



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA

DANIELLE GOMES DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
MORFOLÓGICA DE BIOFILMES DE QUITOSANAS NACIONAIS**

CAMPINA GRANDE - PB

2016

DANIELLE GOMES DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
MORFOLÓGICA DE BIOFILMES DE QUITOSANAS NACIONAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento à exigência para obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima

CAMPINA GRANDE - PB

2016

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

O48d Oliveira, Danielle Gomes de.

Desenvolvimento e caracterização físico-química e morfológica de biofilmes de quitosanas nacionais [manuscrito] / Danielle Gomes de Oliveira. - 2016.

41 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2016.

"Orientação: Profa. Dra. Rosemary Sousa Cunha Lima, Departamento de Farmácia".

"Co-Orientação: Profa. Ma. Bruna Pereira da Silva, Departamento de Farmácia".

1. Biopolímero. 2. Biomateriais. 3. Biofilmes. 4. Quitosana.

I. Título.

21. ed. CDD 615.1

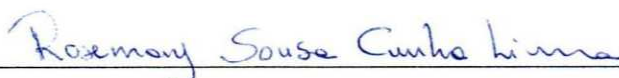
DANIELLE GOMES DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
MORFOLÓGICA DE BIOFILMES DE QUITOSANAS NACIONAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento à exigência para obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 30/05/2016

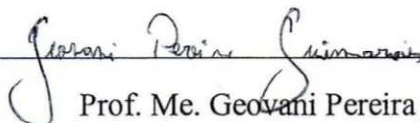
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Rosemary Sousa Cunha Lima

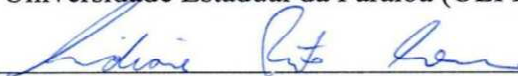
(Orientadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Geovani Pereira Guimarães

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.^a. Dr.^a. Lidiane Pinto Correia

Faculdade Maurício de Nassau (FMN)

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, aos meus pais,
Josemar e Iracema, ao meu irmão Daniel
e a meu amigo Davidson Marrony.

AGRADECIMENTOS

Ao meu **Deus**, por tudo!

À minha mãe **Iracema Gomes**, por me moldar a cada dia com seu amor, dedicação, confiança, fé e sabedoria. À meu pai **Josemar de Oliveira** (*in memorian*), por todo seu amor e ensinamentos em vida, saudades! À meu irmão **Daniel Oliveira** e a toda minha **família**, pela confiança e apoio de sempre.

À Minha turma da graduação em especial a **Caio Victor, Davidson Marrony, Géssica Galvão, Lucas Ferreira, Paulo André, Thamyres Dantas e Tiago Santos**, que tiveram papel fundamental nesta conquista.

À Professora Dr^a. **Rosemary Sousa Cunha Lima**, minha orientadora, um exemplo a seguir como pessoa e profissional, sempre dedicada, atenciosa e paciente. Obrigada por todos os seus ensinamentos.

À **Bruna Pereira**, minha co-orientadora, pelo carinho e contribuição científica ao longo da minha formação.

À **Paulo Dantas**, companheiro do Certbio, pelos ensinamentos e disponibilidade ao longo da minha formação.

Aos meus companheiros de iniciação científica **Demis Melo, Wesley Castro e Candice Lima** pela amizade, dedicação e incentivo.

Aos professores Dr^a. **Lidiane Pinto Correia** e Me. **Geovani Pereira Guimarães**, membros da banca examinadora, pelas valiosas contribuições.

“Nada é tão nosso quanto nossos sonhos.”

Nietzsche

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE BIOFILMES DE QUITOSANAS NACIONAIS

Danielle Gomes de Oliveira*

RESUMO

O biopolímero quitosana possui características e propriedades biológicas que favorecem a sua utilização em diversas áreas. Dentre as aplicações farmacêuticas, vem sendo utilizada na confecção de matrizes carreadoras de fármacos e regeneração tecidual. Neste contexto, este trabalho objetivou desenvolver e caracterizar biofilmes a base de quitosanas comerciais de dois fornecedores nacionais, aqui denominados A e B, visando aumentar a efetividade e aplicabilidade. As caracterizações envolveram técnicas como: Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (DRX), Análise Térmica, além de uma avaliação macro e microscópica. Os resultados mostraram que não foram constatadas diferenças morfológicas consideráveis em escala macro e microscópica. A técnica FTIR mostrou uma estrutura condizente com a quitosana, conforme descrito na literatura. Através da DRX e cálculo do índice de cristalinidade ficou constatado que o biofilme A apresentou-se mais amorfo que o B, revelando assim uma maior facilidade de degradação do material. De acordo com a termogravimetria, os dois materiais apresentaram perdas de massas similares, resultando em uma massa residual em torno de 30%. Na análise de Calorimetria Exploratória Diferencial, o biofilme A, apresentou um evento endotérmico mais intenso, atingindo valores de 587,45 J/g para o biofilme A e 264,1 J/g para B. Sendo assim, foi constatado que os biofilmes desenvolvidos apresentam um potencial para uso na tecnologia farmacêutica, mesmo apresentando especificidades diferenciadas, sendo o biofilme A mais indicado para preparações de degradação mais rápida e o biofilme B para uso em produtos condizentes com uma degradação mais lenta.

Palavras-chave: Biopolímero. Biomaterial. Quitosana.

* Aluna de Graduação em Farmácia na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.

1 INTRODUÇÃO

Segundo Vroman e colaboradores (2009), polímeros biodegradáveis e/ou biopolímeros, começaram a ser estudados, a partir de 1980. Eles podem ser agrupados em duas classes: naturais e sintéticos. Os de origem natural estão disponíveis, a partir de fontes renováveis, enquanto os sintéticos são derivados petrolíferos. São materiais nos quais a degradação resulta da ação de microrganismos, tais como fungos, bactérias, algas e outros fatores externos, gerando CO₂, CH₄, H₂O, componentes celulares e outras espécies de menor massa molar (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006). Os biopolímeros naturais possuem elevado potencial de aplicações, principalmente como biomateriais, como por exemplo, curativos para reparação tecidual, ceratopróteses córneas (TOCCE et al., 2012), fibras musculares de polímeros condutores, vacinas e carreadores de fármacos.

O termo biomaterial vem sendo definido como dispositivo que entra em contato com sistemas biológicos, com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas. Sua constituição química pode ser de origem sintética ou natural, assim como de materiais naturais quimicamente modificados (MORAES; PIRES; BIERHALZ, 2015). Podem ser disponibilizados em diferentes formatos e formas de apresentação, tais como adesivos, géis, cilindros, discos, micropartículas, grânulos, filmes, pós, plásticos, blendas, borrachas, fibras, entre outros (KOUTSOS, 2009; MIGUEL et al., 2013). Com isso, o termo biofilmes compreende à filmes ou membranas biodegradáveis, utilizados em sistemas biológicos para fins preventivos e terapêuticos.

A quitosana é um biopolímero rico em grupos amina, obtido da remoção parcial dos grupos acetamida, presentes na quitina, encontrada na composição estrutural de algas, artrópodes, essencialmente no exoesqueleto de camarão, lagostas, caranguejos e insetos (NEVES et al., 2013). Entretanto, a quitosana também pode ser obtida da biomassa micelial de alguns fungos (PINTO, 2014). Quando sua desacetilação supera o valor de 50%, o biopolímero torna-se solúvel em soluções aquosas ácidas e se comporta como um polieletrólito catiônico, devido à protonação dos grupos amina em presença de íons H⁺, sendo caracterizado como quitosana e não mais quitina (TOLAIMATEA et al., 2003).

O biopolímero de quitosana vem despertando uma atenção maior no meio científico, por apresentar atoxicidade, alergenicidade, versatilidade, biocompatibilidade,

degradabilidade, reatividade do grupo amino desacetilado, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, habilidade de quelação, capacidade adsorptiva, facilidade de formar géis e filmes, atividades antimicrobiana e antifúngica. (AZEVEDO et al., 2007; FRAGUÁS et al., 2015a; ASSIS; LEONI; NOVAES, 2007; OLIVEIRA, 2014). Com isso, pesquisadores trabalham no desenvolvimento e/ou otimização da quitosana e seus derivados, baseando-se em sua ampla faixa de aplicações nas áreas de alimentos, cosméticos, farmacêuticas, tecnológicas, biomédicas, entre outras. Dentre os estudos destacam-se para elaboração de biofilmes para auxiliar na regeneração tecidual, incluindo tendões (SANTANA et al., 2014; SANTANA, 2013), sangue, pele (SOUZA, 2014), músculos, ossos e nervos (OLIVEIRA, 2013) e preservação de alimentos (DIAS, 2013; PEELMAN et al., 2013; SILVA, 2015). No ramo farmacêutico é utilizada também na incorporação de fármacos e hormônios, tendo como exemplo, microcápsulas de quitosana para liberação controlada de progesterona (LEITE, 2014).

