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana**. 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

AOUADA, F. A.; MUNIZ, E. C.; VAZ, C. M. P.; MATTOSO, L. H. C. Correlação entre parâmetros da cinética de intumescimento com características estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose. **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p. 1482-1490, 2009.

AOUADA, M. R. M. **Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos**. 2009. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências Físico-químicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

ASTM – American Society for Testing and Materials (E 1252). Standart Practice for General Techniques for Obtaining Infrared Spectra for Qualitative Analysis, United States, 2007.

ASTM. Annual Book of American Society for Test and Material Standarts. D882-12 - Standart Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2012.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2, p. 27-34, 2007.

BAPTISTA, A. C.; BORGES, J. P.; FERREIRA, I. Produção de biobaterias a partir de membranas obtidas pela técnica de electrofiação. **Ciência & Tecnologia dos Materiais**, v. 22, n. 1/2, 2010.

BATISTA, K. A.; LOPES, F. M.; YAMASHITA, F.; FERNANDES, K. F. Lipase entrapment in PVA/Chitosan biodegradable film for reactor coatings. **Materials Science & Engineering**, v. 33, p. 1696-1701, 2013.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Quim. Nova**, v. 34, n. 2, p. 306-319, 2011.

BERENS, Alan R.; HUWARD, Gary S.; KORSMEYER, Richard W.; KUNIG, F. W. Application of compressed carbon dioxide in the incorporation of additives into polymers. **Journal of Applied Polymer Science**. Online ISSN: 1097-4628, 2003.

BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; PEPPAS, N. A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 19-34, 2004.

BIANCHI, R. F. **Estudo das propriedades eletrônicas e ópticas de filmes e dispositivos poliméricos**. 2002. 141 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

BISPO, V. M. **Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA**. 2009. 189 f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BRANDÃO, M. G. L.; ZANETTI, N. N. S.; OLIVEIRA, G. R. R.; GOULART, L. O.; MONTE-MOR, R. L. M. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 127-134, 2008.

BRANGEL, L. M. Hidrogéis produzidos por fotointercruzamento de cadeias de dextrana: comportamento de solubilidade e inchamento em diversos solventes. 2011. 46 f. Monografia (Graduação em Química Industrial) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BRANT, A. J. C. **Preparação e caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(N-vinyl-2-pirrolidona)**. 2008. 169 f. Tese (Doutorado em química) - Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Informe Técnico n. 4 de março de 2007. *Glutaraldeído em estabelecimentos de assistência à saúde: Fundamentos para a utilização*. ANVISA; 2007.

BRASIL. Resolução - RE Nº 1 de 29 de julho de 2005. *Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2005. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B7760-1-0%5D.PDF>>. Acesso em: 07 nov. 2013.

BRITO, M. F.; FRANÇA, T. N.; OLIVEIRA, CERQUEIRA, V. D. Estudos experimentais em coelhos com plantas cianogênicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 20, n. 2, p. 65-70, 2000.

BROADBENT, A. D. Colorimetry, Methods. **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Second Edition)**, p. 372-379, 2010.

CAMELO, S. R. P. **Estudos de pré-formulação e formulação de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy**. 2010. 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos Polímeros**. 2^a. edição, Artliber Editora. São Paulo, 2008.

CARNEIRO, A. C. O. C.; VITAL, B. R.; FREDERICO, P. G. U.; CARVALHO, A. M. L.; VIDAURRE, G. B. Propriedades de chapas de aglomerado fabricadas com adesivo tânico de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e uréia-formadeído. **Revista Árvore**, v. 33, n. 3, p. 521-531, 2009.

CARVALHO, E. P. **Preparação e caracterização de filmes compósitos de quitosana/poli(álcool vinílico) com nanopartículas de óxido de cobre(ii)**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas brasileiras. **Brasília: Embrapa Informação Tecnológica**; Colombo: Embrapa-CNPq, v. 4, 1040 p., 2003.

CASCONE, M. G.; N. BARBANI, CRISTALLINI, C.; GIUSTI, P.; CIARDELLI, G.; Lazzeri, L. Bioartificial polymeric materials based on polysaccharides. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 12, n.3, p. 267-281, 2001.

CAVALCANTI, O. A.; MOOTER, G. V. D.; CARAMICO-SOARES, I.; KINGET, R. Polysaccharides as Excipients for Colon-Specific Coatings. Permeability and Swelling Properties of Casted Films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, p. 157-164, 2002.

CHEN, M. C.; LIU, C. T.; TSAI, H. W.; LAI, W. Y.; CHANG, Y.; SUNG, H. W. Mechanical properties, drug eluting characteristics and *in vivo* performance of a genipin-crosslinked chitosan polymeric stent. **Biomaterials**, v. 30, n. 9, p. 5560-5571, 2009.

COELHO, S. L. **Desenvolvimento e caracterização de hidrogel para liberação de nitrofurazona**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Sorocaba, Sorocaba, 2012.

CORREA, C. **Avaliação do uso de espectroscopia no infravermelho para controle e garantia da qualidade da blenda biodiesel/diesel usando cartas de controle multivariadas**. 2012. 46 f. Monografia (Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2012.

COSTA-JÚNIOR, E. S. **Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial**. 2008. 133 f. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2008.

COSTA-JÚNIOR, E. S.; 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, 2008.

CUNHA, C. R. M.; NETO, S. A. M.; SILVA, C. C.; CORTEZ, A. P.; GOMES, M. N.; MARTINS, F. I.; ALONSO, A.; REZENDE, K. R.; MENEGATTI, R.; MAGALHÃES, M. T. Q.; VALADARES, M. C. 4-Nerolidylcatechol and its synthetic analogues: Antioxidant activity and toxicity evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, p. 371-378, 2013.

CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 649-660, 2009.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.-L.; GUILBERT, S. Selected Functional Properties of Fish Myofibrillar Protein-Based Films As Affected by Hydrophilic Plasticizers. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, n. 3, p. 622-626, 1997.

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P.; GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capríco: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 408-416, 2007

DE PAOLI, M-A, Degradação e Estabilização de Polímeros. Segunda versão on-line. 2008. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com/blog/wp-content/uploads/2008/09/polimeros.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2014.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2014.

DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A. J.; JONES, C.; IACOMINI, M. Gum heteropolysaccharide and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 7, p. 1207-1214, 1998.

DESHAYES, S.; KASKO, A. M. Polymeric Biomaterials with Engineered Degradation. **Journal of polymer science, part a: polymer chemistry**, v. 51, p. 3531-3566, 2013.

DHINGRA, O. D.; MAIA, C. B.; LUSTOSA, D. C.; MESQUITA, J. B. Seedborne Pathogenic Fungi that Affect Seedling Quality of Red Angico (*Anadenanthera macrocarpa*) Trees in Brazil. **J. Phytopathology**, v. 150, p. 451-455, 2002.

DIAS, L. L. S.; MANSUR, H. S.; DONNICI, C. L.; PEREIRA, M. M. Synthesis and characterization of chitosan-polyvinyl alcohol-bioactive glass hybrid membranes. **Biomatter**, v. 1, n. 1, p. 114-119, 2011.

