



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA INDUSTRIAL**

JOSÉ FILIPE BACALHAU RODRIGUES

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE
AMIDO/NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA UTILIZAÇÃO COMO
CURATIVOS**

**CAMPINA GRANDE - PB
2016**

JOSÉ FILIPE BACALHAU RODRIGUES

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE
AMIDO/NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA UTILIZAÇÃO COMO
CURATIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito à obtenção do título de bacharel em
Química Industrial.

Orientador: Prof^ª. Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto.

**CAMPINA GRANDE - PB
2016**

É expressamente proibido 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 do trabalho.

R696s Rodrigues, José Filipe Bacalhau.
 Síntese e caracterização de hidrogéis de
 amido/nanopartículas de prata para utilização como curativo
 [manuscrito] / José Filipe Bacalhau Rodrigues. - 2016.
 45 p.: il. colorido.
 Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2019.

"Orientação: Profa. Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto, Departamento de Química – CCT."

1.1 Nanopartículas de prata. 2. Curativos. 3. Amido.
4. Hidrogel. I. Título.

21. ed. CDD 615.19

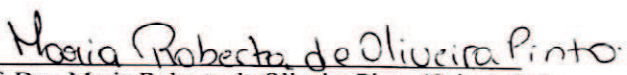
JOSÉ FILIPE BACALHAU RODRIGUES

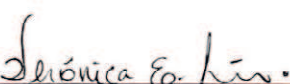
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE AMIDO/NANOPARTÍCULAS
DE PRATA PARA UTILIZAÇÃO COMO CURATIVOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito à obtenção do título de bacharel em
Química Industrial.

Aprovada em: 11/12/2016.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dra. Veronica Evangelista de Lima (Examinador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Dr. Márcio José Batista Cardoso
Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO)

A minha família, em especial minha mãe Maria de Fátima Bacalhau Rodrigues e minha irmã Jussara Bacalhau Rodrigues por todo auxílio, amor, motivação, criação, zelo, carinho e por cada segundo gasto por mim durante toda minha trajetória de vida, *DEDICO*.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo amor representado em forma de zelo, cuidado, sabedoria e proteção, em todos os momentos da minha vida.

A Nossa Senhora, por todo seu cuidado, proteção e intercessão prefigurados em forma de amor.

A minha mãe Maria de Fátima Bacalhau Rodrigues por toda doação, amor, dedicação e vida, me dando sustento, apoio e força. Serei eternamente grato por toda confiança depositada em mim. Amor eterno

A minha irmã Jussara Bacalhau Rodrigues de Oliveira Felix, que sempre me motivou desde pequeno a realizar meus sonhos e alcançar meus objetivos. És meu espelho.

A minha irmã Janaina Bacalhau Rodrigues Cabral de Vasconcelos por todo amor, cuidado, zelo e carinho a mim dedicados.

A minha querida e amada namorada Ana Lívia da Silva Farias que nunca deixou de acreditar em mim, sempre me ajudando com seu cuidado e amor. Que Deus cuide da nossa união.

Ao meu pai José Francisco Batista Rodrigues que fez nascer em mim o desejo de seguir carreira nesse curso, sempre me incentivando aos estudos e sendo presente, mesmo com suas limitações.

Aos meus amigos Neto, Edilson, Audeam, Marcelo, Juan e Wadams por todo companheirismo e amizade ofertados.

A minha orientadora Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto que me acolheu, ensinou, e preparou para vida acadêmica e profissional, me proporcionando grandes oportunidades de aprendizado, extraíndo sempre o meu melhor e me apoiando nas metas traçadas.

Ao Prof. Dr. Marcus Vinicius de Lia Fook pela oportunidade de aprendizado, apoio e auxílio.

A todos meus professores que me ajudaram na conclusão desta importante etapa.

A Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, pela oportunidade de aprendizado e crescimento.

Eternamente grato.

“ Quem a Deus tem, mesmo que passe por momentos difíceis; Sendo Deus o seu tesouro, Nada lhe falta. Só Deus basta. ”

Santa Tereza D'Ávila

RESUMO

A prata é a maior tendência mundial no tratamento de feridas por seu excelente poder bactericida, rápida cicatrização, redução de odor e fácil aplicação. A propriedade antimicrobiana da prata e de seus compostos é a base principal de sua aplicação medicinal desde o século XIX. A obtenção de nanopartículas de prata está associada à utilização das mesmas com polímeros naturais como matrizes que promovem a diminuição da sua tendência de agregação e permite a liberação controlada desse metal. A utilização de filmes e hidrogéis para liberação controlada de fármacos ou antimicrobianos é uma técnica que vem sendo aprimorada ao longo dos anos e vem obtendo resultados promissores devido a sua atividade local e sua habilidade em manter a constância nos perfis de liberação controlada de fármacos. Os fármacos são armazenados em matrizes baseadas em polímeros biodegradáveis que permitem sua liberação no organismo na concentração ideal, no local desejado e num determinado período. Dentre os polímeros biodegradáveis destaca-se o amido de origens diversas. Diante disto neste trabalho é realizada a síntese de AgNp's preparados através da redução química de íons prata com Borohidreto de Sódio (NaBH_4), na presença de Citrato de Sódio (SCT). Em seguida, as mesmas foram caracterizadas por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis). Aplicando planejamento fatorial 2^3 definindo-se uma tendência e controle do comprimento de onda alternando dois fatores no método de síntese: quantidade de Nitrato de Prata (AgNO_3 0,1 mol/L), e quantidade de NaBH_4 , em três níveis, +1, -1 e 0, sendo o 0 o ponto central. O planejamento fatorial foi construído para avaliar os efeitos desses fatores (efeitos principais e efeitos da interação entre fatores) permitindo a obtenção de uma síntese padrão para uso das mesmas nos hidrogéis. Foram observados os resultados para o estudo dos efeitos por meio da espectroscopia ultravioleta-visível que nos permitiu obter o comprimento de onda de AgNp's em solução. O amido utilizado para confecção dos hidrogéis foi caracterizado através do teor de umidade e cinzas, Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV, Difração de Raio - X - DRX e Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier-FTIR apresentando baixa porcentagem de interferentes, mostrando-se limpo e concentrado, podendo ser utilizado na indústria de alimentos, de embalagens e de biomateriais. A obtenção dos hidrogéis foi realizada através do sistema sol-gel agregando ao mesmo gelatina de modo a aumentar sua capacidade de intumescimento, sendo avaliado quanto as características físico-químicas, morfológicas, mecânicas e biológicas possibilitando concluir que os hidrogéis obtidos apresentaram características favoráveis para possível aplicação como curativo tendo em sua composição as AgNp's de maneira a potencializar suas características bactericidas e antimicrobianas.

Palavras-Chave: Nanopartículas de prata; Hidrogel; Amido de jaca.

ABSTRACT

Silver is the world's biggest trend in treatment of wounds by its excellent bactericidal power, rapid healing, odor reduction and easy application. The antimicrobial property of silver and its compounds is the main basis of its medicinal applications since the XIX century. The obtaining of silver nanoparticles is associated to their use with natural polymers as matrices that promote the reduction of their tendency to aggregate and allow the controlled release of this metal. The use of films and hydrogels to controlled drugs liberation or antimicrobials is a technique that has been improved over the years and has been obtaining promising results due to its local activity and its ability to maintain constancy in the profiles of controlled drug release. Drugs are stored in matrices based on biodegradable polymers that allow their release in the body in the ideal concentration at the desired place and in a given period. Among the biodegradable polymers stands out the starch of diverse origins. In this work the synthesis of AgNps prepared by chemical reduction of silver ions with sodium borohydride (NaBH_4), in the presence of sodium citrate. Next the AgNp's were characterized by molecular absorption spectroscopy in the ultraviolet and visible region (Uv/Vis). Applying factorial design 2^3 a trend and control of the wavelength was defined alternating two factors in the method of the synthesis: amount of silver nitrate (AgNO_3 0,1 mol/L), and amount of sodium borohydride (NaBH_4), in three levels, +1, -1 and 0, being 0 the central point. The factorial design was made to evaluate the effects of these factors (main effects and interaction effects between factors) allowing the achievement of a standard synthesis for their use in hydrogels. Results were observed for the study of the effects using Uv/Vis spectroscopy that allowed to obtain the wavelength of AgNps in solution. The starch used to make the hydrogels was characterized by the moisture and ash content, scanning electron microscopy – SEM, x – ray diffraction – XRD and Fourier Transform Infrared Spectroscopy – FTIR showing low percentage of interferents, showing clean and concentrated, can be used in the food, packaging and biomaterial industry. The hydrogels were obtained through the sol-gel system by adding to the same gelatin in order to increase their ability to swelling, being evaluated the physical-chemical, morphological, mechanical and biological characteristics, allowing to conclude that the hydrogels obtained presented favorable characteristics for possible application as a dressing, having in its composition the AgNp's in order to enhance its bactericidal and antimicrobial characteristics.