As características físico-químicas da quitosana conferem boa capacidade filmogênica, robustez mecânica e propriedade bioadesiva (MOURA, 2014), assim como, barreira moderada ao oxigênio, barreira ao dióxido de carbono e alta permeabilidade ao vapor de água, devido a sua natureza hidrofílica (MELO, 2014). Os biofilmes se tornaram atrativos aos pesquisadores devido as suas diversas propriedades citadas anteriormente, sendo estudadas em diversas áreas destacando-se no setor de inovação tecnológica, como exemplo, aplicação na plataforma de biossensores eletroquímicos (CORRÊA et al., 2014). O estudo das propriedades desses biofilmes pode resultar em melhoria no desempenho e também auxiliar, aprimorando novas configurações do mesmo.

No mercado brasileiro, há duas principais indústrias que produzem quitosana em larga escala, com apoio de centros de pesquisas vinculados à universidades, sendo uma do estado do Ceará e a outra do estado de Santa Catarina (SANTOS, 2004).

Os biofilmes produzidos a base de quitosana de diferentes fornecedores podem apresentar variações na sua formação, morfologia, cristalinidade, biodegradabilidade, estabilidade térmica entre outros, devido as diferentes características do fornecedor da matéria-prima. Sendo assim, realizar uma pesquisa que estabeleça uma comparação entre os biofilmes produzidos a partir de produtos nacionais, se torna útil para pesquisadores, indústrias farmacêuticas e público em geral, pelo acréscimo de informações que possam a vir esclarecer as especificações das matrizes poliméricas, ampliando seu campo de aplicabilidade.

Com base nos aspectos acima descritos, este trabalho teve como objetivo desenvolver biofilmes de quitosana a partir de matérias-primas comerciais nacionais. Caracterizando-os quanto a aspectos morfológicos e físico-químico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar biofilmes a base de quitosanas comerciais de dois fornecedores nacionais e estabelecer uma comparação entre estes materiais, visando sua utilização de maneira mais efetiva, no meio farmacêutico.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma avaliação morfológica dos biofilmes desenvolvidos.
- Comparar os grupos químicos funcionais dos biofilmes produzidos.
- Avaliar a cristalinidade dos biofilmes de quitosana avaliando a consequência da diferença de cristalinidade.
- Caracterizar o comportamento térmico dos biofilmes obtidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Polímeros biodegradáveis

Os polímeros biodegradáveis e/ou biopolímeros são classificados de acordo com sua fonte de obtenção, podendo ser principalmente provenientes de fontes naturais renováveis, como o amido e celulose, fontes animais, como a quitina e quitosana, denominados biopolímeros naturais ou os de origens fósseis, como a poliésteramidas e copoliésteres aromáticos, designados biopolímeros sintéticos (BRITO et al., 2011; SOUZA, 2014; SOUZA, 2015). As diferenças principais dos polímeros estão associadas a ampla variedade de arranjos estruturais tridimensionais (3D) e suas composições químicas (MIGUEL et al., 2013).

A biodegradação dos biopolímeros pode ocorrer sob a ação da temperatura, luz, dióxido de carbono, água, metano, compostos inorgânicos, sendo a ação enzimática de microrganismos (fungos e bactérias) o mecanismo predominante de decomposição. Apresentando-se necessárias condições favoráveis de temperatura, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio, para a atuação desses microrganismos, ou seja, as condições nas quais eles atuam estão relacionadas com todas as características do meio (LIMA; OKIMOTO, 2009; BRITO et al., 2011; TORO, 2015). A decomposição destes materiais depende também da estrutura química, massa molar, área superficial, impurezas dos mesmos, entre outros fatores (CHAGAS, 2012).

Muitos pesquisadores vêm se dedicando ao estudo de polímeros biodegradáveis, devido o menor impacto ambiental gerado, quando comparado a outros polímeros. Além da relativa abundância, grande variedade de composições associado com a possibilidade de modificações de suas propriedades, o que amplia sua aplicabilidade (MATSUI, 2007; COSTA, 2015). Os polímeros biodegradáveis quando utilizados nas áreas biomédicas são otimizados para apresentar uma degradação programada quando expostos a ambientes corpóreos, por mecanismos físico-químicos ou biológicos (RODRIGUES, 2013). Alguns destes polímeros possuem características intrínsecas que vem despertando interesses para as áreas biomédicas e farmacêuticas, como é o caso da quitosana, que possui biocompatibilidade e biodegradabilidade por enzimas, garantido sua metabolização por mecanismos fisiológicos (BESSA-JUNIOR; GONÇALVES, 2013; MATSUI, 2007).

3.2 Biomateriais

Os biomateriais são definidos como materiais de origens naturais ou sintéticas que atuam nos sistemas biológicos, para fins terapêuticos, diagnóstico, reparação e/ou reposição de tecidos, órgãos ou algumas funções exercidas por eles (SPIN-NETO et al., 2008; BISPO, 2009; SANTANA et al., 2014). Dentre os pré-requisitos essenciais para ser um biomaterial, encontra-se a biocompatibilidade com o organismo, definida pela capacidade do material apresentar resposta apropriada em contato com os sistemas biológicos, não devendo ocasionar reações tóxicas, inflamatórias e imunológicas (RODRIGUES, 2013; FRANCO, 2014). As propriedades físico-químicas, mecânicas, pureza, estabilidade, metodologia de obtenção, são alguns parâmetros também necessários serem avaliados, para considerar um material para aplicação como um possível biomaterial (RESENDE, 2014; SALAZAR, 2015).

Uma variedade de materiais vem sendo estudada objetivando aplicações biológicas, tendo destaque os polímeros naturais: quitina, quitosana, alginato, celulose, ácido hialurônico (RANGEL, 2012). Há um interesse especial, por essa classe de polímeros biodegradáveis, devido ao baixo custo, fácil acesso, versatilidade, além de possuírem boas características que se adequam as funções desejadas (MATSUI, 2007; MIGUEL et al., 2013; COSTA, 2015). Estes biomateriais são aplicados em diversas áreas da saúde, como a regeneração do tecido ósseo na ortopedia, implantes dentários na odontologia e os sistemas de liberação controlada de fármacos na tecnologia farmacêutica (RESENDE, 2014; GARCIA et al., 2015).

Os polímeros biodegradáveis considerados biomateriais encontram-se disponíveis nas formas de pós, adesivos, discos, géis, filmes, compósitos, blendas, cilindro, fibras, dentre outros (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; MIGUEL et al., 2013). Os filmes, denominados na área biomédica como biofilmes, são utilizados principalmente como carreadores de fármacos e hormônios, que segundo Corrêa e colaboradores (2014) são geralmente formados a partir da reorganização espontânea dos componentes em substrato sólido, levando à formação de multicamadas nanométricas. Pode-se associar sua formação também com as forças de adesão e coesão das interações moleculares nas estruturas poliméricas (MOURA, 2014).

3.3 Quitosana

Dentre os biopolímeros naturais, destaca-se a quitosana, proveniente da desacetilação parcial da quitina, presente em algumas algas e no exoesqueleto de alguns animais como camarões, siris caranguejos e insetos (CHAGAS, 2012). A quitosana também pode ser encontrada na parede celular de alguns fungos (CATÃO, 2012). Suas estruturas são diferenciadas através das proporções de unidades monoméricas, sendo a quitosana com maior quantidade de unidades 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose e menor número de unidades 2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosose, unidas por ligações glicosídicas β (1-4) (BASTOS, 2012). Considera-se quitosana o material obtido da quitina com grau de desacetilação superior à 50%, ou seja, quando a conversão de grupos acetil em grupamentos amina for superior à 50% (FERNANDES, 2009; BRANGEL, 2011). A Figura 1 ilustra a estrutura química da quitina e da quitosana. Geralmente, a quitosana adquirida comercialmente apresenta grau de desacetilação variando entre 70% a 95% e massa molar 104-106 g. mol⁻¹ (PINTO, 2011).

Figura 01. Representação evidenciando o grupo acetila na unidade monomérica da quitina (esquerda) e do grupo amino na unidade monomérica da Quitosana (direita).



Fonte: Adaptado de DESSELER (2008).

Do ponto de vista reacional, a quitosana é considerada um biopolímero versátil, muito mais atrativo que a quitina, pois possui grupamento amino livre que propicia modificação química, tais como N-acetilação, N-alquilação, N-carboxilação e N-sulfonação na estrutura polimérica original, facilitando sua otimização, aplicabilidade e permitindo o desenvolvimento de derivados. A presença de grupos amina livre confere à quitosana uma maior solubilidade em soluções diluídas de ácidos orgânicos, devido a protonação do (-NH₂) na presença de H⁺, consequentemente amplia suas aplicações, sendo responsáveis pela

maioria das propriedades deste polímero (GODOI, 2013; RÊGO, 2014). A quitosana se destaca também em razão das suas propriedades estruturais e funcionais favoráveis, tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioadesividade, atoxicidade, capacidade adsorptiva e quelativa, ação polieletrólítica, habilidade de formar filmes e géis, atividade antimicrobiana e antifúngica entre outras (COSTA, 2015; SZYMANSKA; WINNICKA, 2015).