DISTANTINA, S.; ROCHMADI; FAHRURROZI, M.; WIRATNI. Preparation and Characterization of Glutaraldehyde Crosslinked Kappa Carrageenan Hydrogel. **Engineering Journal**, v. 17, 2013.

DRURY, J. L.; MOONEY, D. J. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. **Biomaterials**, v. 24, p. 4337-4351, 2003.

DURIGAN, G.; MELO, A. C. G.; MAX, J. C. M.; VILAS BOAS, O.; CONTIERI, W. A.; RAMOS, V. S. Manual para recuperação da vegetação de cerrado. 3.ed. São Paulo-SP: SMA, 2011. 19 p. Disponível em: <http://www.sigam.ambiente.sp.gov.br/sigam2/Repositorio/222/Documentos/Manual_recuperacao_cerrado.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2014.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1173-1182, 2009.

EL-HEFIAN, E. A.; NASEF, M. M.; YAHAYA, A. H. Rheological and Morphological Studies of Chitosan/agar/ Poly (Vinyl Alcohol) Blends. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 6, p. 460-468, 2010.

FERREIRA, A. L. **Propriedades Vibracionais de Polissacarídeos Naturais**. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FIORI, A. P. S. M.; GABIRABA, V. P.; PRAXEDES, A. P. P.; NUNES, M. R. S.; BALLIANO, T. L.; SILVA, R. C.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A. S. Preparação e Caracterização de Nanocompósitos Poliméricos Baseados em Quitosana e Argilo Minerais. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 628-635, 2014.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant Defense against Insect Herbivores Joel. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 10242-10297, 2013.

GILCHRIST, A.; NOBBS, J. Colorimetry, Theory. **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Second Edition)**, v. 1, p. 337-343, 2013.

GOMES, S. R. R. **Desenvolvimento de matrizes biomiméticas como substitutos de pele destinados ao tratamento de queimaduras**. 2013. 207 f. Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2013.

GONÇALVES, E. O.; PAIVA, H. N.; NEVES, J. C. L.; GOMES, J. M. Crescimento de mudas de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) sob diferentes doses de macronutrientes. **Revista Árvore**, v. 32, n. 6, p. 1029-1040, 2008.

GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M.; SOARES, N. A.; GOULART, M. O. F.; ABREU, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 191-199, 1992.

GOVEIA, J. C. **Estudo calorimétrico da translucidez de materiais restauradores odontológicos**. 2004. 110 f. Dissertação (Mestrado em Dentística) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

GRANATO, A. E. C.; SOARES, C. P.; DEVITTO, A. H.; BUZONE, L. M.; VERCİK, L. C. O.; VERCİK, A.; RIGO, E. C. S. Avaliação da Citotoxicidade de Membranas de Quitosana em Cultura de Células. **IX Encontro Latino Americano de Pós-graduação**. Universidade do Vale do Paraíba. 2009.

GULREZ, S. K. H.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. **Progress in Molecular and Environmental Bioengineering – From Analysis and Modeling to Technology Applications**, v. 5, p. 117-150, 2011.

HAACK, M. S. **Análise de Materiais por Espectroscopia no Infravermelho Dentro do Sistema de Gestão de Qualidade conforme ABNT NBR ISO/IEC 17025**. 2010. 50 f.

Monografia (Graduação em Química) - Instituto de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

HAMIDI, M.; AZADI, A.; RAFIEI, P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Review**; v. 60, n.15, p. 1639-1649, 2008.

HOFFMAN, A. S. "Intelligent" polymers in medicine and biotechnology. **Macromolecular Symposia**, v. 98, n. 1, p. 645-664, 1995.

HOFFMAN, A. S. Applications of Thermally Reversible Polymer and Hydrogels in Therapeutics and Diagnostics. **Journal of Controlled Release**, v. 6, p. 297-305, 1987.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 43, p. 3-12, 2002.

HORN, M. M. **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades**. 2012. 147 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

HUMMEL, D. O. **Atlas of Plastics Additives: Analysis by Spectrometric Methods**. Ed. 1, 539p., New York, 2002, Springer Berlin Heidelberg. Infrared Spectrometry, p. 9-54.

HUTMACHER, D. W.; TEOH, S. H.; ZEIN, I.; NG, K. W.; SCHANTZ, J. T.; LEAHY, J. C. Design and Fabrication of a 3D Scaffold for Tissue Engineering Bone. **Synthetic Bioabsorbable Polymers for Implants**, STP 1396, C. M. Agrawal, J. E. Parr, and S. T. Lin, Eds., **American Society for Testing and Materials**, West Conshohocken, PA, 2000.

IGE, O. O.; UMORU, L. E.; ARIBO, S. Natural Products: A Minefield of Biomaterials. **International Scholarly Research Network Materials Science**, v. 2012, p. 1-20, 2012.

KACURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; SASINKOVÁ, V.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 195-203, 2000.

KAMOUN, E. A.; CHEN, X.; ELDIN, M. S. M.; KENAWY, E. S. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 1-14, 2015.

LEONG, K.-F.; LIU, D.; CHUA, C.-K. Tissue Engineering Applications of Additive Manufacturing. **Comprehensive Materials Processing**, p. 251-264, 2014.

LIMA, A.; GASETTA, D.; MAGINI, M. R. R. Hidrogéis produzidos por fotointercruzamento de cadeias de dextrana: comportamento de solubilidade e inchamento em diversos solventes. **Revista Univap**, v. 13, n. 24, p. 19-22, 2009.

LIMA, L. K. S.; ARAÚJO, A. E. Características Gerais do Angico, 2011. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/artigos/características-gerais-do-angico/63228/>>. Acesso em: 05 out. 2013.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*. Embrapa Florestal (CNPq). Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2ª ed., v. 2, 2002. 368 f.

MACHADO, R. B.; NETO, M. B. R.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. Estimativas de perdas da área do Cerrado brasileiro. **Conservação Internacional**, 2004, 23p. Disponível em: <<http://www.conservation.org.br/arquivos/RelatDesmatamCerrado.pdf>>. Acesso em: 09 set. 2014.

MALI, S.; SAKANAKA, L. S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 283-289, 2005.

MANSUR, H. S.; COSTA JÚNIOR, E. S.; MANSUR, A. A. P.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Cytocompatibility evaluation in cell-culture systems of chemically crosslinked chitosan/PVA hydrogels. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, p. 1574-1583, 2009.

MANSUR, H. S.; SADAHIRA, C. M.; SOUZA, A. N.; MANSUR, A. A. P. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Materials Science and Engineering: C**, v. 28, p. 539-548, 2008.

MARTINO, V. P.; JIMÉNEZ, A.; RUSECKAITE, R.; AVÉROUS, L. Structure and properties of clay nano-biocomposites based on poly(lactic acid) plasticized with polyadipates. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 22, p. 2206-2213, 2011.