Keywords: Silver Nanoparticles. Dressings. Starch.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Espectro Uv-Vis de AgNp's.....	28
Figura 2 – Solução de AgNp's.....	28
Figura 3 – Histograma das AgNp's.....	29
Figura 4 – Caroços de jaca após lavagem e amido extraído.....	30
Figura 5 – Micrografia dos grânulos de amido de jaca com aumentos: 2000 e 6000x	30
Figura 6 – Difratoograma de Raios-X do amido da jaca.....	31
Figura 7 – Espectro no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do amido de jaca....	32
Figura 8 – DRX do hidrogel de amido e do amido/AgNp's.....	33
Figura 9 – Célula unitária das AgNp's.....	34
Figura 10– MEV do hidrogel de amido (a) e do amido/AgNp's (b).....	34
Figura 11– EDS do hidrogel de amido/AgNp's.....	35
Figura 12– FTIR do hidrogel de amido.....	36
Figura 13– Ilustra o DSC do hidrogel sem AgNp's (a) e hidrogel com AgNp's (b).....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Composição físico-química de grãos de jaca das variedades mole e dura.....	18
Tabela 2 –	Fatores e níveis usados no planejamento fatorial.....	23
Tabela 3 –	Dados obtidos pelo refinamento de estrutura pelo método Rietveld.....	29
Tabela 4 –	Percentual de Citotoxicidade dos filmes de amido sem e com as AgNp's.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNps	Nanopartículas de Prata
DRX	Difração de Raio X
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
FTIR	Espectro no infravermelho por transformada de Fourier
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
PDI	Índice de Polidispersividade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	Amido	17
2.1	Hidrogel.....	18
2.2	Aplicações Cutâneas dos hidrogéis.....	19
2.3	Materiais Nanoestruturados	20
2.3.1	Nanopartículas de Prata	21
3	METODOLOGIA	23
3.1	Síntese das AgNp's	23
3.2	Caracterização da Solução de Nanopartículas de Prata.....	24
3.2.1	Espectroscopia UV/Vis.....	24
3.2.2	Espalhamento Dinâmico de Luz – DLS.....	24
3.2.3	Refinamento de estrutura cristalina pelo método de Rietveld.....	24
3.3	Extração do Amido.....	25
3.4	Caracterização do Amido.....	25
3.5	Confecção dos hidrogéis.....	26
3.5.1	Determinação da Cinética de Intumescimento.....	26
3.6	Caracterização dos hidrogéis.....	26
3.6.1	DRX.....	26
3.6.2	MEV/EDS.....	26
3.6.3	FTIR.....	27
3.6.4	DSC.....	27
3.6.5	Avaliação biológica.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1	Caracterização das Nanopartículas de Prata.....	28
4.1.1	Espectroscopia UV/Vis.....	28
4.1.2	Espalhamento Dinâmico de Luz – DLS.....	29
4.1.3	Refinamento de estrutura cristalina pelo método de Rietveld.....	29
4.2	Caracterização do Amido.....	30
4.2.1	MEV.....	30
4.2.2	DRX.....	31
4.2.3	FTIR.....	32
4.3	Caracterização do Hidrogel/AgNps.....	33
4.3.1	DRX.....	33
4.3.2	MEV/EDS.....	34
4.3.3	FTIR.....	35
4.3.4	DSC.....	37
4.3.5	Avaliação biológica.....	37
4.3.6	Determinação da Cinética de Intumescimento.....	38
5	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

O amido é um polissacarídeo utilizado como reserva energética de plantas bem como, fonte de carboidratos na dieta humana. Entre as matérias-primas para sua extração destacam-se as raízes e tubérculos, como mandioca e a batata e os cereais como o milho, e o arroz (LEONEL et al., 2005).

Relacionado ao consumo humano, o mesmo é tido como um dos alimentos mais baratos, tendo possibilidade de aplicação em indústrias de alimentos com aplicações nutricional, sensorial e, também na indústria da saúde, na confecção de materiais hospitalares.

As queimaduras, juntamente com os traumas por choque, estão entre as maiores causas de danificação cutânea, ocorrendo a partir de agentes térmicos, químicos, elétricos, biológicos ou radioativos que agem no tecido de revestimento do corpo humano, destruindo parcial ou totalmente a pele e seus anexos (SAMUEL et al., 2011).

Geralmente os casos mais graves estão associados à contaminação microbiana da ferida e subsequente desenvolvimento de septicemia (HUEBINGER et. al., 2010). O processo de reparo tecidual pode ser auxiliado pela descontaminação das feridas usando agentes químicos, no entanto, a efetividade tem sido questionada devido a citotoxicidade demonstrada em alguns casos (LIO, et al., 2004). Para a descontaminação de feridas é bastante utilizado a aplicação de coberturas ou curativos dérmicos (NUSBAUM et al., 2012). Estes curativos podem ser de origem biológica ou sintética, sendo que os biológicos apresentam uma maior efetividade no processo de cicatrização pelo fato de fornecer arcabouço para regeneração tecidual e proteção mecânica contra microrganismos (AGARWAL et al., 2012).

A prata é a maior tendência mundial no tratamento de feridas por seu excelente poder bactericida, rápida cicatrização, redução de odor e fácil aplicação. A propriedade antimicrobiana da prata e de seus compostos é a base principal de sua aplicação medicinal desde o século XIX. Desde então a prata teve diversas utilizações e seu enorme potencial para o tratamento de lesões foi sendo descoberto.

Moyer et al. (1965) foram provavelmente os primeiros a abordarem o uso tópico da prata no cuidado de feridas desenvolvendo um tratamento eficaz contra queimaduras infectadas utilizando-se de um creme à base de nitrato de prata a 0,5%. Seus estudos concluíram que o mesmo era eficaz contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus hemolyticus* sem causar resistência por conta da prata. Alguns trabalhos que estão sendo realizados utilizando nanopartículas de prata em curativos vêm ganhando especial atenção para controle de infecções.

A utilização da prata em escala reduzida a nanopartículas tem demonstrado resultados promissores devido ao aumento da sua superfície de contato com as lesões (BEER, et al., 2012). A vantagem da utilização das nanopartículas de prata deve-se ao fato de que mesmo em concentrações nanomolares, mostram-se mais eficazes do que em soluções micromolares e principalmente devido a não demonstrarem ação tóxica sobre células humanas (PARVEEN, et al., 2012). A obtenção de nanopartículas de prata está associada à utilização desse metal com matrizes poliméricas que promovem a diminuição da sua tendência de agregação e permite a liberação controlada desse metal. Polímeros naturais recebem grande atenção na área dos biomateriais, pois suas similaridades estruturais com as macromoléculas biológicas os tornam facilmente reconhecidos pelo organismo, além de serem metabolizados a resíduos atóxicos e naturalmente eliminados (YI, et al., 2005). Por essa razão o amido apresenta um enorme potencial para ser usado na área biomédica como curativos e implantes (substituto de pele).