As quitosanas disponíveis, principalmente no Brasil, são de procedências diversas e apresentam diferentes graus de pureza, densidade molar, polidispersão, viscosidade, solubilidade, além de não seguirem industrialmente um procedimento comum de desacetilação, o que torna os materiais comerciais consideravelmente diferentes entre si (PINTO, 2014). Com frequência, diferenças nas características dos polímeros naturais de lote para lote, fator também atribuído à espécies biológicas das quais se extrai o material de partida ou ao local, época de coleta, coleta sem discriminação de sexo, idade e fase de desenvolvimento do animal (MORAES; PIRES; BIERHALZ, 2015; ALVES, 2013). Sendo assim, pode-se afirmar que a falta de uma padronização efetiva da matéria prima é um dos desafios para o estabelecimento de aplicações tecnológicas, essencialmente na indústria farmacêutica e biomédica.

3.4 Aplicabilidade da quitosana

No Brasil, a quitosana é regulamentada na Agência Nacional de Saúde (ANVISA), segundo a Resolução RDC 278/2005, como alimento funcional, comercializado para auxílio na redução de peso e absorção do colesterol e triglicérides. Segundo Almeida (2009), esta característica é conferida pela capacidade de se ligar aos lipídeos da dieta, interferindo na absorção intestinal dessas gorduras. As propriedades diferenciadas da quitosana determinam sua possibilidade de uso nas mais distintas áreas, apresentadas na Figura 2.

Figura 2. Quadro referente as principais áreas de aplicação da quitosana.

ÁREA	APLICABILIDADE
Farmacêutica	Controle de colesterol; Vacinas; Agentes cicatrizantes; Carreadores de fármacos e hormônios.
Biomédica	Fios de sutura cirúrgica; Implantes dentários; Reparação tecidual; Curativos.
Cosmética	Esfoliante da pele; Tratamento de acnes; Hidratação capilar.
Alimentícia	Aditivos alimentares; Película antimicrobiana e antifúngica; Filmes protetores de alimentos; Fibras dietéticas; Adsorção de gorduras.
Agrícola	Modulação do tempo de liberação de fertilizantes e/ ou nutrientes do solo; Proteção de sementes.
Veterinária	Aditivo para alimento de animais; Reparação tecidual de animais.
Tratamento de efluentes	Remoção de íons metálicos; Remoção de corantes.

Fonte: Adaptado de ANDRADE (2012).

A incorporação de fármacos em biofilmes poliméricos apresenta-se como uma das inúmeras aplicações da quitosana na tecnologia farmacêutica. As propriedades filmogênicas,

gelificantes e mucoadesivas da quitosana estão diretamente relacionadas a natureza catiônica de formar ligações de hidrogênio entre as cadeias, tornando possível a preparação de dispositivos de liberação de fármacos, para administração oral, nasal, bucal, parenteral, epidérmica entre outras (SALAZAR, 2015).

Os biofilmes de quitosana apresentam-se bastante resistentes e geralmente representam uma boa barreira ao oxigênio quando a umidade relativa é baixa, por serem altamente polares. No entanto, são uma pobre barreira à umidade, devido à sua natureza hidrofílica (FERREIRA, 2012).

Qualquer que seja o campo de aplicação, biomateriais provenientes da quitosana têm potencial para apresentar uma melhor relação custo/benefício do que seus similares presentes no mercado, obtidos de outras fontes, e, na maioria das vezes, produzidos com tecnologia importada (SIPIN-NETO, 2008). Os estudos sobre as características dos biofilmes obtidos são essenciais, por sua procedência ser de origem biopolimérica natural, apresentando variações nos lotes da matéria-prima, dentre outros fatores descritos anteriormente, assim como as etapas de sua produção, que podem interferir nas suas características finais.

Os estudos desenvolvidos e apresentados neste trabalho vem ao encontro dessa necessidade, contribuindo para indicar parâmetros que nortearão estudos futuros e apontarão para provável comportamento dos biofilmes produzidos.

4 REFERENCIAL METODOLÓGICO

4.1 Material

4.1.1 Reagentes

O Ácido Acético (CHEMCO[®] - Indústria e comércio LTDA) e o Hidróxido de sódio (VETEC[®] - Química Fina). Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico PA.

4.1.2 Amostras de quitosana

Foram utilizadas para obtenção dos biofilmes, quitosanas de dois fornecedores nacionais; Denominadas Quitosana A, lote: 20091115, com peso molecular médio, proveniente da região Nordeste (Ceará-CE) e Quitosana B, lote: 110221, apresentando peso molecular alto, produzida no sul do país (Santa Catarina- SC).

4.2 Obtenção dos biofilmes de quitosana

A metodologia utilizada para obtenção dos biofilmes de quitosana, foi baseada em Dallan (2005) e em Cui et al. (2008), com adaptação de Lima (2010), utilizando-se a técnica conhecida como método sol-gel. Esta técnica pode ser dividida em três etapas: 1º) Dissolução da quitosana em uma solução de ácido orgânico, 2º) Transferência desta solução para moldes planos e 3º) secagem, formando a membrana propriamente dita.

Inicialmente foi obtida uma solução filmogênica de quitosana em ácido acético a 1%, onde: 1g de quitosana foi dispersa em 100 mL de ácido acético diluído (1%) e mantida sob agitação magnética constante durante 24hs, com auxílio de um agitador magnético (Biomixer[®]). A solução resultante foi filtrada através de membranas de porosidade 14 µm, utilizando-se uma bomba à vácuo (Primatec[®], modelo 121). Em seguida 50 mL da solução foi vertida em cada placa de Petri de 12cm. A solução foi submetida à secagem em estufa a 50°C, com circulação de ar, por um período de 12 a 24 hs (método da evaporação do solvente). Sobre os biofilmes secos foram adicionados 50 mL de solução de hidróxido de sódio a 1M, a fim de assegurar a completa neutralização do ácido. Em seguida, procedeu-se lavagem em água destilada (500mL para cada placa de 120cm), por 1h e aferido o pH da água. Houve repetição do processo até a obtenção do pH 7,0. A secagem se deu em temperatura ambiente em moldes de vidro sendo então, submetidos aos processos de caracterização.

4.3 Caracterização dos biofilmes de quitosana de diferentes fornecedores nacionais

Os biofilmes obtidos utilizando a quitosana A, foram denominados biofilmes A e os que utilizaram a B, foram denominados biofilmes B. As amostras foram fotografadas utilizando-se uma câmera Sony, Cyber-shot 12.1 mega pixels, e a morfologia dos materiais foi analisada macro e microscopicamente. Foram caracterizados pelas técnicas de

Microscopia Óptica Digital, Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X e Análise Térmica.

4.3.1 Microscopia Óptica Digital

Os biofilmes confeccionados foram submetidos a microscopia óptica digital, utilizando um Microscópio Digital *Hirox*[®] KH 7700, que se encontra instalado no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais (Certbio) do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). As análises foram feitas com as seguintes especificações: Lentes (MX(G)-10C: OL-350II: x350), H – Visor (886.060 μm) e Resolução (0.554 μm).

4.3.2 Espectroscopia na região infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Esta análise foi realizada utilizando um espectrômetro Spectrum 400 *Perkin Elmer*[®] FT-IR/FT-NIR *Spectrometer*, com varredura de 4000 a 650 cm⁻¹, instalado no Certbio, do Departamento de Engenharia de Materiais, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

4.3.3 Difração de Raios X (DRX)

Foi utilizado em um Difratorômetro de Raio-X (Shimadzu[®], modelo XRD 6000) com varredura angular 5°<2θ<35°, na montagem de Bragg-Brentano, sistema θ-2θ, utilizando-se radiação de Cu (ka1) com varredura no passo de 0,02 (2θ), com intervalo de 0,6 segundo para cada amostra. As análises foram realizadas no Certbio, do Departamento de Engenharia de Materiais da UFCG.

A medida de cristalinidade dos biofilmes foi estimada pela medida das intensidades das regiões cristalina e amorfa, tendo como base os estudos Dallon (2005). Desta forma, o cálculo do Índice de cristalinidade foi realizado utilizando-se a Equação 1.

Equação 1. Cálculo do índice de cristalinidade.

$$I_{CR} = \frac{I_C - I_A}{I_C} \times 100$$

Sendo I_C e I_A as intensidades dos sinais das regiões cristalinas e amorfas, respectivamente.

4.3.4 Análise Térmica

As amostras foram submetidas as técnicas termoanalíticas Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG).

4.3.4.1 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas não isotérmicas (TG) foram obtidas em um módulo termogravimétrico TG/DTA modelo Q600 (TA[®] - *Instruments*), na razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, com temperatura inicial de $35\text{ }^\circ\text{C}$ até $900\text{ }^\circ\text{C}$. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL min^{-1} . Foi utilizado massa de $5,00 \pm 0,05\text{ mg}$ acondicionada em cadinho de alumínio para cada amostra. A calibração do equipamento foi realizada com padrão de oxalato de cálcio.