MATET, M.; HEUZEY, M.-C.; POLLET, E.; AJJI, A.; AVÉROUS, L.; Innovative thermoplastic chitosan obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 241-251, 2013.

MINCHEVA, R.; MANOLOVA, N.; RASHKOV, I. Bicomponent aligned nanofibers of N-carboxyethylchitosan and poly(vinyl alcohol). **European Polymer Journal**, v. 43, p. 2809-2818, 2007.

MINCHEVA, R.; MANOLOVA, N.; SABOV, R.; KJURKCHIEV, G.; RASHKOV, I. Hydrogels from chitosan crosslinked with poly(ethyleneglycol) diacid as bone regeneration materials. **e-Polymers**, n. 058, 2004.

MMA – **MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 10 out. 2014.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; LINS-NETO, E. M. F.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **J. Ethnopharmacol**, v. 105, p. 173-186, 2006.

MOREIRA, P. S. V.; RODRIGUES, T.; RODRIGUES, F. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos para utilização como adesivos cutâneos. Universidade de Mogi das Cruzes, 2010.

MORETÃO, M. P.; BUCHI, D. F.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M.; OLIVEIRA, M. B. M. Effect of na acidic heteropolysaccharide (ARAGAL) from the gum of *Anadenanthera colubrina* (Angico branco) on peritoneal macrophage functions. **Immunology Letters**, v. 89, p. 175-185, 2003.

MORETÃO, M. P.; ZAMPRONIO, A. R.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M.; OLIVEIRA, M. B. M. Induction of secretory and tumoricidal activities in peritoneal mocrphages activated by na acidic heteropolysaccharide (ARAGAL) from the gum of *Anadenanthera colubrine* (Angico branco). **Immunology Letters**, v. 93, p. 189-197, 2004.

MOTA, R. D. P. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blendas poliméricas de amido de Lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de Fruto-do-lobo (*Solanum lycocarpum St. Hill*)**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2009.

NAGATANI, T.; SAITO, S.; SATO, M.; YAMADA, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. **Scanning Microscopy**, v. 11, p. 901-909, 1987.

NESSEEM, D. I.; EID, S. F.; EL-HOUSENY, S. S. Development of novel transdermal self-adhesive films for tenoxicam, an anti-inflammatory drug. **Life Sciences**, v. 26, n. 13, p. 430-438, 2011.

NETO, C. G. T.; DANTAS, T. N. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 2630-2636, 2005.

OLIVEIRA, D. A.; PIETRAFESA, J. P.; BARBALHO, M. G. S. Manutenção da Biodiversidade e o *Hotspots* Cerrado. **Caminhos de Geografia**, v. 9, n. 26, p. 101-114, 2008.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. **Centro de Tecnologia de Embalagens – CETEA**. Campinas, 1996. 219p.

OLIVEIRA, M. A. **Modificação Química da Goma do Angico (*Anadenanthera macrocarpa Benth*): utilização como adsorvente de metais pesados**. 2005. 75 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

ORÉFICE, Rodrigo Lambert. Materiais poliméricos – ciência e aplicação como biomateriais. In: **Biomateriais: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Ed. Cultura Médica, 2006. 530p.

PASCOAL, A. M.; DiMEDEIROS, M. C. B.; BATISTA, K. A.; LELES, M. I. G.; LIÃO, L. M.; FERNANDES, K. F. Extraction and chemical characterization of starchfrom *S. lycocarpum* fruits. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1304-1310, 2013.

PASSATORE, C. R. **Química dos Polímeros**. **Escola Técnica Estadual Tiquatira**, p. 72-77, 2013.

PAWLEY, James. The Development of Field-Emission Scanning Electron Microscopy for Imaging Biological Surfaces. **SCANNING**, v. 19, p. 324-336, 1997.

PEPPAS, N. A.; HUANG, Y.; TORRES-LUGO, M.; WARD, J. H.; ZHANG, J. Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 2, p. 9-29, 2000.

PSALTIKIDIS, E. M.; LEICHSENRING, M. L.; NAKAMURA, M. H. Y.; BUSTORFF-SILVA, J. M.; PASSERI, L. A.; VENÂNCIO, S. I. Desinfetantes de Alto Nível Alternativos ao Glutaraldeído para Processamento de Endoscópios Flexíveis. **Cogitare Enferm.**, v. 19, n. 3, p. 465-474, 2014.

PSOMIADOU, E., ARVANITTOYANNIS, E.; YAMAMOTO, N. Edible films made from corn starch, celluloses and sugars and glycerol, Part 2. **Carbohydr. Polym.** v. 31, p. 193-204, 1997.

QIU, Y.; PARK, K. Environment Sensitive Hydrogels for Drug Delivery Systems. **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 53, p. 321-339, 2001.

RABELLO, M. S.; DE PAOLI, M. A. **Aditivaco de Termoplásticos**. Artliber Editora. São Paulo, 2013.

RABELLO, Marcelo Silveira. **Aditivaco de Polímeros**. Artliber Editora, São Paulo, 2000.

RANADE, G. R.; NADGIR, V. M.; PLANK, C. A.; LAUKHUF, W. L. S. Transient sorption of sulfur dioxide in epoxy resin of aliphatic diglycidyl ether. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 28, p. 201-207, 2003.

RANGEL, J. L. Angico Gum. **Revista Química Industrial**, v. 12, p. 16-18, 1943.

RASIA, G. M.; SILVA, S. P.; SOARES, R. M. D. Hidrogéis de poli (lcool vinílico): parte I – síntese e caracterizaco. 12^o Congresso Brasileiro de Polímeros. Florianópolis, 2013.

RIBEIRO, P. R. C. C.; RIBEIRO, J. J.; NETO, A. R. S.; ROCHA, J. R. P.; CORTE, I. S. Métodos de recuperao de mata ciliar como proposta de recuperao de nascentes no cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15, p. 1866-1882, 2012.

RIGO, L. N. **Desenvolvimento e caracterizaco de filmes comestíveis**. 2006. 130 f. Dissertao (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim / RS, 2006.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 603-632, 2006.

RODRIGUES, A. C. C.; OSUNA, J. T. A.; QUEIROZ, S. R. O. D.; RIOS, A. P. S. Efeito do substrato e luminosidade na germinao de *Anadenanthera columbrina* (Fabaceae, Mimosoideae). **Revista rvore**, v. 31, n. 2, p. 187-193, 2007.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste in vitro de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

SANTOS, A. P. S. **Extração e Caracterização do amido do fruto-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil) e elaboração de filmes biodegradáveis**. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2009.

SARTORI, C. J. **Avaliação dos teores de compostos fenólicos nas cascas de *Anadenanthera peregrina* (Angico-vermelho)**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

SHANG, L.; ZHAN, S.; DU, H.; VENKATRAMAN, S. S. A novel approach for the control of drug release rate through hydrogel membrane: I. Effect of drug immobilization on drug release rate by copolymerization method. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, p. 715-723, 2007.

SHIRAI, M. A.; MALI, G. S.; YAMASHITA, F.; GARCIA, P. S.; MULLER, C. M. O. Development of biodegradable flexible films of starch and poly(lactic acid) plasticized with adipate or citrate esters. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 19-22, 2013.