A utilização de membranas para liberação controlada de fármacos ou antimicrobianos é uma técnica que vem sendo aprimorada ao longo dos anos e vem obtendo resultados promissores devido sua atividade local e sua habilidade em manter a constância nos perfis de liberação controlada de fármacos (INOCENTINNI-MEI, MARIANI, 2005). As membranas impregnadas com antimicrobiano, além de absorver de forma controlada os exsudados, evita a infecção bacteriana (LEE, et al., 2000).

Pal et al., (2006) desenvolveram membranas de hidrogéis preparadas por intercruzamento de PVA e amido de milho termicamente tratado. As membranas apresentaram resistência suficiente para ser usadas como curativos e foram compatíveis com as células fibroblastos L929.

O emprego de hidrogéis poliméricos tem desempenhado um papel vital no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos. Os fármacos são armazenados em matrizes baseadas em polímeros biodegradáveis que permitem sua liberação no organismo na concentração ideal, no local desejado e num determinado período (FELT, et al., 1999). Dentre os polímeros biodegradáveis destacam-se a quitosana, gelatina e o amido de origens diversas. A utilização destes polímeros se destacam, também, pelo fato de colaborar com o meio ambiente, pois são de origem animal ou vegetal e são biodegradáveis.

A utilização do amido extraído do endocarpo da jaca (*Artocarpus Heterophyllus*) na produção de filmes carreadores de nanopartículas de prata justifica-se pelo potencial que eles apresentam como a biodegradabilidade e biocompatibilidade, resultando em grande atrativo científico na área dos biomateriais destinados a aplicação médico hospitalares, buscando-se simplificação tecnológica e absorção desse valioso insumo atualmente descartado na natureza.

Neste contexto, este trabalho tem como propósito desenvolver hidrogéis de amido para incorporação de nanopartículas de prata e avaliar suas características físico-químicas, morfológicas, mecânicas e biológicas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Amido

Amido é um polissacarídeo formado de amilose e amilopectina que ao ser aquecido, os grânulos intumescem gradualmente aumentando a quantidade de água absorvida. Sua viscosidade e transparência aumentam até um máximo, formando uma solução viscosa. A natureza, teor de amilose, amilopectina, a concentração do amido, o pH, proteínas, sais, gorduras e açúcares presentes na solução influenciam na dureza do gel formado (PENNA, 2002).

O amido é dado como uma excelente matéria prima em virtude do seu baixo custo de produção e fácil degradabilidade. Segundo Schoch (1945), o amido tem características físicas que tem como base a organização de seus grânulos e efeito das frações de sua composição. A gelatinização do amido também é alterada pela sua composição, gerando assim diferentes padrões de gelatinização. El-Dash (1996) apresentou uma hipótese relacionando a formação tridimensional de polissacarídeos com ligações do tipo “pontes de hidrogênio”. Segundo o mesmo, dada a formação de uma estrutura de amido estabelecida, em condições adequadas, poderia apresentar propriedades viscoelásticas. Além disso, a amilose e amilopectina contêm bastante glicose em sua composição as quais permitem a formação de redes tridimensionais através das ligações intermoleculares de pontes de hidrogênio, sendo assim capaz de reter gases e água.

O amido do caroço da jaca possui características bem atrativas para o mercado alimentício e médico. Bobbio et al. (1978) isolaram e caracterizaram as propriedades físico-químicas do amido presente na jaca, encontrando uma porcentagem de 28,1% e grânulos de amido com tamanho na faixa de 7 a 11 μm . Fazendo um apanhado na literatura, de modo a atualizar os valores na Tabela 1 estão descritos os valores médios para a composição das sementes da jaca. Estes resultados demonstram o potencial amiláceo dos grãos de jaca, em vista que, a variedade mole e dura apresentam percentual de amido 31,7% e 30,93%.

Tabela 1. Composição físico-química de grãos de jaca das variedades mole e dura.

Variáveis	Variedade	
	Mole	Dura
% Semente na fruta	12,22 ^a	13,32 ^a
% Umidade	40,93 ^a	38,40 ^b
% Proteína	6,11 ^a	4,67 ^b
% Gordura	0,22 ^b	0,39 ^b
% Cinzas	1,43 ^b	1,49 ^a
% Amido	31,73 ^a	30,93 ^a
% Fibra Bruta	1,44 ^a	0,91 ^b
Acidez	2,54	2,00
pH	5,09	5,29

*(mL NaOH 1N/100g)

Médias seguidas da mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si ($P>0,05$), pelo teste Turkey

Fonte: Santos et al., 2013

2.2 Hidrogel

Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais que absorvem grandes quantidades de água sem se dissolver. Dentre as diversas propriedades para o uso de hidrogéis como biomaterial destacam-se: elevado teor de água, contribuindo para sua alta compatibilidade; propriedades físicas similares às do tecido humano, a exemplo da sua maciez e elasticidade; estrutura microporosa que, por sua vez, permite a difusão de importantes metabólitos; e boa permeabilidade ao oxigênio (PATEL; MEQUINANT, 2011). Quando em contato com água em excesso são capazes de inchar rapidamente, retraindo grandes volumes de água na sua estrutura inchada ou rede tridimensional. Têm em sua constituição moléculas hidrofílicas que são reticuladas por ligações químicas, ligações secundárias por pontes de hidrogênio ou interações hidrofílicas.

Dependendo da natureza da reticulação os hidrogéis podem ser classificados como químicos ou físicos (PATEL, 2011), sendo possível também definir seu processo de preparação seguindo a mesma analogia. Nos hidrogéis químicos a rede não pode ser remodelada ou redimensionada, pois a reticulação química é forte (ligações covalentes) e o polímero torna-se insolúvel. A maioria dos hidrogéis são produzidos por reticulação química, pois geralmente as aplicações exigem que o material não sofra dissolução durante sua utilização. Entretanto na sua preparação são utilizados agentes de reticulação tóxicos, que não são totalmente consumidos durante o processo de reticulação, gerando resíduos que ficam presos na cadeia polimérica. Esses resíduos devem ser retirados da cadeia polimérica, antes de sua eventual aplicação, porém na prática a eliminação não ocorre de maneira completa (PATEL, 2011).

Os hidrogéis podem ser estáveis ou degradar e eventualmente desintegrar e dissolver. São considerados reversíveis quando a rede é mantida por emaranhamento molecular. Eles também podem ser considerados permanentes ou químicos quando formam redes covalentemente reticuladas. Considerando sua alta compatibilidade, temos que devido a algumas propriedades físicas, baixa tensão interfacial com os fluidos biológicos e tecidos, hidrogéis simulam algumas propriedades hidrodinâmicas dos géis naturais biológicos, células e tecidos. A alta mobilidade das cadeias poliméricas na superfície do hidrogel contribui para a prevenção da absorção de proteínas e a adesão a células. A natureza macia e elastomérica dos hidrogéis minimiza as irritações mecânicas e de fricção com tecidos das vizinhanças, não causando dor e nenhum dano a membranas mucosas ou ao íntimo dos vasos sanguíneos, sem infecção (MOLINA, et al., 2012). Estas características os fazem aplicáveis na área biomédica (JEEVANDA e SIDDARAMAIAH, 2003), na regeneração de tecidos (MOLINA, et al., 2012) e em implantes (JEEVANDA e SIDDARAMAIAH, 2003) e na área farmacêutica, para liberação controlada de fármacos.

2.2.1 Aplicações cutâneas dos hidrogéis

As diversas propriedades apresentadas dos hidrogéis os tornam ideais para aplicações na engenharia de tecidos (DRURY, et al., 2003), sistemas para liberação controlada de princípios ativos, curativos e tratamento de queimaduras e ferimentos (PAWDE, 1993), assim como para a imobilização de antibióticos e cicatrizes em curativos.