4.3.4.2 Análise Calorimétrica (DSC)

As curvas DSC dos biofilmes foram obtidas em um módulo Calorimétrico Exploratório Diferencial DSC modelo Q20 (TA[®] - *Instruments*). Foram utilizadas amostras de $2,00 \pm 0,05\text{ mg}$, acondicionadas em cadinho de alumínio hermeticamente fechados, analisadas na razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, com temperatura inicial ambiente e temperatura final de $400\text{ }^\circ\text{C}$. Utilizou-se atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL min^{-1} . O DSC Q20 foi calibrado para a temperatura utilizando como padrões os pontos de fusão do índio (PF= $156,6\text{ }^\circ\text{C}$) e zinco metálico (PF= $419,5\text{ }^\circ\text{C}$) com pureza de 99,99 %. A calibração para energia foi feita com base na entalpia de fusão do índio metálico ($\Delta H_{\text{Fusão}} = 28,54\text{ Jg}^{-1}$).

Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do programa TA Instruments Universal Analysis 2000, versão 4.7A, da TA[®] Instruments e realizadas no Laboratório de Análises Térmicas do Certbio, Departamento de Farmácia, da UEPB.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção dos biofilmes

Durante o processo de preparação das soluções filmogênicas, a solução da quitosana A demonstrou uma maior quantidade de impurezas, quando comparadas a solução de quitosana B. Porém os biofilmes obtidos apresentaram, macroscopicamente, um aspecto homogêneo, transparente, sem características consideráveis para diferenciá-las, conforme pode ser observado na Figura 3, corroborando com os resultados obtidos por Lima (2010), Assis e Silva (2003), que visualizaram biofilmes bastante estáveis, com poucas falhas aparentes e ausentes de macroporos.

Figura 3. Fotografia dos biofilmes A (esquerda) e B (direita). Câmera Sony, Cyber-shot.

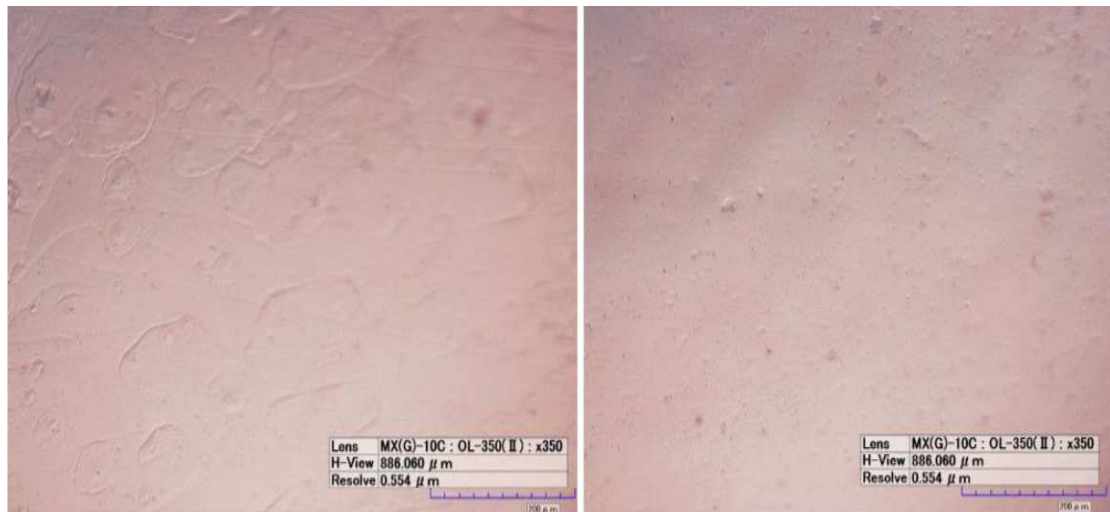


Fonte: Arquivo da pesquisa.

5.2 Microscopia Óptica

Através da micrografia, realizada no Microscópio Ótico Digital, foi possível efetuar uma comparação morfológica entre dois tipos de biofilmes de quitosana de diferentes fornecedores nacionais, ilustrados na Figura 4.

Figura 4. Micrografia da estrutura morfológica dos biofilmes de quitosana A (esquerda) e B (direita).

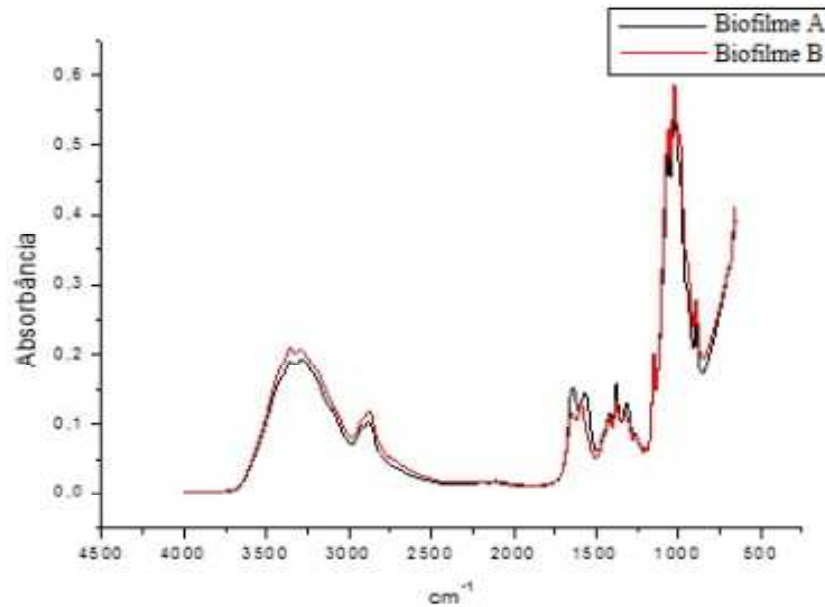


Fonte: Arquivo da pesquisa.

Comparando as micrografias pode-se observar perfil morfológico semelhante aos dois biofilmes analisados. Ambos apresentaram aspecto uniforme em toda a sua superfície, compacto, liso, sem poros visíveis, apresentando as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura. Os biofilmes demonstraram possíveis impurezas aderidas na superfície, provavelmente adquirida na etapa de secagem, armazenamento ou proveniente da matéria-prima, sendo melhor visualizada, microscopicamente, no biofilme B.

5.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia de infravermelho foi utilizada para estudar a estrutura molecular dos biofilmes confeccionados. Identificando ou confirmando a presença de grupos funcionais como carboxilas, hidroxilas, aminas, amidas, estruturas alifáticas e outros (MAHL et al., 2015). A Figura 5 apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho, dos biofilmes A e B.

Figura 5. Espectro de FTIR dos biofilmes A e B.

Fonte: Arquivo da pesquisa.

Os principais valores de faixa de absorbância de FTIR característicos da estrutura da quitosana, bem como os respectivos valores de absorções identificadas nos biofilmes A e B, estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1. Principais valores de absorbância detectados nos biofilmes A e B.

	Sinal	Faixa de absorbância (cm ⁻¹)	Absorções identificadas nos biofilmes (cm ⁻¹)
1	- Estiramento O-H/ Estiramento simétrico e assimétrico do NH ₂	3500-3200	3363, 3354
2	- Estiramento simétrico e assimétrico C-H de metila e metileno	2900- 2800	2876, 2866
3	-Estiramento C=O de Amidas	1670-1640	1656, 1646
4	Deformação axial C=O	1640	1646
5	- Deformação NH ₂ /	1640-1560	1575
6	- Estiramento simétrico de sais de Ácido Carboxílico	1400	1412
7	- Deformação simétrica C-H	1380-1370	1372
8	Vibrações C-O-C	1159	1159
9	Estiramento C-O de álcoois e fenóis	1250-1000	1159, 1026
10	Deformações C-H	1000-650	995, 894

Fonte: Dados da pesquisa. Faixa de absorbância adaptado de LIMA (2010).

Os valores expressos na última coluna da Tabela 1, correspondem aos valores reais mensurados durante a caracterização do FTIR das amostras A e B, respectivamente. Observou-se que os principais grupos funcionais presentes na estrutura da quitosana foram identificados nos biofilmes produzidos. Sendo assim, verificou-se que a estrutura química dos biomateriais obtidos é condizente com a estrutura química da quitosana.

Os espectros de FTIR dos biofilmes A e B (Tabela 1), apresentaram uma larga e intensa absorção em 3363 e 3354 cm^{-1} , respectivamente, possivelmente atribuída ao estiramento O-H e estiramentos da ligação OH-fenol, sobreposto à banda de estiramento de ligação do grupo N-H (MULLER, 2013). Próximo à 2870 cm^{-1} , observou-se absorção de média intensidade associado aos estiramentos de ligação C-H simétricos e assimétricos dos grupos metila ($-\text{CH}_3$) presentes nos radicais da quitosana que não foram desacetilados e os radicais metileno ($-\text{CH}_2$), mais especificamente relacionados ao carbono 6 do polímero (LIMA, 2010 ; MAHL et al., 2015 ; WANG et al., 2015). As bandas observadas na região entre 1656 cm^{-1} para o biofilme A e 1646 cm^{-1} para B, foram atribuídas ao estiramento de ligação C=O de amidas. Próximo a esta faixa, em 1575 cm^{-1} , ocorre absorção larga de média intensidade atribuída ao estiramento de ligação das aminas primárias. As bandas próximas a região de 1640 cm^{-1} são atribuídas à deformação axial da ligação C=O da carbonila, a qual corresponde à parte acetilada do polímero (FRÁGUAS et al., 2015a). A banda próxima a região de 1400 cm^{-1} , pôde ser relacionada à absorção de estiramento simétrico de ligações de sais de ácido carboxílico. A banda por volta de 1370 cm^{-1} correspondeu à deformação angular simétrica de ligação do grupo ($-\text{CH}_3$).