SILVA FILHO, R. R.; Di-MEDEIROS, M. C. B.; BATISTA, K. A.; FERNANDES, K. F. Uso da goma de angico em substituição ao ágar em meio de cultura. In: CONGRESSO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – IX COMPEEX, 2012, Goiânia. *Anais*. Universidade Federal de Goiás, 2012, p. 4601-4615.

SILVA, A. M.; MORAES, M. L. T.; BUZETTI, S. Propriedades químicas de solo sob reflorestamento ciliar após 20 anos de plantio em área de cerrado. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.35, n.1, p.97-106, 2011.

SILVA, E. M. **Produção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis de Amido de Pinhão**. 2011. 37 f. Monografia (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

SILVA, F. E. F.; DI-MEDEIROS, M. C. B.; BATISTA, K. A.; FERNANDES, K. F. PVA/Polysaccharides Blended Films: Mechanical Properties. **Journal of Materials**, v. 2013, p. 1-6, 2013.

SILVA, G. G. D.; SOBRAL, P. J. A.; CARVALHO, R. A.; BERGO, P. V. A.; MENDIETA-TABOADA, O.; HABITANTE, A. M. Q. B. Biodegradable Films Based on Blends of Gelatin and Poly (Vinyl Alcohol): Effect of PVA Type or Concentration on Some Physical Properties of Films. **J. Polym. Environ**, v. 16, p. 276-285, 2008.

SILVA, I. D. V. **Preparação e caracterização de blendas formadas por goma xantana e poli (álcool vinílico) para aplicação na área de liberação controlada de fármacos**. 2014. 65 f. Monografia (Bacharel em Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

SILVA, J. A.; APOLINÁRIO, A. C.; SOUZA, M. S. R.; DAMASCENO, B. P. G. L.; MEDEIROS, A. C. D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 3, p. 125-131, 2013.

SILVA, J. A.; RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. Composição e Propriedades Reológicas da Goma do Angico (*Anadenanthera Macrocarpa Benth*). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 98, p. 34-40, 1998.

SILVA, K. O. **Avaliação das atividades antimicrobiana, aderência, antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan**. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. Ed.6, Rio de Janeiro. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2000. 460p.

SOBRAL, P. J. A. Influencia da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

SOBRAL, P. J. A.; GARCIA, F. T.; HABITANTE, A. M. Q. B.; MONTERREY-QUINTERO, E. S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nylo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 3, p. 255-262, 2004.

SOBRINHO, C. R. W. **Determinação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos da casca do caule de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Von Reis Alt. (Angico-de-carço)**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

SOTO, D.; OLIVA, H. Métodos para preparar hidrogéis químicos y físicos basados em almidón: una revisión. **Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales**, v. 32, n. 2, p. 154-175, 2012.

SOUSA, G. T. O.; AZEVEDO, G. B.; SOUSA, J. R. L.; MEWS, C. L.; SOUZA, A. M. Incorporação de polímero hidrorretentor no substrato de produção de mudas de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.16; p. 2013.

STAMATIALIS, D. F.; PAPENBURG, B. J.; GIRONÉS, M.; SAIFUL, S.; BETTAHALLI, S. N. M.; SCHMITMEIER, S.; WESSLING, M. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering. **Journal of Membrane Science**, v. 308, p. 1-34, 2008.

SUYATMA, N. E.; TIGHZERT, L.; COPINET, A. Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical, Thermal, and Surface Properties of Chitosan Films. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 3950-3957, 2005.

SVENDSEN, C.; SPURGEON, D. J.; HANKARD, P. K. A review of lysosomal membrane stability measured by neutral red retention: Is it a workable earthworm biomarker. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, p. 20-29, 2004.

TAKATSUI, F. **Sistema CIE Lab: Análise Computacional de fotografias**. 2011. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BRITO, M. F.; DUARTE, M. D.; BRUST, L. A. C. Estudos experimentais com plantas cianogênicas em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 84-90, 1999.

TOSIN, F. F. S. **Polissacarídeos da Goma de Exsudato e da Polpa dos Frutos de *Prunus persica*: Caracterização Estrutural e Análises Reológicas**. 2008. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências-Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, p. 372-376, 2009.

VAN DEN BROEK, L. A. M.; KNOOP, R. J. I.; KAPPEN, F. H. J.; BOERIU, C. G. Chitosan films and blends for packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 237-242, 2015.

VAZ, P. D. S. **Investigação da utilização de filme polimérico obtido a partir de resíduos de cápsulas de gelatina e carboximetilcelulose na obtenção de bioprodutos diversos**. 2014. 37 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. 198 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

WEBER, C. R.; SOARES, C. M. L.; LOPES, A. B. D.; SILVA, T. S.; NASCIMENTO, M. S.; XIMENES, E. C. P. A. *Anadenanthera colubrina*: um estudo do potencial terapêutico. **Rev. Bras. Farm.**, v. 92, n. 4, p. 235-244, 2011.

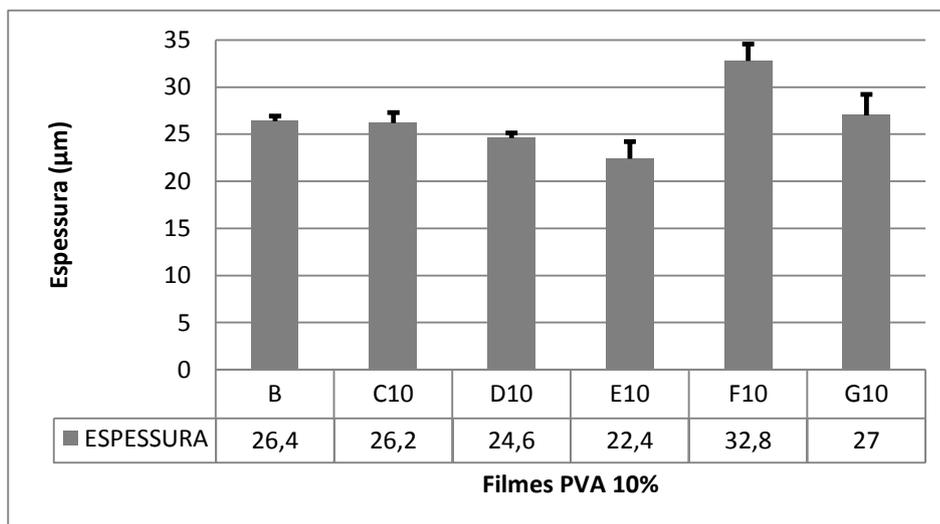
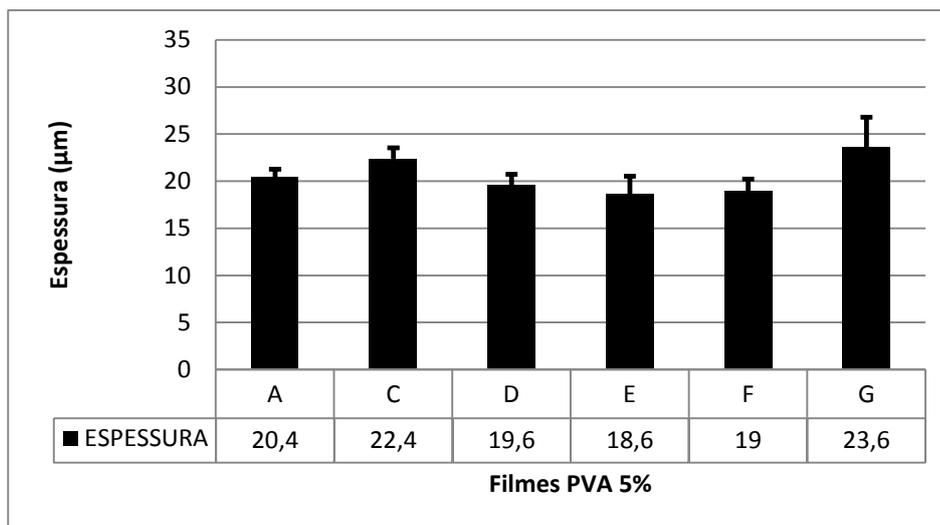
WEI, W.; WANG, L-Y.; YUAN, L.; YANG, X-D.; SU, Z-G.; MA, G-H. Bioprocess of uniform-sized crosslinked chitosan microspheres in rats following oral administration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 878-886, 2008.