De modo a obter hidrogéis com características desejadas os polímeros devem ser modificados, variando na proporção dos componentes da sua formulação de tal forma que, essa formulação é aplicada para manipulação da composição de hidrogéis destinados a aplicação como curativos. Dentre eles, vários hidrogéis foram desenvolvidos para aplicação em feridas e queimaduras (ROSIK, et al., 1989), tendo em vista a baixa tensão superficial entre a sua superfície e os fluidos fisiológicos ajudando a minimizar a adesão celular, biocompatibilidade com sangue, fluidos corpóreos e tecidos biológicos, prevenção da perda de fluidos corporais, barreira contra bactérias e permeabilidade ao oxigênio (PEPPAS; KHARE, 1993; PEPPAS, et al., 2000).

Os hidrogéis atendem todos os requisitos que favorecem a epitelização de lesões além de possibilitarem a liberação de substâncias ativas para estimular o processo de cicatrização, evitar ou combater infecções tendo em vista que a infecção é o maior inimigo da cura de uma

ferida, pois determina uma maior destruição de tecidos e prolonga a fase inflamatória, retardando a reparação tecidual (BLANES, 2004).

Infecção em paciente queimado é uma das principais causas de morbidade e mortalidade (WEBER, 2004) devido a possibilidade de ocorrência da disseminação de agentes infecciosos através da corrente sanguínea, a qual é uma situação delicada caso diagnosticada no paciente queimado em regime de internamento hospitalar (VERONESI; FOCACCIA, 2011).

As bactérias resistentes a antibióticos representam uma preocupação crescente nas infecções de feridas (TODAR, 2016) e a utilização de prata nanocristalina é defendida no tratamento de queimaduras nas quais as infecções são conhecidas pela sua intolerância e resistência a antibióticos. Além da excelente propriedade bactericida, as AgNp's também se mostraram favoráveis na minimização da resposta inflamatória local facilitando a cicatrização das feridas (NAIR; LAURENCIN, 2007).

2.3 Materiais Nanoestruturados

Nos últimos anos, materiais nanoestruturados têm atraído um crescente interesse devido às suas propriedades únicas que diferem dos materiais massivos e ao seu potencial para o desenvolvimento de novas tecnologias.

No regime nanométrico, é bem conhecido que as propriedades físicas e químicas dos metais (magnéticas, ópticas, catalíticas e de transporte) dependem fortemente da morfologia, isto é, do tamanho e forma. Enquanto os efeitos de tamanho foram intensivamente estudados nas últimas décadas, a dependência com a forma passou a ser explorada apenas recentemente, devido à dificuldade intrínseca de produzir nanoestruturas com formas bem definidas e em grandes quantidades. No entanto, nos últimos anos, o aprimoramento de métodos de produção, em especial a síntese coloidal de nanopartículas, propiciou a produção de amostras de alta qualidade, motivando o estudo experimental sistemático dos efeitos de forma e o desenvolvimento de novas aplicações (XIA; HALAS, 2005).

Particularmente, nanopartículas anisotrópicas de metais nobres (ouro e prata) vêm recebendo muita atenção devido às novas aplicações científicas e tecnológicas explorando suas propriedades ópticas (XIA, et al., 2003). Em geral, essas aplicações baseiam-se em três características fundamentais da resposta óptica de nanoestruturas metálicas: a alta sensibilidade a mudanças na vizinhança química local, a localização dos campos eletromagnéticos da radiação incidente abaixo do limite de difração e a subsequente geração de campos próximos de altas intensidades. A alta sensibilidade a mudanças na vizinhança química tem sido utilizada

para construir sensores de gases (ACKERMANN, et al., 2007) ou moléculas em solução, de alto desempenho, com baixíssimos limites de detecção. Além disso, o recobrimento das partículas por receptores moleculares tem permitido a fabricação de sensores específicos para diferentes moléculas (proteínas e DNA) ou mesmo bactérias e vírus, com desempenho superior aos métodos de detecção tradicionais (maior velocidade e menor quantidade de amostra necessária). Os efeitos de localização têm sido explorados, por exemplo, para desenvolver guias de onda (ZOU; SCHATZ, 2006) e outros dispositivos ópticos em escala físico-química (LIU, et. al., 2005). A manipulação da luz abaixo do limite de difração por meio de nanoestruturas metálicas tem se consolidado como uma nova área denominada plasmônica. Uma das grandes perspectivas da plasmônica é a integração de componentes fotônicos nanométricos com as fontes de radiação macroscópicas convencionais e também a atuação como interface entre dispositivos fotônicos e eletrônicos (OZBAY, 2006). Por último, altas intensidades dos campos próximos têm sido exploradas na intensificação de fenômenos ópticos que geram sinais pouco intensos como o efeito Raman, fluorescência de moléculas, a geração de segundo harmônico e o efeito Kerr magneto-óptico. As altas intensificações permitiram recentemente a obtenção de espectros Raman e de fluorescência de moléculas individuais depositadas na superfície de nanopartículas (NIE; EMORY, 1997).

Por outro lado, as propriedades ópticas de nanopartículas metálicas têm sido recentemente exploradas como uma ferramenta para controlar o tamanho e forma das partículas produzidas por síntese coloidal. O uso de métodos fotoquímicos tem permitido a produção de nanoprismas triangulares de prata em grandes quantidades e com o tamanho controlado pelo comprimento de onda da radiação incidente (JIN, et al., 2003).

2.3.1 *Nanopartículas de Prata*

As nanopartículas de prata (AgNPs) são as NPs mais utilizadas devido às suas inúmeras aplicações. O tamanho das AgNps é um dos fatores mais importantes que afetam o seu poder bactericida (RAI, et al., 2009), sua toxicidade, especialmente se houver agregação de partículas com o passar do tempo (FABREGA, et al., 2009) e suas propriedades ópticas, visto que com a variação do tamanho e forma da partícula, o espectro de absorção óptica das nanopartículas apresenta mudanças na banda de SPR, tais como variação da intensidade e desvio do seu comprimento de onda máximo (GLOOM, 2005). A fim de correlacionar os campos da física, química e ciência de nanomateriais, a meta dos cientistas é controlar a morfologia (nanoesferas,

nanofios, nanotubos, etc.), estrutura, composição e tamanho, que são as características que definem as propriedades físicas dos materiais resultantes (USKOKOVIC, 2007).

As AgNps possuem propriedades físico-químicas muito características, incluindo a sua flexibilidade, maleabilidade e uma condutividade térmica e elétrica elevada em relação a qualquer outro metal (CHEN; SCHULUESENER, 2008). Caracterizam-se pela sua estabilidade química, atividade catalítica e um comportamento ótico não linear. Estas propriedades conferem um imenso potencial em tintas, microeletrônica e imagiologia médica. No entanto, é o largo espectro de atividade antimicrobiana da prata e o custo relativamente baixo de obtenção de AgNPs que as torna extremamente populares numa vasta gama de produtos de consumo incluindo plásticos, sabonetes, curativos, metais e têxteis (FABREGA, et al., 2011).

As AgNps podem ser utilizadas para reduzir infecções, prevenir a colonização bacteriana em superfícies de prótese, em cateteres e materiais odontológicos, bem como na indústria de alimentos, no tratamento de água e na fabricação de tintas antibactérias (GUZMÁN, et al., 2011). O efeito antimicrobiano da prata é reconhecido há muitos anos. Na antiguidade, a mesma era utilizada no tratamento de queimaduras e como agente quimioterápico contra patologias provocadas por bactérias, como a *Staphylococcus aureus*. Após a descoberta da penicilina, o uso da prata como agente bactericida diminuiu consideravelmente. Porém, com a seleção de cepas resistentes a antibióticos, a prata voltou a despertar interesse na comunidade científica em virtude do desenvolvimento de novos antimicrobianos (CHOPRA, 2007).