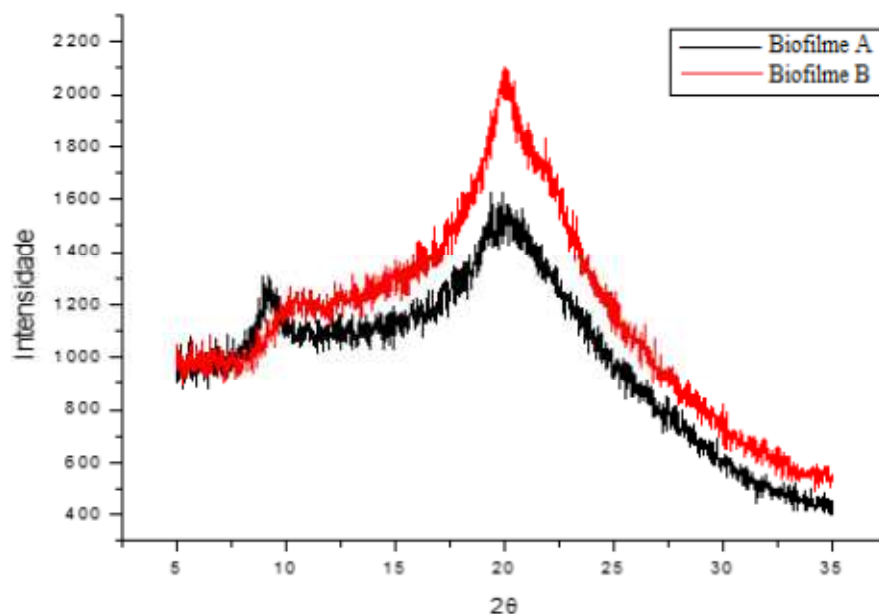
A absorção localizada em 1159 cm^{-1} é atribuída à vibrações de alongamento da ligação C-O-C, presente no anel glicosídico (CAMPELO, 2014). Ente 1250 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} pode ocorrer uma absorção atribuída ao estiramento de ligação do C-O de alcoóis e fenóis. A absorção ocorrida próxima à 1000 cm^{-1} está relacionada à presença de deformação de ligação C-H na estrutura do polímero. Todas as bandas descritas possuem características muito semelhantes àquelas relatadas na literatura por Lima (2010), Holanda (2011), Souza (2015), Fráguas e colaboradores (2015a) e estão presentes em todos os biofilmes avaliados, demonstrando que não há diferenças consideráveis na estrutura química da quitosana obtida por diferentes fornecedores, fator importante para sua utilização como biomaterial.

5.4 Espectroscopia por Difração de Raios-X (DRX)

5.4.1 Difractogramas

A quitosana no estado sólido, é classificada, na literatura, como semicristalina, uma mistura de cadeias cristalinas e amorfas que provavelmente encontram-se interligadas (OLIVEIRA et al., 2012; HOLANDA, 2011). As hidroxilas, carbonilas e amino terminais da estrutura da quitosana, favorecem a formação de fortes interações intra e intermolecular, como por exemplo, as pontes de hidrogênio que atuam como ligações secundárias influenciando a mudança do ângulo de ligações entre as moléculas de quitosana, formando regiões amorfas da cadeia polimérica (ANDRADE, 2012; OLIVEIRA et al., 2012). A Figura 6 mostra o difratograma dos biofilmes de quitosana de quitosana caracterizados neste trabalho.

Figura 6. Difractogramas dos biofilmes A e B.



Fonte: Arquivo da pesquisa.

Os biofilmes de quitosana das duas marcas analisadas, apresentaram arranjos atômicos similares, com forte reflexão próximos a 9 e 10° e 19 e 20°, característicos das regiões amorfas e cristalinas, respectivamente, indicando o não ordenamento cristalino a longas distâncias interatômicas, devido às ligações N-glicosídicas, que ligam os monômeros no

polímero de quitosana, gerando uma estrutura aleatória (BASTOS, 2012). Correspondente à ficha 39-1894 JCPDS (2003), disponibilizada na biblioteca do equipamento e semelhante ao autor Silveira (2013).

Este halo de $2\Theta = 20^\circ$, aproximadamente, presente nas duas amostras indicam uma região de cristalinidade, sendo mais intenso na amostra B. Os difratogramas de biofilmes disponíveis na literatura são semelhante aos obtidos neste estudo. O halo observado de $2\Theta = 9$ e 10° , aproximadamente, provavelmente pode ser atribuído à formação de cristais hidratados, devido à interação das moléculas de água com os grupamentos de glucosamina acetilados, facilitando assim, sua adsorção na cadeia polimérica (GÁMIZ-GONZÁLES, 2015); efeito mais evidenciado no biofilme A, o qual absorveu mais moléculas de água.

5.4.2 Índice de Cristalinidade.

Os biofilmes de quitosana por si só não apresentaram padrão de cristalinidade absoluta, por isso a partir dos dois halos de maior intensidade de Raios-X das amostras, foram determinados os índices de cristalinidade (I_{CR}), empregando a Equação 1. A Tabela 2 apresenta os resultados do I_{CR} dos biofilmes de quitosana A e B.

Tabela 2. Índice de Cristalinidade dos biofilmes A e B.

Índice de Cristalinidade	
Amostras	Porcentagem (%)
Biofilme A	15,4
Biofilme B	19,6

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao comparar os resultados obtidos por DRX e índice de cristalinidade, apresentados na Figura 6 e na Tabela 2. Pôde-se concluir que o biofilme B, nas condições deste trabalho, apresentaram um perfil mais cristalino quando comparados ao A.

Silveira (2013) afirmou que quanto maior a cristalinidade dos biofilmes, menor será a mobilidade das cadeias poliméricas, podendo influenciar na difusão e adsorção das moléculas na matriz polimérica. Sendo assim, sugere-se que o biofilme B apresentou menor mobilidade nas cadeias poliméricas quando comparados ao A.

Rangel (2012) afirmou que o grau de desacetilação (GD) da quitosana é inversamente proporcional ao grau de cristalinidade. Entretanto, nesta pesquisa, não foi possível correlacionar, estas características, pois os fornecedores nacionais não disponibilizaram o GD das amostras.

Outros autores afirmam que o grau de cristalinidade dos biofilmes de quitosana depende do seu grau de desacetilação, da distribuição média dos grupos acetil ao longo da cadeia principal, a origem e pureza da matéria prima, método de obtenção da quitosana, peso molecular, processo de dissolução, além do processo de obtenção das amostras (AZEVEDO et al., 2007; MESQUITA et al., 2009; LIMA, 2010; ANDRADE, 2012). Dessa forma, pode haver influência no produto final adquirido.

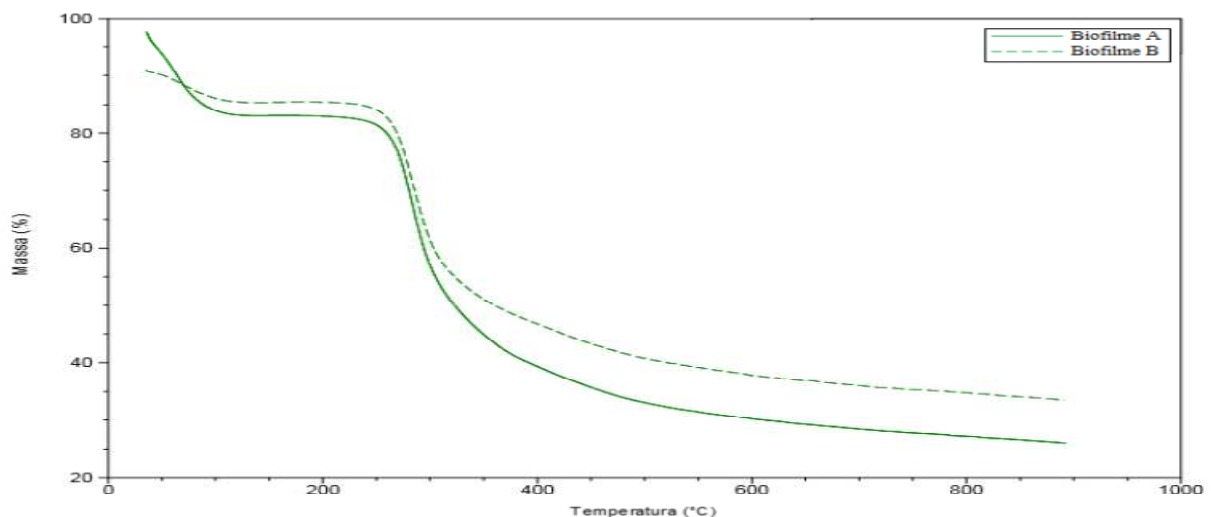
5.5 Análise Térmica

O comportamento térmico dos biofilmes de quitosana foi avaliado através das curvas termogravimétricas e calorimétricas dispostas a seguir:

5.5.1 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica (TG) determina as variações de massa do polímero em função da temperatura. As curvas termogravimétricas dos biofilmes A e B estão dispostas na Figura 7.