WU, J-Y.; LIU, S-Q.; HENG, P. W.; YANG, Y-Y. Evaluating Proteins Release from, and their interactions with, thermosensitive poly(N-Isopropylacrylamide) Hydrogels. **Journal of Controlled Release**, v. 102, p. 361-372, 2005.

YOUNG, J-J.; CHENG, K-M.; TSOU, T-L.; LIU, H-W.; WANG, H-J. Preparation of cross-linked hyaluronic acid films using 2-chloro-1-methylpyridinium iodide or water soluble 1-ethyl- (3,3-dimethylaminopropyl) carbodiimide. **J. Biomater Science Polymers**, v.15, n.6, p. 767-780, 2004.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; TELES, A. C.; PRENTICE-HERNÁNDES, C. Filmes biodegradáveis à base de proteínas miofibrilares de pescado. **Brazilian Journal of Food Technology**, IV SSA, p. 53-57, 2012.

APÊNDICES

Figura 1 – Espessura dos filmes em micrometros (μm)

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014

Tabela 1 – Conteúdo de água nos filmes – 1a (PVA 5%) e 1b (PVA 10%)

1a			
FILMES PVA 5%	PESO DO FILME INTUMECIDO	PESO DO FILME SECO	CONTEÚDO DE ÁGUA (%)
A	1,88 ± 0,01	0,10 ± 0,01	94,68 ^{A,a,b} ± 0,50
C	1,49 ± 0,03	0,15 ± 0,03	89,93 ^{B,c} ± 1,54
D	1,57 ± 0,04	0,16 ± 0,03	89,81 ^{B,c} ± 1,74
E	1,68 ± 0,03	0,17 ± 0,01	89,88 ^{B,c,d} ± 0,44
F	1,87 ± 0,03	0,16 ± 0,03	91,44 ^{A,B,a,b,c} ± 1,65
G	1,47 ± 0,04	0,21 ± 0,04	85,71 ^{C,d} ± 2,18

1b			
FILMES PVA 10%	PESO DO FILME INTUMECIDO	PESO DO FILME SECO	CONTEÚDO DE ÁGUA (%)
B	2,49 ± 0,02	0,13 ± 0,02	94,78 ^{A,a} ± 0,57
C10	1,91 ± 0,04	0,18 ± 0,05	90,58 ^{B,b,c} ± 2,24
D10	1,94 ± 0,03	0,18 ± 0,04	90,72 ^{B,b,c} ± 1,81
E10	1,95 ± 0,07	0,20 ± 0,03	89,74 ^{B,c} ± 0,96
F10	2,00 ± 0,03	0,22 ± 0,03	89,00 ^{B,c} ± 1,39
G10	2,57 ± 0,03	0,25 ± 0,03	90,27 ^{B,a,b,c} ± 0,88

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Tabela 2 – Ensaio mecânicos

AMOSTRA DOS FILMES	FORÇA (N)	TENSÃO = F/A (Pa)	MÓD. ELASTICIDADE (MPa)	ELONGAÇÃO (%)	mm
A	0,76 ^{D,h} ± 0,09	841,74 ^{D,h} ± 96,83	21979,97 ^{C,c} ± 684,47	3,82 ^{B,g} ± 0,34	2,29 ^{B,g} ± 0,20
B	0,69 ^{E,h} ± 0,07	761,22 ^{E,h} ± 73,06	5682,88 ^{D,h} ± 311,04	13,45 ^{E,g,h} ± 1,84	8,07 ^{B,g,f} ± 1,10
C	2,63 ^{C,g} ± 0,21	2921,11 ^{C,g} ± 238,43	31519,06 ^{A,a} ± 1324,98	9,26 ^{B,g} ± 0,36	5,55 ^{B,g} ± 0,22
C10	9,49 ^b ± 0,31	10541,30 ^{B,b} ± 342,70	28357,32 ^{A,a,b} ± 412,44	37,18 ^{C,D,d,e} ± 1,52	22,31 ^{B,e,d} ± 0,91
D	2,69 ^{C,g} ± 0,18	2985,74 ^{C,g} ± 196,52	26668,45 ^{B,b} ± 2076,18	11,22 ^{B,g} ± 0,62	6,73 ^{B,g} ± 0,37
D10	11,32 ^{A,a} ± 0,19	12582,81 ^{A,a} ± 210,31	29058,31 ^{A,a,b} ± 1042,73	43,32 ^{C,c,d,e} ± 0,85	25,99 ^{B,C,c,d,e} ± 0,51
E	3,74 ^{B,e} ± 0,36	4160,07 ^{B,e} ± 399,94	8951,06 ^{E,g,h} ± 2449,18	48,47 ^{A,b,c,d} ± 11,98	29,08 ^{A,b,c,d} ± 7,19
E10	3,70 ^{D,e,f} ± 0,36	4116,59 ^{D,e,f} ± 404,34	14811,90 ^{B,d,e} ± 254,12	27,83 ^{D,e,f} ± 3,20	16,70 ^{C,f,e} ± 1,92
F	2,80 ^{C,f,g} ± 0,12	3108,00 ^{C,f,g} ± 137,23	16440,17 ^{D,d} ± 458,74	18,93 ^{B,f,g} ± 1,36	11,36 ^{B,g,f} ± 0,81
F10	6,96 ^{C,c} ± 0,67	7728,81 ^{C,c} ± 742,15	13472,68 ^{B,C,d,e,f} ± 1126,40	57,39 ^{B,b,c} ± 3,12	34,43 ^{A,b,c} ± 1,87
G	5,90 ^{A,a,d} ± 0,45	6564,37 ^{A,a,d} ± 502,70	10951,65 ^{E,g,f} ± 1239,59	60,85 ^{A,b} ± 12,16	36,51 ^{A,b} ± 7,29
G10	9,15 ^{B,b} ± 0,26	10168,67 ^{B,b} ± 287,29	12541,49 ^{C,e,f,g} ± 1039,74	81,48 ^{A,a} ± 7,59	48,89 ^{B,a} ± 4,56