As soluções coloidais de NPs Ag, devido à alta relação área por volume, apresentam propriedades antimicrobianas contra diversos tipos de micro-organismos, tais como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e vírus. A Medicina tem demonstrado que a prata aniquila mais de 650 agentes patogênicos e não cria resistência (PETICA, et. al., 2008). Isso acontece porque, ao entrarem em contato com a membrana celular desses micro-organismos, as NPs Ag causam danos no processo de respiração celular e permeabilidade. Além disso, as NPs Ag ligam-se ao enxofre e ao fósforo presentes no DNA, impedindo a divisão celular (MORONES, et al., 2005). O mecanismo de ação antimicrobiana proposto para as nanopartículas de prata refere-se à interação com grupos que contêm os elementos enxofre e fósforo, que são encontrados tanto nas membranas celulares como no citoplasma das bactérias. Sua interação ocorre com a membrana celular, causando danos ao processo de respiração celular, e, no interior das células, interagem com o DNA, impedindo a divisão celular (MORONES, et al., 2005).

3 METODOLOGIA

3.1 Síntese das Nanopartículas de Prata (AgNp's)

Hoje em dia, há na literatura diversos métodos para sintetizar nanopartículas em fase líquida. Apesar de cada método possuir características específicas, a síntese coloidal, de uma maneira geral, baseia-se em quatro componentes: meio, precursor, agente redutor e estabilizante. O meio é a fase líquida onde a reação química irá ocorrer. O precursor é o composto químico que irá fornecer o material para formar as partículas no caso de nanopartículas metálicas, em geral, utiliza-se um sal do metal (para esta síntese, AgNO_3). É necessária a utilização de um agente redutor para reduzir o íon transformando-o na espécie metálica. O estabilizante, também conhecido como ligante, é uma molécula que recobre a superfície das nanopartículas, mantendo-as afastadas umas das outras e dispersas no meio (ROCHA et al, 2008).

Inicialmente, foi feita a fixação das variáveis independentes dos 4 reagentes que serão usados, como pode ser observado na Tabela 2.

Em seguida, foi realizado o planejamento fatorial 2^3 fazendo uso do programa ESTATISTIC. A partir do planejamento fatorial é realizado a síntese dos nanoprismas de prata.

Para a síntese dos AgNp's foi colocado em um becker 30 mL de água destilada, deixando-a sob agitação adicionando, respectivamente, os valores dos reagentes traçados pelo planejamento fatorial. Na última etapa da síntese, no momento da adição do NaBH_4 , foi aumentada a velocidade de rotação do agitador magnético de maneira que se pudesse ocorrer a formação das AgNp's seguindo procedimento descrito por (MURRAY, et al., 2000), onde tipicamente, uma redução rápida, com um agente redutor forte, sob agitação vigorosa leva a uma nucleação homogênea e, conseqüentemente, à produção de nanopartículas com uma distribuição de tamanho relativamente estreita. As análises das amostras obtidas foram realizadas em um espectrofotômetro. Inicialmente passou-se a amostra em branco, e logo após colocou-se a solução de interesse de análise programando o instrumento para cobrir uma banda que vai de 300nm a 1100 nm.

Tabela 2. Fatores e níveis usados no planejamento fatorial. A = AgNO_3 (μL), B = SCT (mL), C = H_2O_2 (μL), D = NaBH_4 (μL)

Factors	Mínimo (-)	Ponto Central (0)	Máximo (+)
A	20	30	40
B	-	1,5	-
C	-	60	-
D	150	200	250

Fonte: própria

3.2 Caracterização da Solução de AgNp's

3.2.1 *Espectroscopia Uv/Vis*

Fazendo uso de um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT-IR, modelo MB-102, foi feita a análise da amostra padrão selecionada através do planejamento fatorial. Inicialmente passou-se a amostra em branco, e logo após colocou-se a solução de interesse de análise programando o instrumento para cobrir uma banda que vai de 300 nm a 1100 nm.

3.2.2 *Espalhamento Dinâmico de Luz – DLS*

Esse ensaio foi realizado por um ZetaPals da Brookhaven Instruments. Foi feita a caracterização da amostra padrão selecionada.

Tal análise é baseada na taxa de difusão das partículas através do fluido para mensurar o diâmetro médio das partículas. Para tanto, a amostra é iluminada por um feixe de luz a 90° com comprimento de onda igual a 532 nm, a qual se espalha pelas partículas e então é captada por um cabo de fibra ótica que se encontra em um determinado ângulo e transmitida para o tubo fotomultiplicador e pulso amplificador /discriminador, onde é transformada em um sinal elétrico. Devido ao fato de as partículas se movimentarem ao acaso, denominado movimento Browniano, a intensidade da luz espalhada por um conjunto de partículas sofre flutuações ao longo do tempo. Esta flutuação da intensidade de luz espalhada ocorrerá com maior velocidade quando a dispersão contiver partículas pequenas, devido ao fato de estas se movimentarem mais rapidamente que as partículas maiores. Portanto, existe uma relação entre a velocidade de flutuação da intensidade de luz espalhada e o coeficiente de difusão das partículas. Assim, conhecendo-se o coeficiente de difusão das partículas e a partir da equação de Stokes-Einstein, obtém-se o tamanho médio das partículas (Bechtold, 2011).

3.2.3 *Refinamento de estrutura cristalina pelo método de Rietveld*

Foi realizada a análise pelo Método de Rietveld de Refinamento utilizando o programa General System Analyzer Structure (GSAS II), com a ficha estrutural CIF code 44387 do ICSD (Inorganic Cristal Structure Database).

É um método de caracterização muito conceituado e de grande confiabilidade. Inicialmente o método foi aplicado por Rietveld (Rietveld, 1967), daí o nome método Rietveld, na difração de nêutrons para determinar e refinar estruturas cristalinas. O próprio Rietveld sugeriu que o método poderia ser usado com dados de difração de raios-X, essa adaptação foi feita anos depois pelos pesquisadores Mackie e Young (Mackie e Young, 1975). Em 1977 foram publicadas as primeiras aplicações usando dados de difração de raios-X (Malmros e Thomas, 1977), (Young et. al. 1977), (Khattak e Cox, 1977). Com o método podem-se refinar parâmetros de estruturas cristalinas, usando para isso, dados de difração de raios-X ou de nêutrons. O refinamento de forma simplificada consiste no ajuste dos parâmetros estruturais de um determinado material cristalino a partir de um padrão de difração da amostra. O padrão de difração observado foi obtido num processo de varredura passo-a-passo com incremento 2 θ constante (SILVA, 2011).

Através do método Rietveld podem-se extrair informações importantes como: parâmetros de rede, fator de ocupação, concentração e a largura de pico à meia altura (FWHM) entre outros.

3.3 Extração do amido

O amido foi extraído dos caroços de jaca. Os caroços foram lavados, descascados e triturados em um liquidificador até a obtenção de uma massa densa e uniforme, acrescentando-se água destilada na proporção de 1:4. A massa obtida foi filtrada em sacos confeccionados com organza (abertura da malha próxima a 100 mesh). A suspensão de amido filtrada foi decantada, em ambiente refrigerado a 5° C por 24 horas. O sobrenadante foi descartado e o amido suspenso com água destilada foi novamente decantado. Este procedimento de suspensão e decantação foi efetuado até que o produto apresentasse cor e textura características de amido. Após esta etapa o amido foi liofilizado por 48 horas e passado em peneira 200 mesh.

3.4 Caracterização do Amido¹

O amido foi caracterizado através do teor de umidade e cinzas, Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV, Difração de Raio - X – DRX e Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier –FTIR.

¹ As técnicas citadas no ponto 3.4 serão descritas de forma mais claras a partir do ponto 3.6.1.

3.5 Confeção dos hidrogéis

A síntese do hidrogel foi realizada através da gelatinização do amido extraído do endocarpo do caroço da jaca misturando 7,5g do mesmo em 250mL de água deionizada a 100°C até que a gelatinização se completasse. Após a mistura ter resfriado a temperatura ambiente foi acrescentado 2% (v/v) da solução coloidal contendo as AgNp's seguido de subsequente congelamento de 24h e descongelamento por 2h. Após isto os géis foram novamente congelados e liofilizados. Foram preparados hidrogéis de 5% em massa (amido/água) e com adição de gelatina (0 e 2% em massa).