Figura 7. Curvas termogravimétricas de degradação térmica dos biofilmes A e B.



Fonte: Arquivo da pesquisa.

Com os dados obtidos nas curvas termogravimétricas dos biofilmes A e B elaborou-se a Tabela 3, apresentada a seguir.

Tabela 3. Dados termogravimétricos dinâmicos dos biofilmes A e B.

Amostras	Etapas de decomposição											
	1			2			3			4		
	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)	Ti (°C)	Tf (°C)	Perda de massa (%)
Biofilme A	35,89	109,97	13,79	236,46	318,53	31,09	318,53	476,88	17,15	476,88	885,06	8
Biofilme B	35,51	107,32	4,84	227,89	325,53	30,65	325,53	891,20	21,02	–	–	–

*Ti (temperatura inicial); Tf (Temperatura final).

Fonte: Dados da Pesquisa.

De acordo com a Figura 7 e Tabela 3, a curva de TG dos biofilmes A e B, para 1^o etapa, apresentaram uma perda de massa de 13,79% e 4,84%, respectivamente; a variação numa faixa de temperatura aproximada de 35 °C a 110 °C, podendo-se associar a perda de massa ao desprendimento da água residual e compostos voláteis residuais associados a estrutura química das amostras (BOROWSKA; CHEŁMINIAK, 2015; SANTOS, 2015; SOUZA, 2015). Na 2^o etapa (etapa principal), cuja a faixa de temperatura ocorreu entre 220 °C e 330 °C, verificou-se redução de massa significativa, equivalente à 31,09% para o biofilme A e 30,65% no B, podendo-se atribuir a decomposição, despolimerização e desacetilação da quitosana, sobretudo pela degradação do anel de piranose através da desidratação, à desaminação e finalmente às reações de rompimento do anel (LIMA, 2010; DIAS, 2013; FIORI et al., 2014; FRAGUAS et al., 2015b). Na etapa 3 do biofilme A, ocorreu uma perda de massa de 17,05% subsequente a etapa principal, enquanto o biofilme B, apresentou perda de massa gradativa de 21,02% atribuída ao processo de carbonização até a formação de resíduos sólidos. Uma quarta etapa, foi observado para o biofilme A, a qual foi atribuída à formação do resíduo de cinzas, entre 476,88 °C a 885,06 °C com perda de massa 7,99%. Para o biofilme B não foi observada uma quarta etapa definida. A massa residual foi de 26,09% para o biofilme A e 33,60% em B.

Na análise termogravimétrica dos biofilmes A e B observou-se uma similaridade entre os perfis das curvas, porém evidenciou-se uma sutil diferença entre elas, no que diz respeito tanto as faixas de temperatura das etapas, quanto as suas respectivas perdas de massas. Pode-

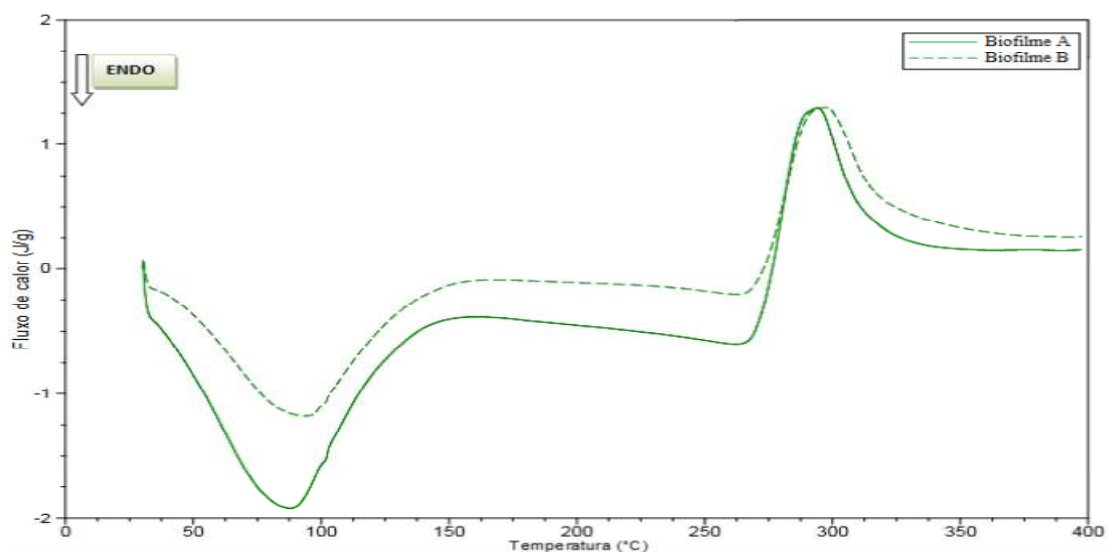
se sugerir que o biofilme B apresenta maior estabilidade térmica, ao associar os resultados da TG com os dados da Difractometria de Raio-X, já que o I_{CR} é diretamente proporcional à estabilidade térmica do polímero ($I_{CR} B > I_{CR} A$), corroborando com os dados apresentados anteriormente, no DRX.

Diferenças entre as curvas podem ser atribuídas também aos vários métodos de obtenção da quitosana e/ou falhas no procedimento. Além desses fatores, deve-se levar em consideração as matérias-primas adquiridas no Brasil. Segundo Rotta (2008), sua procedência é diversificada, apresentando divergências como: diferentes graus de pureza, densidade molar, assim como não seguem um processo comum de desacetilação, o que torna os materiais, consideravelmente diferentes entre si. Todos estes aspectos devem ser melhores monitorados, tendo em vista que tais variações dificultam a padronização do material e o seu pleno uso na indústria farmacêutica.

5.5.2 Análise Calorimétrica (DSC)

As análises de DSC dos biofilmes A e B foram realizadas com a finalidade de verificar as transições físicas e/ou químicas ocorridas durante o processo de decomposição. Os dados obtidos apresentaram perfis calorimétricos semelhantes, representadas nas curvas calorimétricas, na Figura 8.

Figura 8. Curvas calorimétricas dos biofilmes A e B.



Fonte: Arquivos da pesquisa.

A tabela 4, apresenta os dados obtidos através das curvas calorimétricas dos biofilmes A e B.

Tabela 4. Dados calorimétricos das amostras de biofilmes A e B.

Amostras	Eventos calorimétricos							
	1				2			
	T _i (°C)	Pico (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)	T _i (°C)	Pico (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)
Biofilme A	38,20	87,68	153,00	517,4	272,01	288,65	340,00	248,7
Biofilme B	42,66	94,48	160,00	364,7	272,54	292,36	375,00	281,3

Ti (temperatura inicial); Tf (Temperatura final).

Fonte: Dados da Pesquisa.

Nas duas curvas calorimétricas a amostra do biofilme A apresenta dois eventos térmicos principais, um endotérmico, com uma temperatura de pico de 87,68°C e uma entalpia de 517,4 J/g e um segundo pico exotérmico com uma temperatura de pico de 288,65°C e uma entalpia de 248,7 J/g. A curva DSC para a amostra do biofilme B apresenta duas transições térmicas principais, uma endotérmica, com uma temperatura de pico de 94,48°C com entalpia de 364,7 J/g e um segundo pico exotérmico com uma temperatura de pico de 292,36°C com entalpia de 281,3 J/g.

O evento endotérmico visualizado nas duas amostras de biofilmes provavelmente pode ser atribuído à desidratação, com a perda de água ligada a grupos hidrofílicos do polímero, representa também a energia necessária para vaporizar a água presente nos biofilmes (SILVA et al., 2016). Este processo de desidratação dos biofilmes de quitosana A e B pode ser visualizado também, pela perda de massa, em torno de 35-100°C, detectada no primeiro evento térmico apresentado nas curvas termogravimétricas discutidas anteriormente. O evento exotérmico pode ser conferido à decomposição das unidades monoméricas do polímero corroborando com Lima (2010), Horn (2012) e Sarmiento et al. (2006). No entanto Sarmiento et al. (2006) acrescenta que o pico exotérmico pode ser resultado da degradação de polieletrólitos devido às reações de desidratação e despolimerização, mais provavelmente da descarboxilação parcial dos grupos carboxílicos protonados e reações de oxidação dos polieletrólitos.