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Tabela 3: Características relacionadas à cor e opacidade dos hidrogéis

Filme	L*	a*	b*	Opacidade	ΔE
A	83,38 ^{A,a,b,c} ± 0,79	1,43 ^{C,D,d,e,f} ± 0,48	36,47 ^{B,b,c,d} ± 2,28	23,04 ^{A,B,a,b,c} ± 2,09	37,62 ^{C,c,d,e,f} ± 2,05
B	84,67 ^{A,a} ± 2,44	-0,56 ^{C,e,f} ± 1,67	36,46 ^{A,B,C,b,c,d} ± 3,68	23,66 ^{A,B,C,a,b,c} ± 4,96	37,21 ^{B,C,d,e,f} ± 4,12
C	79,99 ^{A,B,a,b,c,d} ± 0,92	4,50 ^{B,C,b,c,d} ± 0,75	37,82 ^{B,b,c} ± 0,67	21,83 ^{A,b,c} ± 1,19	40,31 ^{C,c,d,e} ± 0,63
C10	82,36 ^{A,B,a,b} ± 1,10	-0,23 ^{C,f} ± 0,55	32,94 ^{C,d} ± 1,77	21,57 ^{B,C,b,c} ± 1,71	34,54 ^{C,f} ± 1,96
D	76,79 ^{C,d} ± 2,39	6,03 ^{B,b,c} ± 2,63	45,32 ^{A,a} ± 1,73	23,13 ^{A,b,c} ± 3,60	48,66 ^{B,a,b} ± 2,64
D10	78,57 ^{C,c,d} ± 1,66	3,93 ^{B,c,d} ± 1,53	40,15 ^{A,b} ± 2,19	28,52 ^{A,a} ± 4,32	42,90 ^{A,B,c,d} ± 2,63
E	80,42 ^{A,B,a,b,c,d} ± 2,38	-0,11 ^{D,e,f} ± 0,93	36,21 ^{B,b,c,d} ± 3,20	20,83 ^{A,B,b,c} ± 1,79	38,29 ^{C,d,e,f} ± 3,80
E10	79,89 ^{B,C,b,c,d} ± 2,30	-0,81 ^{C,f} ± 1,03	34,05 ^{B,C,c,d} ± 3,80	19,51 ^{B,C,c} ± 1,94	36,49 ^{C,e,f} ± 4,33
F	78,03 ^{B,C,c,d} ± 2,83	3,29 ^{C,c,d,e} ± 1,80	39,27 ^{B,b} ± 3,66	21,90 ^{A,B,b,c} ± 3,58	42,39 ^{C,b,c,d,e} ± 4,60
F10	75,05 ^{D,e} ± 2,56	6,31 ^{A,B,b,c} ± 2,59	37,65 ^{A,B,b,c} ± 3,69	24,93 ^{A,B,a,b} ± 2,50	42,45 ^{A,B,c,d} ± 4,73
G	69,01 ^{D,f} ± 0,68	9,48 ^{A,a} ± 0,87	46,86 ^{A,a} ± 1,19	18,45 ^{B,c} ± 1,11	53,92 ^{A,a} ± 1,32
G10	73,81 ^{D,e} ± 4,56	7,15 ^{A,a,b} ± 3,68	39,00 ^{A,b} ± 3,76	24,66 ^{A,B,a,b} ± 4,62	44,48 ^{A,b,c} ± 5,62

Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

As análises pelo teste de Tukey de todas as amostras foram feitas em triplicata, sendo identificadas por letras iguais, não apresentando diferença significativa.

Figura 2: Ensaio mecânico – Filmes PVA 5%
 Concentrações de Pegico: A: 0%; C: 0.5%; D: 1%; E: 2%; F: 3%; G: 4%