3.5.1 Determinação da Cinética de Intumescimento (Q)

Pedaços de membranas de massa conhecida e liofilizada foram imersas em água deionizada (pH 6,4) até o equilíbrio. O experimento foi feito em triplicata e após atingir o equilíbrio foi aplicada a Equação 1:

$$Q = \frac{\text{m gel intumescido}}{\text{m do gel seco}} \quad (\text{Equação 1})$$

3.6 Caracterização dos hidrogéis

3.6.1 Difração de Raios X – DRX

As análises de difração de raios X foram conduzidas a temperatura ambiente em aparelho XRD-7000 Shimadzu, utilizando radiação Ka do cobre (1,5418 Å), tensão de 40kV e corrente 30 mA. As amostras foram examinadas em um intervalo de 2° entre 10,0 e 70,0 graus a uma velocidade de 2°/min.

3.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV/EDS

A microestrutura das amostras foi observada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV, TM-1000, HITACHI), equipado com acessório de energia dispersiva de raios-X (EDS).

3.6.3 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

As análises utilizando a técnica de espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) das amostras foram realizadas em um equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi usada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas matérias primas utilizadas nesta pesquisa, utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

3.6.4 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises por DSC das amostras foram realizadas em um equipamento DSC PerkinElmer modelo 8500, com uma faixa de temperatura de 0 a 300 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min, em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 20 mL/min. Foi utilizado massa de $3,00 \pm 0,05$ mg acondicionada em cadinho de alumina para cada amostra. As curvas DSC foram analisadas com o software Pyris R10 Data Analysis.

3.6.5 Avaliação Biológica

O ensaio de citotoxicidade foi realizado de acordo com a norma ABNT NBR ISO 10993-5:2009 – Ensaio Biológico in vitro – Citotoxicidade Viabilidade Celular e de acordo com o PT04 – Ensaio de Citotoxicidade – Viabilidade Celular, utilizando 4 amostras e 12 replicatas para cada amostra.

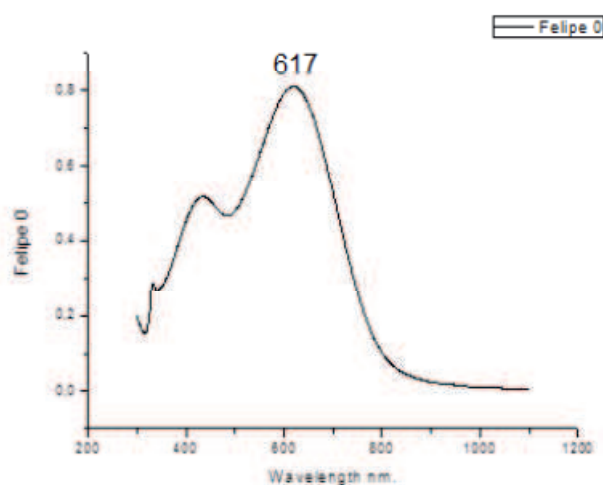
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das Nanopartículas de Prata

4.1.1 Espectroscopia UV/Vis

A formação de NP'sAg foi observada por análise dos espectros utilizando o método de espectroscopia de UV – VIS. A análise por espectroscopia de infravermelho para observar o espectro gerou os dados apresentados na Figura 1.

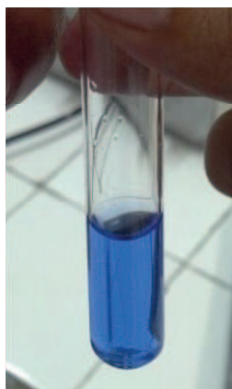
Figura 1. Espectro Uv-Vis de AgNp's



Fonte: Própria

Foi constatada uma banda de absorção de 617nm que corresponde à superfície plasmônica característica da banda de ressonância de nanopartículas cúbicas, caracterizando-as também através da coloração característica da solução, como pode ser observada na Figura 2.

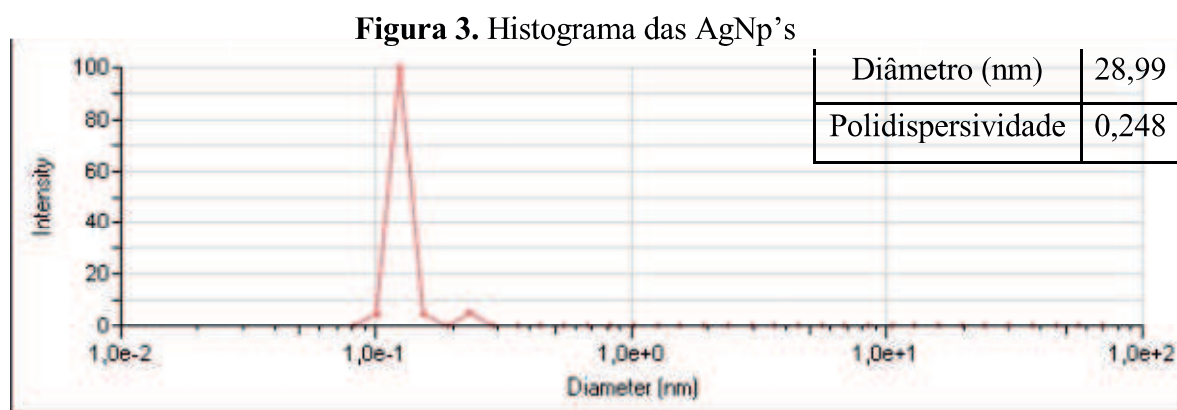
Figura 2. Solução de AgNp's



Fonte: Própria

4.1.2 Espalhamento Dinâmico de Luz - DLS

Na figura 3 pode-se observar o histograma do tamanho das partículas obtido através do ensaio de DLS.



Fonte: própria

A análise de DLS mostrou que o tamanho médio de 93% das partículas é de 28,99 nm e o valor de PDI (Índice de Polidispersividade) foi de 0,248, o qual se refere à variedade do tamanho da amostra relativo à sua distribuição por intensidade (MALVERN, 2004). Variando de 0 a 1, quanto menor, mais monodispersa e, conseqüentemente, menos heterogênea é a amostra. O pequeno pico que aparece no gráfico é atribuído a possíveis aglomerações de AgNps, indicando uma baixa polidispersividade no tamanho, contribuindo para confirmar uma boa síntese (MAHL et al., 2011).

A importância em obter NPs monodispersas está atribuída à uniformidade das propriedades físico-químicas das NPs do sistema obtido com as propriedades das NPs individuais (SUGIMOTO, 1987). Dessa forma, quanto maior a monodispersividade, maior a homogeneidade das propriedades da amostra obtida.