Na curva calorimétrica do biofilme A, pode-se observar um evento endotérmico mais intenso, quando comparado ao evento do biofilme B. Esta diferença de eventos pode-se inferir

que a amostra A possui maior quantidade de moléculas de água em sua estrutura, pois o evento atribuído a desidratação do polímero foi mais evidente, quando comparado a outra amostra. Corroborando assim com os resultados observados nas análises difratométricas.

A determinação temperatura de transição vítrea (T_g) permite associar o comportamento do polímero em uma dada temperatura e suas propriedades físicas e mecânicas (KLEIN, 2009). Na DSC, sendo identificada através do deslocamento da linha de base, devido a mudanças na sua capacidade caloríficas, nas regiões amorfas do polímero após serem aquecidas (BANNASH et al, 2011). Na literatura, a T_g de quitosana e seus respectivos biofilmes, possuem valores variados, segundo Rotta e colaboradores (2011), a T_g é influenciada por diversos fatores como, grau de desacetilação, massa molar, grau de cristalinidade. Neste trabalho não foi possível detectar a T_g dos biofilmes de quitosana através da análise calorimétrica, pois as curvas calorimétricas das amostras não apresentaram deslocamento da linha de base evidenciado. Sugere-se que o evento ocorra em temperatura inferior a avaliada.

6 CONCLUSÃO

A obtenção dos biofilmes a partir da quitosana proveniente de dois fornecedores nacionais mostrou-se eficaz e os materiais obtidos apresentaram similaridade físico-química e morfológica.

Macro e microscopicamente, não foram constatadas diferenças morfológicas consideráveis nos biofilmes confeccionados a partir das duas matérias-primas.

Os ensaios de FTIR demonstraram, quimicamente, que os grupos funcionais, dos biofilmes obtidos são similares e condizentes com a estrutura química da quitosana.

Quanto à cristalinidade evidenciou-se que o biofilme A revelou-se mais amorfo do que o B. Isso resulta em uma maior facilidade de degradação desse material apontando para uma maior possibilidade de liberação de fármacos, inseridos em sua estrutura.

Com relação ao comportamento térmico das amostras, o biofilme A apresentou maior umidade e uma degradação térmica em tempo e temperatura menor que o biofilme B. Isto indica que o biofilme A apresenta viabilidade para utilização em uma liberação mais rápida de fármacos, enquanto que para o biofilme B sugere-se uma liberação mais lenta.

Os resultados das análises físico-químicas, termoanalíticas e morfológicas fornecem subsídios para afirmar que os biofilmes desenvolvidos, proveniente de dois fornecedores nacionais de quitosana, além de seu custo/ benefício, apresentam um forte potencial para novas pesquisas, principalmente em sistemas de liberação de fármacos.

EVELOPMENT AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND MORPHOLOGICAL OF THE NATIONAL CHITOSAN BIOFILMS

Danielle Gomes de Oliveira*

ABSTRACT

The biopolymer chitosan has characteristics and biological properties that favor its use in several areas. Among the pharmaceutical applications, has been used in the making-carrying arrays of drugs and tissue regeneration. In this context, this study aimed to develop and characterize biofilms the basis of commercial chitosan from domestic suppliers, here called A and B, to increase the effectiveness and applicability. Characterization involved techniques such as Infrared Spectroscopy Fourier Transform Spectroscopy (FTIR), X-Ray Diffraction (XRD), thermal analysis, and an evaluation macroscopic and microscopic. The results showed that we did not find considerable morphological differences in the macro and microscopic scale. FTIR technique showed a structure consistent with chitosan, as described in the literature. By XRD and calculation of crystallinity index it was found that the biofilm A showed to be more amorphous than the B, thus revealing a greater ease of material degradation. According to thermogravimetric analysis, both materials exhibited similar loss of mass resulting in a residual mass around 30%. In the analysis of Differential Scanning Calorimetry, the Biofilm, presented a more intense endothermic event, reaching values of 587.45 J / g for Biofilm and 264.1 J / g for B. Thus, it was found that the developed biofilms have potential for use in pharmaceutical technology, even with different specificities, and the most suitable for the biofilm faster degradation of the biofilm preparations and B for use in products consistent with slower degradation.

Keywords: Biopolymer. Biomaterial. Chitosan.

* Pharmacy Undergraduate Student at State University of Paraíba – Campus I.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T.L. **Desenvolvimento de membrana composta de PVAL e quitosana compatível com o sistema dermo – epidérmico.** 2009. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências Tecnologia Nuclear- Materiais) - Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2009.

ALVES, K.S. **Obtenção de polímeros graftinizados de quitosana e estudo das propriedades físico-químicas para aplicação na indústria de petróleo.** 2013. 144f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2013.

ANDRADE, S.M.B. **Eletrofição e caracterização de membranas biopoliméricas a base de quitosana extraídas dos exoesqueletos de crustáceos.** 2012. 131f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Centro de tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2012.

ASSIS, O.B.G; SILVA, V.L. Caracterização Estrutural e da Capacidade de Absorção de Água em Filmes Finos de Quitosana Processados em Diversas Concentrações. **Rev. Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.

ASSIS, O.B.G; LEONI, A.M; NOVAES, A.P. Avaliação do efeito cicatrizante da quitosana por aplicação tópica em ratos. **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, São Carlos, SP Documentos: 29, p. 16, ISSN 1518-7179, 2007.

AZEVÊDO V.V.C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Rev. Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, p. 27-34, 2007.

BANNACH, G. et al. Efeitos da história térmica nas propriedades do polímero pet: um experimento para ensino de análise térmica. **Rev. Química Nova**, v. 34, p. 1825-1829, 2011.

BASTOS, C.A. **Obtenção de nanocompósitos a base de bentonina, amido e quitosana.** 2012. 89f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2012.

BESSA-JUNIOR, A.P; GONÇALVES A.A. Análises econômica e produtiva da quitosana extraída do exoesqueleto de camarão. **Rev. Actapesca**, v. 1, p. 13-28, 2013.

BISPO, V.M. **Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em Suportes Biocompatíveis de Quitosana-PVA**. 2009. 206f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2009.

BOROWSKA, M.Z; CHEŁMINIAK, D. Thermal stability of magnetic nanoparticles coated by blends of modified chitosan and poly (quaternary ammonium) salt. **J Therm Anal Calorim**, v. 119, p. 499–506, 2015.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE (M.S). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº. 278/2005, atualizado em 30 de junho de 2008. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm Acesso em: 10 de março de 2016.

BRANGEL, L.M. **Desenvolvimento de hidrogéis a base de quitosana e ácido lactobiônico com adição de nanoelementos**. 2011. 55f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química industrial) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2011.

BRITO, G.F. et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Rev. Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6.2, p. 127–139, 2011.

CAMPELO, C.S. **Avaliação da coagulabilidade e da calcificação em filmes de quitosana sulfonatada e carragenana**. 2014. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, CE, 2014.

CATÃO, A.J.L. **Estudo de Adsorção de íons cobre (II) em esferas de quitosana e esferas de quitosana reticulada**. 2012. 65f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química Industrial) – Departamento de Química Industrial, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO, 2012.

CHAGAS G.R. **Desenvolvimento de um hidrogél de quitosana como método alternativo à produção de hidrogéis comerciais**. 2012. 58f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química Industrial) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2012.

CORREA, DS. et al. Filmes nanoestruturados contendo quitosana para aplicação como plataforma de biossensor eletroquímico. Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária, **Anais: 2358-9132**, São Carlos, SP, 2014.

COSTA, F.R.M. **Hemostasia e reação tecidual ao implante de esponja de quitosana em lesão hepática de camundongos**. 2015. 62f. Tese (Doutorado em Ciências animais) -Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal De Goiás, Goiânia, GO, 2015.

CUI, Z. et al. Ionic interactions between sulfuric acid and chitosan membranes. **Rev. Carbohydrate Polymers**, p. 1-6, 2008.

DALLAN, P.R.M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. 2005. 194f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2005.

DIAS, M.V. **Filmes a base de quitosana incorporados com α - tocoferol e montmorilonita para aplicação em embalagens funcional e antioxidante**. 2013. 175f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013.

DESSELER, A.C. **Propriedades reológicas de compósitos sol-gel de quitosana/ glicerol/ nanoelementos**. 2008. 70f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2008.

FERNANDES, L.P. **Produção e caracterização de membranas de quitosana e quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. 2009. 63f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia Materiais) – Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2009.

FERREIRA, A.F.S. **Filmes à base de quitosana enriquecidos com extratos de bagaço de uva**. 2012. 125f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Alimentar) – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 2012.

FIORI, A. P. S. M. et al. Preparação e caracterização de nanocompósitos poliméricos baseados em quitosana e argilo minerais. **Rev. Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 628-635, 2014.

FRANCO, P.B. **Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana e casca de banana verde para cicatrização de feridas cutâneas.** 2014. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2014.

FRÁGUAS, R. M. et al. Caracterização química e efeito cicatrizante de quitosana, com baixos valores de massa molar e grau de acetilação, em lesões cutâneas. **Rev. Polímeros**, v. 25, n. 2, p. 205-211, 2015b.