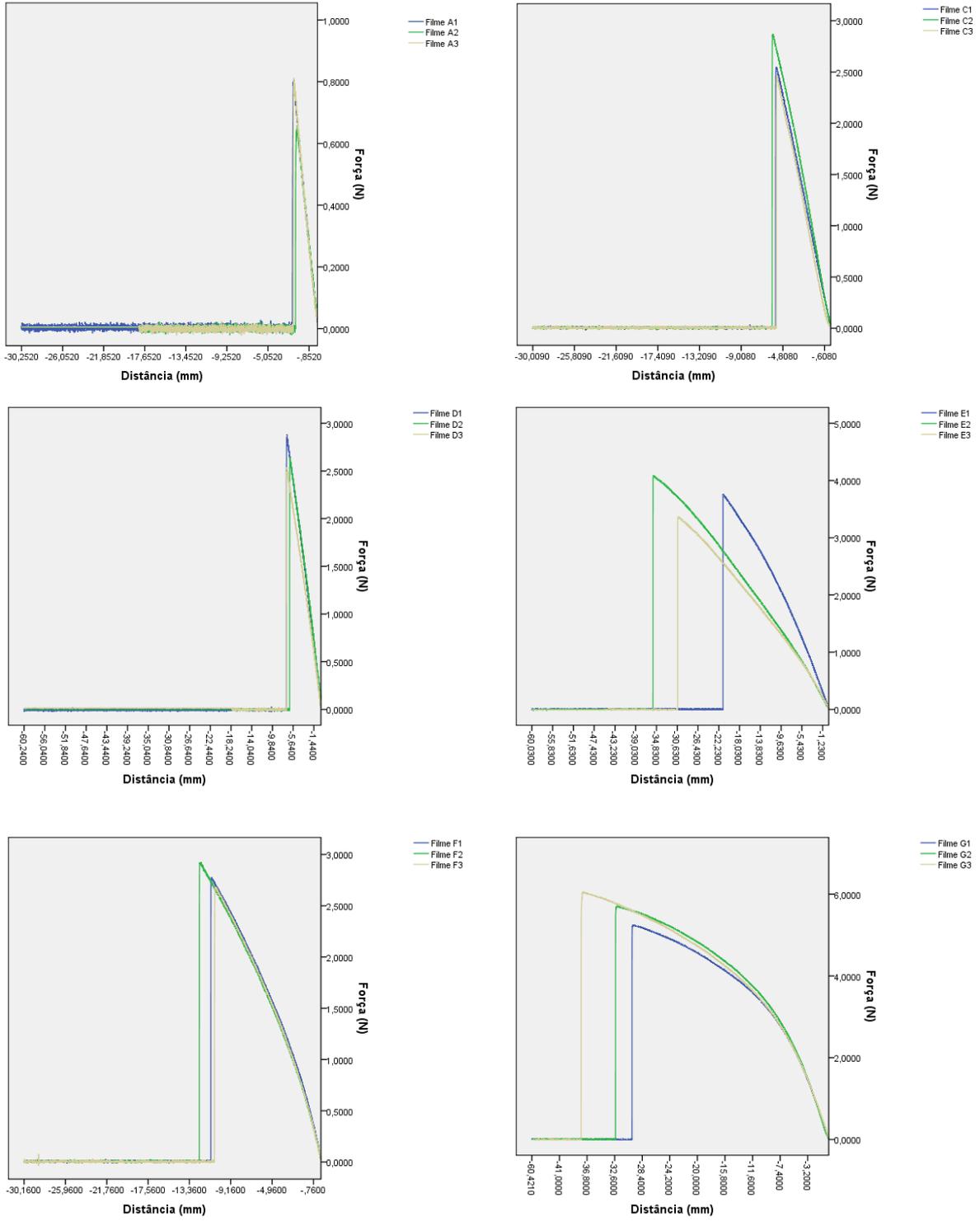


Figura 3: Ensaio mecânico – Filmes PVA 10%
 Concentrações de Pegico: B: 0%; C10: 0.5%; D10: 1%; E10: 2%; F10: 3%; G10: 4%

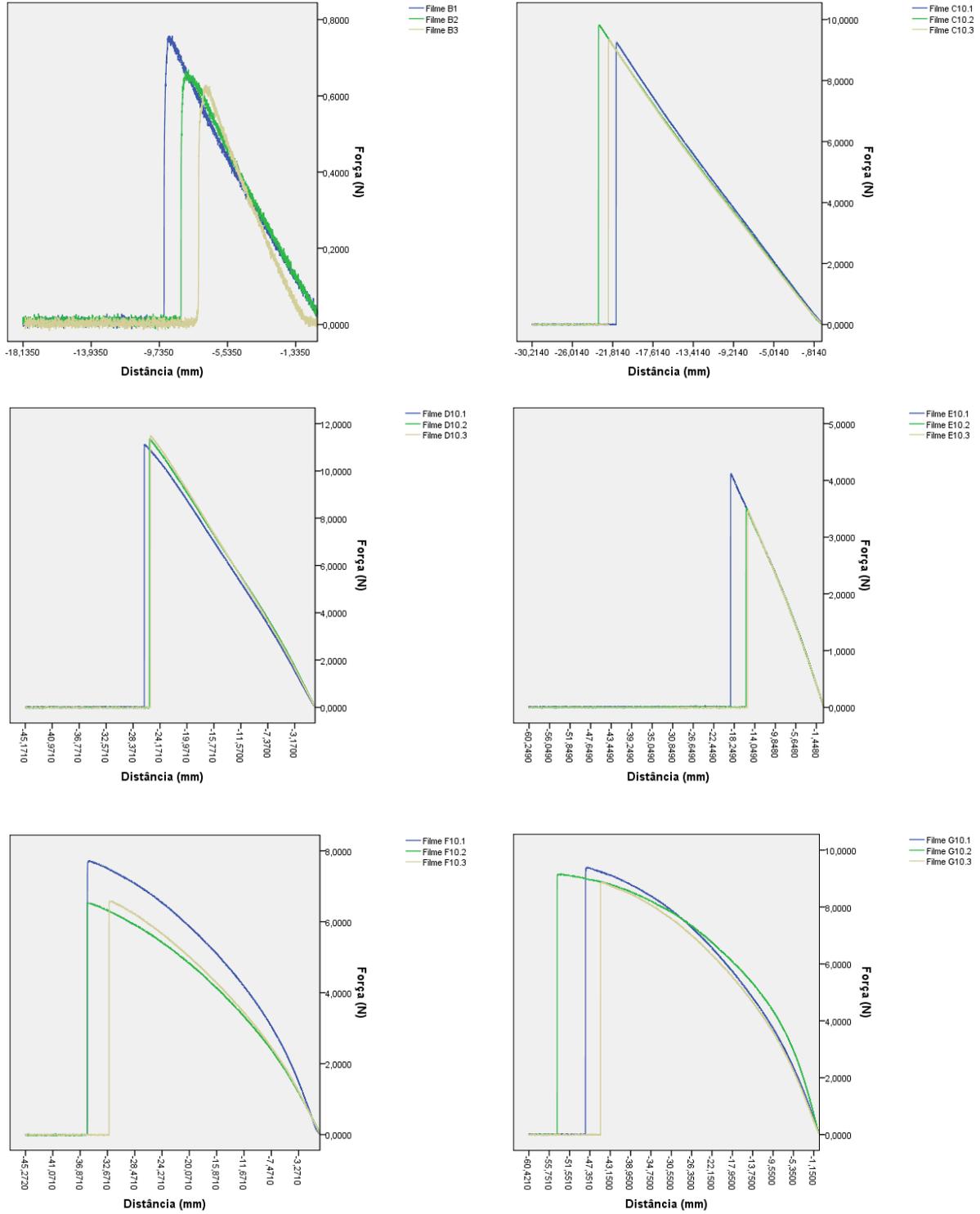


Figura 4: Exudatos do Angico Vermelho



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 5: Extração do Pegico – 1ª fase (dissolução sob agitação)



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 6: Extração do Pegico – 2ª fase (filtração)



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 7: Extração do Pegico – 3ª fase (precipitação em álcool absoluto)



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 8: Extração do Pegico – 4ª fase (lavagem com álcool absoluto e centrifugação)



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 9: Extração do Pegico – 5ª fase (secagem em dessecador à vácuo)