4.1.3 Refinamento de estrutura cristalina pelo método de Rietveld

De modo a realizar a caracterização cristalina da prata, os padrões de difração foram submetidos ao processo de refinamento de estrutura cristalina pelo método de Rietveld. Com base nesses cálculos de estrutura foi possível obter dados importantes sobre o resíduo como: tamanho de partícula, densidade e o seu parâmetro de rede. Os resultados obtidos são mostrados na tabela 3:

Tabela 3. Dados obtidos pelo refinamento de estrutura pelo método Rietveld

Amostra	Estrutura Cristalina	Densidade (g/cm ³)	Parâmetro de rede (Å)	Tamanho médio de nanopartícula (nm)
AgNp's	CFC	6,310	4,08784	33,63

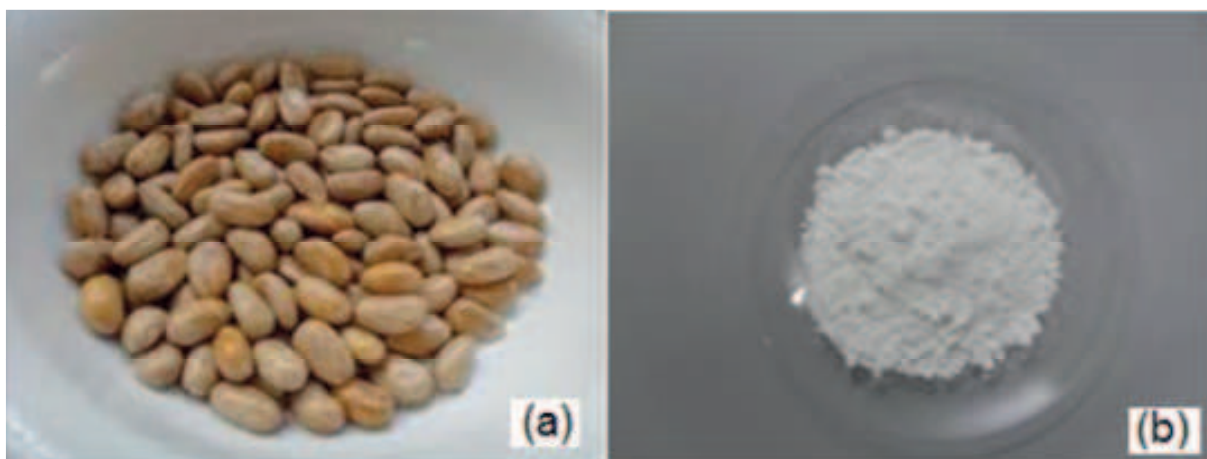
Fonte: Própria

Fazendo o comparativo do tamanho médio de nanopartícula fornecido pelo método de Rietveld com a análise de DLS temos tamanhos de 33,63nm e 28,99nm, respectivamente. O método de Rietveld baseia-se na equação de Scherrer para determinação do tamanho de partículas enquanto o DLS é uma técnica baseada no espalhamento dinâmico de luz decorrido do movimento Browniano das partículas permitindo assim a comparação entre um valor prático e um teórico.

A partir dos valores obtidos foi calculado os valores médios para o conteúdo da fase cristalina analisada e estimado um intervalo de confiança para um nível de $\alpha=0,05$.

4.2 Caracterização do Amido

A Figura 4 ilustra os caroços de jaca após a lavagem e o amido extraído do caroço de jaca.

Figura 4. (a) Caroços de jaca após lavagem e (b) amido extraído.

Fonte: Própria

De acordo com a Figura 4(b) o amido extraído do caroço de jaca, apresenta coloração branca, típica de amidos comerciais.

O teor de umidade encontrado no amido de jaca foi de 9,12%, inferior aos 15% estabelecido pela legislação em vigor para farinhas vegetais.

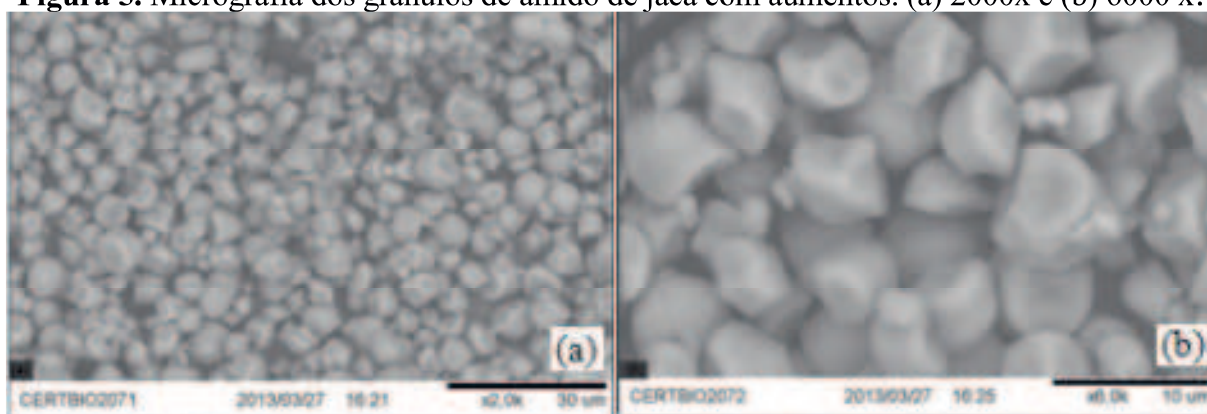
O amido apresentou um teor de cinzas de 0,34%, abaixo do teor máximo de 4% permitido para a farinha de vegetais pela legislação brasileira.

4.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

A Figura 5 ilustra a micrografia dos grânulos de amido de jaca com aumento de 2000x (a) e 6000x (b).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiu analisar a morfologia dos grânulos de amido de jaca. Os grânulos de amido do caroço da jaca apresentaram formato arredondado, na forma de sino, alguns em formatos irregulares apresentando cortes na sua superfície que são característicos deste amido.

Figura 5. Micrografia dos grânulos de amido de jaca com aumentos: (a) 2000x e (b) 6000 x.

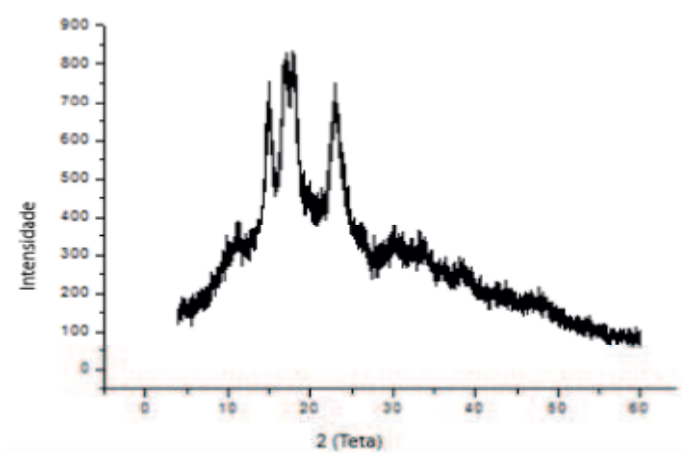


Fonte: Própria

4.2.2 Difração de Raio – X - DRX

A Figura 6 ilustra o difratograma de difração de raios-X do amido extraído do caroço de jaca.

Figura 6. Difratograma de Raios-X do amido da jaca



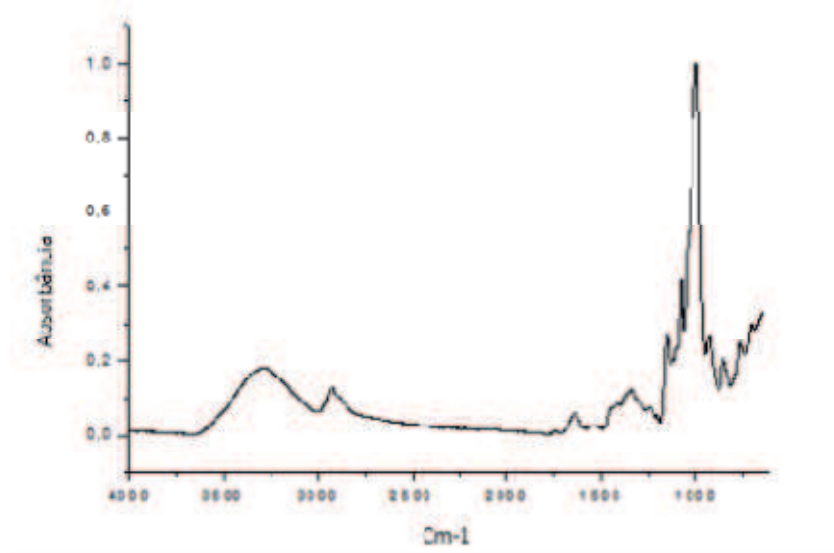
Fonte: Própria

O amido de jaca apresentou difratograma de raios-X com picos em 2θ com intensidades de 15,2, 17,0 e 18,6 e 23,3 referentes ao padrão de cristalinidade do tipo A. A cristalinidade tipo A ocorre na maioria dos cereais (milho, arroz, trigo, aveia) e é descrita como uma unidade celular monocíclica altamente condensada e cristalina, onde 12 resíduos de glicose de duas cadeias no sentido anti-horário abrigam quatro moléculas de água entre as hélices (OATES, 1997; ELIASSON, 2004).