FRÁGUAS, R.M. et al. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Rev. Polímeros**, v. 25(número especial), p. 48-53, 2015a.

FRANCHETTI, S.M.M; MARCONATO, J.C. Polímero biodegradável: uma solução parcial para diminuir a quantidade de resíduos plásticos. **Rev. Química Nova**, v.29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GÁMIS-GONZÁLES, M.A. et al. Determining the influence of N-acetylation on water sorption in chitosan films. **Rev. Carbohydrate Polymers**, n.133, p.110-116, 2015.

GARCIA, R.F. Incorporação do hormônio do crescimento humano recombinante (rhGH) em matriz de polímero biodegradável. **Rev. Odontol. UNESP**, v. 44, n. 4, p. 218-225, 2015.

GODOI, F.C. **Membrana densa de quitosana contendo nanopartículas de cobre: caracterização e possíveis aplicações.** 2013. 164f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, SP, 2013.

HOLANDA, A.M. **Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização.** 2011. 113f. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, 2011.

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

JCDPS, *Diffraction Data Base*, Newton Square: International Centre for diffraction data, PCPDFWIN, v. 24, 2003.

KLEIN, C.D.F. **Síntese e caracterização de poliésteres termoplásticos**. 2009. 90f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia Materiais) – Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2009.

KOUTSOS, V. Polymeric materials: an introduction. In: Forde M, Telford T. ICE. **Manual of construction materials**. London. p. 571-77, 2009.

LEITE, M.V. **Microcápsulas de alginato-quitosana contendo nanopartículas magnéticas para liberação controlada de progesterona**. 2014. 106f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos materiais) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

LIMA, E.G; OKIMOTO, M.L.L.R. Revisão da aplicação de produtos biopolímeros obtidos pela reciclagem de plásticos em design. **Revista Ibero-americana de Polímeros**, v. 10, n. 5, p. 244-259, 2009.

LIMA, R.S.C. **Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina**. 2010. 112f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, 2010.

MAHL, C.R.A. et al. Obtenção e caracterização de membranas de quitosana funcionalizadas com aminoácidos para adsorção de celulase. 13º Congresso Brasileiro de Polímeros, **Anais: 2176-0020**, Natal, RN, 2015.

MATSUI, M. **Correlações entre estrutura química, superestrutura macromolecular e morfologia das blendas e redes poliméricas à base de quitina e poliuretano**. 2007. 136f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2007.

MELO, M.R.P. **Bioconversão do exoesqueleto do camarão para elaboração de biofilmes biodegradável a base de quitosana**. 2014. 87f. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2014.

MESQUITA, J.P. et al. Caracterização de quitosana reticulada com ligações tipo uréia e suas implicações na adsorção do corante aniônico índigo carmin. 10º Congresso Brasileiro de Polímeros, **Anais...** Foz do Iguaçu, PR, 2009.

MIGUEL, F.B. et al. Polímeros como biomateriais para o tecido cartilaginoso. **Rev. de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 12, n. 3, p. 367-373, 2013.

MORAES, A.M; PIRES, A.L.R; BIERHALZ, A.C.K. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Rev. Química. Nova**, v. XY, n. 00, p. 1-15, 2015.

MOURA, J.M. **Avaliação da Hidrólise alcalina da quitina e elaboração de filmes de quitosana para aplicação na adsorção do corante têxtil reativo preto 5**. 2014. 105f. Dissertação (Mestrado em Química) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2014.

MULLER, L. **Incorporação de óleo essencial de cravo em membranas de quitosana e avaliação da atividade antimicrobiana e cicatrizante**. 2013. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2013.

NEVES, A. C. et al. Otimização de processos de obtenção de quitosana a partir de resíduo da carcinicultura para aplicações ambientais. **Rev. Brasileira de Energias Renováveis**, v. 2, p. 34-47, 2013.

OLIVEIRA, A.P.R. **Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo de processos de reticulação**. 2013. 98f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2013.

OLIVEIRA, P.D.L. **Aplicação combinada de quitosana e óleo essencial de Mentha piperita I. no controle de fungos patógenos pós-colheita**. 2014. 52f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Nutrição) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2014.

OLIVEIRA, R.A. et al. Síntese e caracterização de compósito quitosana com carbonato de cálcio extraído de casca de ovo para possíveis aplicações como curativo. Encontro Nacional de Educação Ciências e Tecnologia, **Anais...** Campina Grande, PB, 2012.

PEELMAN, N. et al. Application of bioplastics for food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 32, p. 128-141, 2013.

PINTO, L.A.A. Quitina e Quitosana obtidas de rejeitos de pescado e aplicações no tratamento de efluentes. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. Cap. 4.8 – p. 435-444. São Paulo, SP, 2011.

PINTO, A.S. **Otimização de processos de obtenção de quitina e quitosana do exoesqueleto do camarão amazônico (*Macrobrachium amazonicum*, HELLER, 1863)**. 2014. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia do Alimentos) – Instituto Tecnológico, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2014.

RANGEL, M.L.S.S. **Nanomagnetitas revestidas com biopolímero quitosana para aplicação na remediação ambiental**. 2012. 59f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Ciências Biológicas) - Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, RJ, 2012.

RÊGO, T.V. **Aplicação de filmes de quitosana para adsorção de corantes alimentícios em soluções aquosas**. 2014. 68f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de alimentos) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2014.

REIS, A.B. **Processo de revestimento à base de quitosana em papel kraft: propriedades mecânica de barreira e biodegradabilidade**. 2010. 240f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, SP, 2010.

RESENDE, S.C.S. **Aplicações dos biomateriais em ortopedia**. 2014. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde do Porto, Universidade Fernando Pessoa, Porto (Portugal), 2014.

RODRIGUES, L.B. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Rev. Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 63-76, 2013.

ROTTA, J. **Propriedades físico-químicas de soluções formadoras e de filmes de quitosana e hidroxipropilmetilcelulose**. 2008. 128f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2008.

ROTTA, J; MINATTI, E; BARRETO, P.L.M. Determination of structural and mechanical properties, diffractometry, and thermal analysis of chitosan and

hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. **Rev.Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 450-455, 2011.

SALAZAR, M.J.C. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana-gelatina e quitosana- colágeno visando a liberação de fármacos.** 2015. 114f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2015.

SANTANA, C.C. **Utilização do filme de quitosana na reparação de tendão em coelhos.** 2013. 67f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande. Patos, PB, 2013.

SANTANA, C.C. et al. **Utilização do filme de quitosana na reparação de tendão em coelhos.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.66, n.4, p.995-1002, 2014.

SANTOS, J. E. **Preparação, Caracterização e Estudos termo-analíticos de Bases de Schiff Biopolimérica e seus complexos de Cobre.** 2004. 124F. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2004.

SANTOS, R.M. **Estudo da estabilidade de filmes de poli (cloreto de vinila) aditivado com quitosana.** 2015. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2015.

SARMENTO, B. et al., Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. **Rev. Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 1-7, 2006.

SILVA, A.B. **Síntese e caracterização de nanoemulsão de óleo de canola e nanopartículas de quitosana contendo acetato de retinol para serem veiculadas por película comestível elaborada pela combinação de biopolímeros para revestimento de frutas.** 2015. 64f. Dissertação (Mestrado em Nanociências e Nanobiotecnologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2015.

SILVA, P.L. et al. Elaboração e caracterização de blendas de amido fosforilado com quitosana e pva. **Rev. Quim. Nova**, v. XY, p.1-6, 2016.

SILVEIRA, M.M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para uso em osmose reversa**. 2013. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2013.

SZYMANSKA, E; WINNICKA, K. Stability of Chitosan: A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. **Rev. Marine Drugs**, v. 13, p. 1819-1846, 2015.

SOUZA F.C.B. **Incorporação de alfa-bisabolol em membranas de policaprolactona e de quitosana complexada com goma guar**. 2014. 145f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2014.

SOUZA, G.K.M. **Avaliação das propriedades da blenda de poli (3-hidroxi-butirato) (PHB)/quitosana após processos de esterilização térmica ou radiolítica**. 2015. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia e Geociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2015.

SPIN-NETO, R. et al. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: Revisão de literatura. **Rev. Odontol. UNESP**, v.37, n. 2, p. 155-161, 2008.

TOCCE, E.J. et al. Functionalization of reactive polymer multilayers with RGD and an anti-fouling motif: RGD density provides control over human corneal epithelial cell-substrate interactions. **Biomed. Mater. Res. A. Hoboken**, v. 100, n. 1, p. 84–93, 2012.

TOLAIMATEA, A. et al. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. **Rev. Polymer**, 2003.

TORO, A.S. **Avaliação da degradação de resíduos sólidos orgânicos por meio da compostagem com presença de embalagem compostável**. 2015. 89f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2015.

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

VROMAN, I; TIGHZERT, L. Biodegradable Polymers. **Rev. Materials**, n. 2, p. 307-344, 2009.

WANG, H. et al. Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly(vinyl alcohol). **Rev. Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 64-67, 2015.