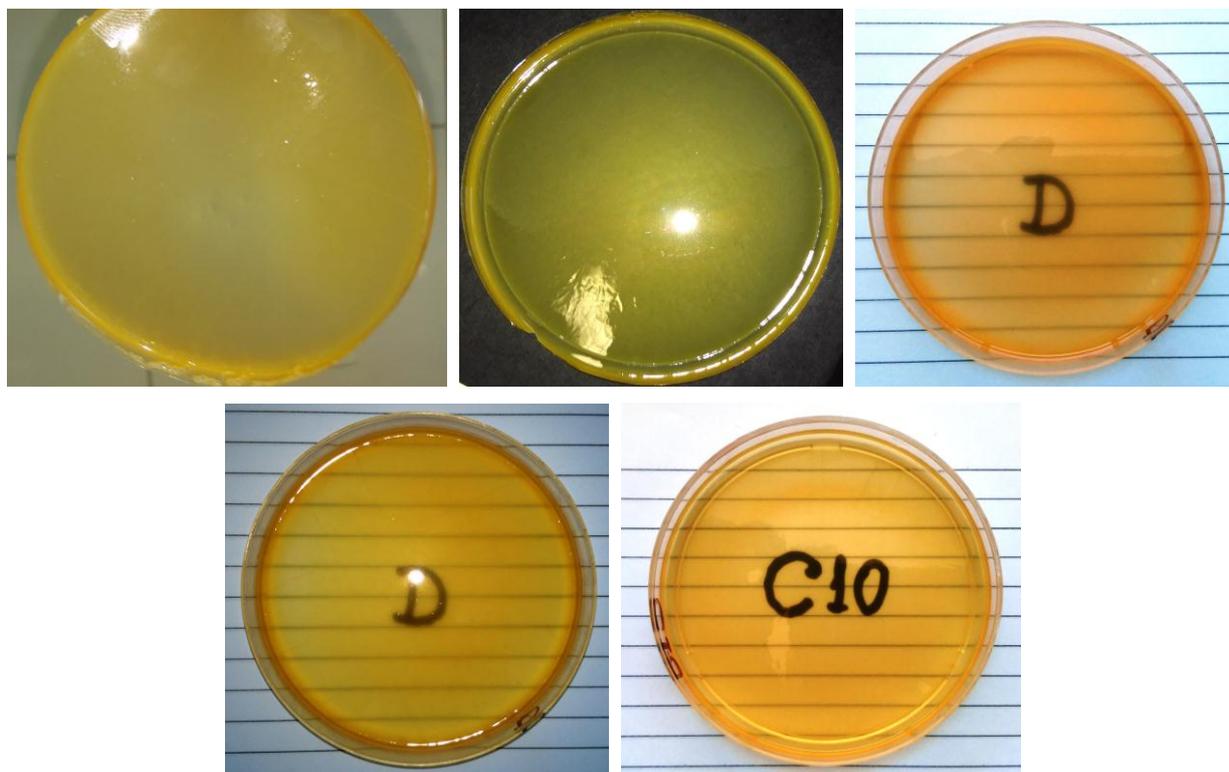
Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 10: Extração do Pegico – 6ª fase (trituração e peneiração)



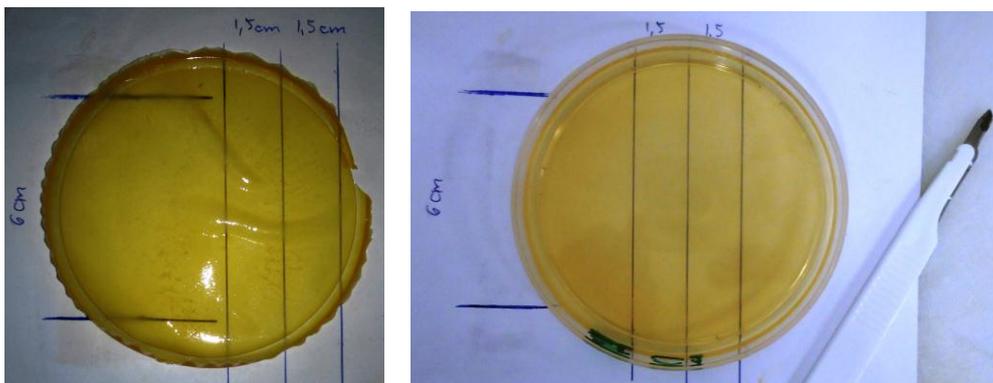
Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 11: Filmes



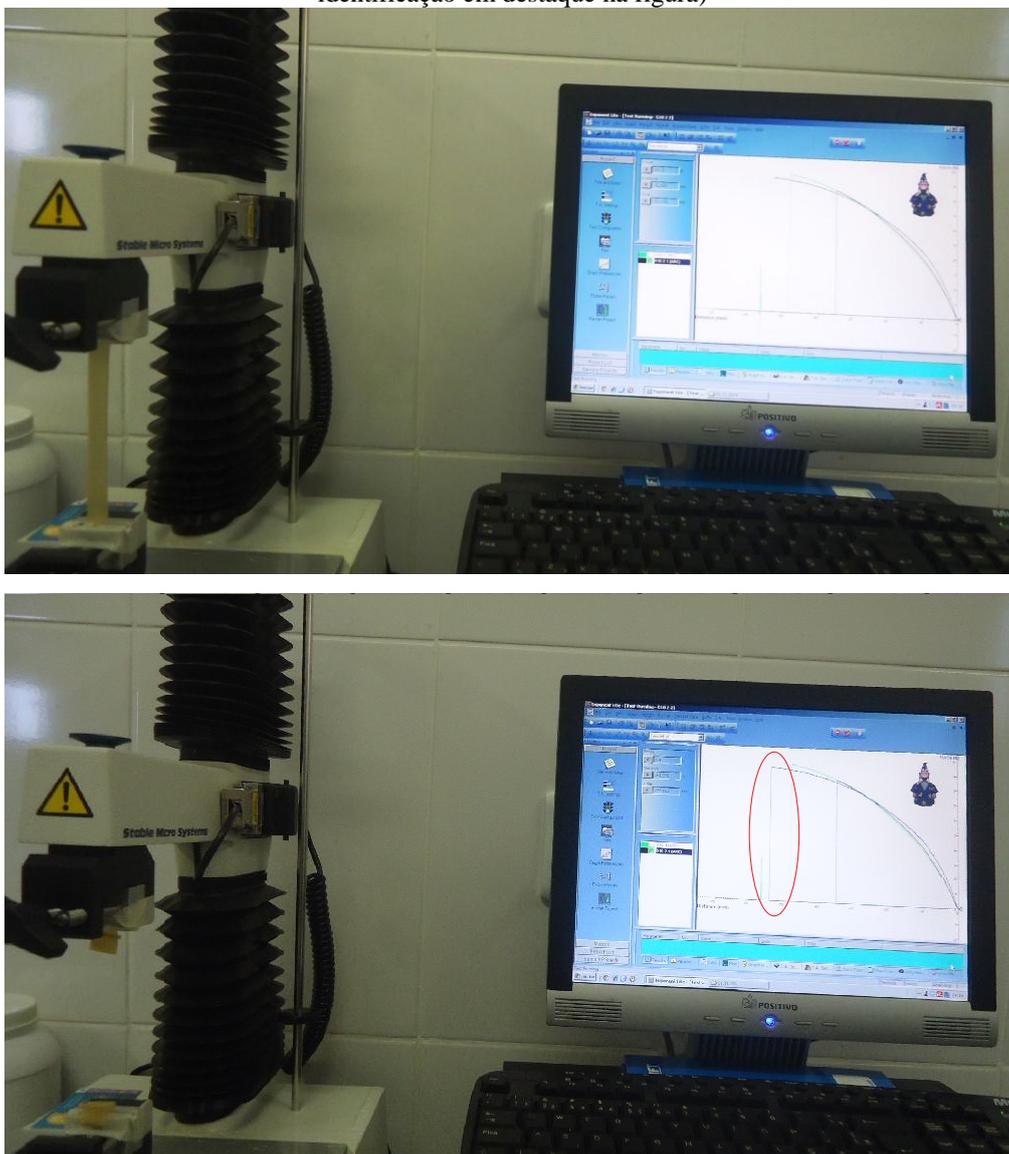
Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 12: Preparação dos filmes para os ensaios mecânicos



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.

Figura 13: Texturômetro para os testes de tração mecânica dos filmes (A: filme íntegro; B: filme rompido, com identificação em destaque na figura)



Fonte: Elaboração do autor, Goiânia, 2014.