4.2.3 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

A Figura 7 ilustra o espectro no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

Figura 7. Espectro no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do amido de jaca



Fonte: Própria

No espectro de infravermelho do amido extraído do caroço de jaca, (Figura 6), observam-se absorções típicas do amido.

As bandas referentes a deformações moleculares existentes nas moléculas de amido a 3400 e 1650 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento e a deformação angular de ligações —OH . Além dessas bandas o FTIR representou bandas de absorção a aproximadamente 2926 cm^{-1} e 2897 cm^{-1} que indicam estiramento C-H. As Bandas de absorção em 1648 cm^{-1} e 1400 - 1460 cm^{-1} correspondem à água ligada e C-C e C-O-H, respectivamente. A posição da banda relativa à água é dependente da cristalinidade do polissacarídeo. As absorções em

1340 cm^{-1} e 1024 cm^{-1} tem sido relacionada a deformações de grupos C-OH. Os modos relacionados a deformações CCH foram identificados em torno de 1418 cm^{-1} , 1205 cm^{-1} e 1080 cm^{-1} , enquanto que estiramentos C-O e C-C correspondem a bandas em 1153 cm^{-1} , 1107 cm^{-1} e 933 cm^{-1} .

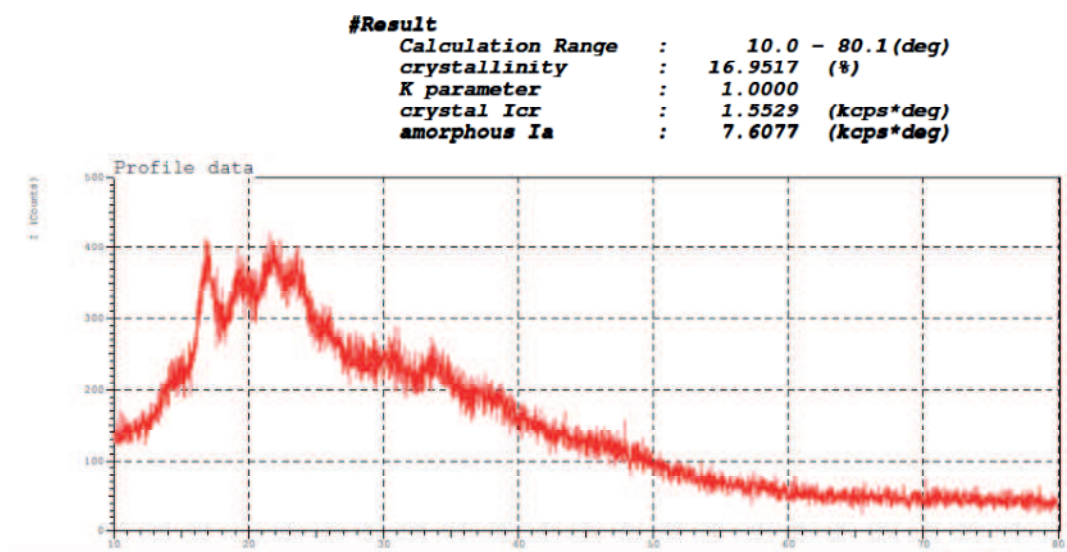
4.3 Caracterização do Hidrogel/AgNps

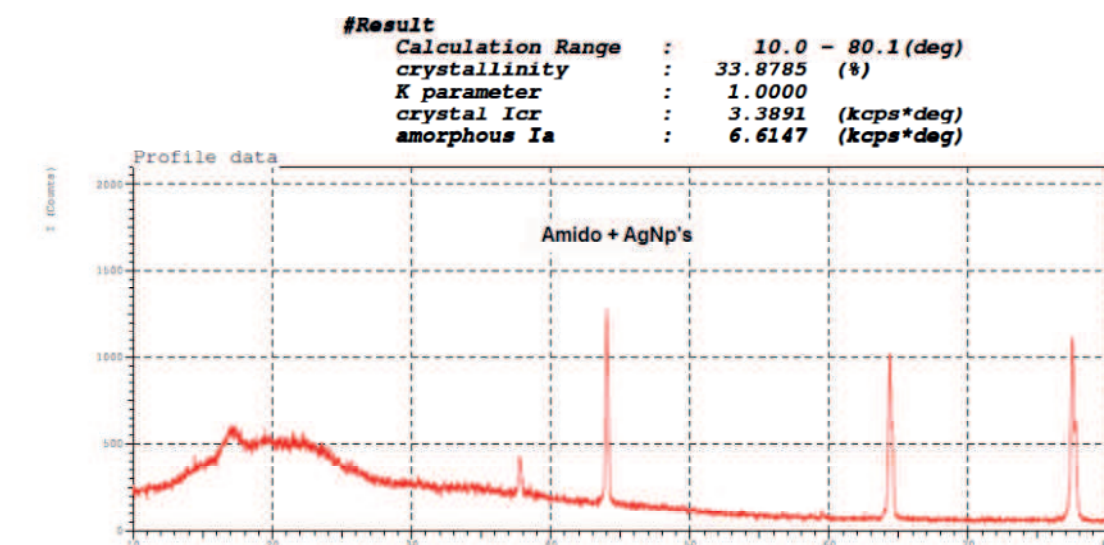
4.3.1 Difração de Raios X – DRX

A Figura 8 ilustra o difratograma de raios-X com o cálculo do grau de cristalinidade do hidrogel de amido e do hidrogel de amido/AgNp's.

O hidrogel de amido apresentou difratograma de raios X com picos em 2θ referentes ao padrão de cristalinidade do tipo A com intensidades de 15,2; 17,0; 18,6 e 23,3 e grau de cristalinidade de 16,95%. O hidrogel de amido/AgNp's apresenta picos bem definidos, indicando uma cristalinidade de 33,87% e com posições consistentes com a fase cristalina cúbica da prata (Dell Colle et. al., 2008). Este resultado indica que houve incorporação das nanopartículas de prata no hidrogel, ocorrendo um aumento no grau de cristalinidade da amostra com prata.

Figura 8. DRX do hidrogel de amido (a) e do amido/AgNp's (b).



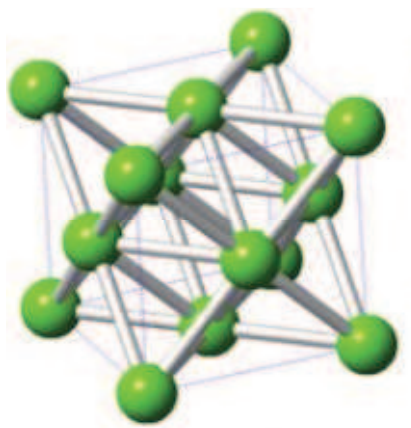


Fonte: Própria

Através dos picos observados na figura 8 (b) temos um padrão de estruturas cristalinas.

No perfil de difração do hidrogel sem AgNps temos que o mesmo é característico de estruturas poliméricas amorfas sem picos de cristalinidade, já para o perfil de difração do hidrogel com AgNps temos a representação dos planos cristalográficos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), (3 1 1) e (2 2 2), os quais de acordo com o *Internacional Center Diffraction Data* (ICDD) correspondem à estrutura cristalina cúbica de face centrada da prata metálica, confirmando a presença de prata metálica (AgNps) na amostra. Também é possível constatar um aumento na cristalinidade do hidrogel, o qual para o hidrogel sem AgNps é de 16,9517% e para o hidrogel com AgNps 33,8785%, sendo outro indicativo da incorporação do AgNps no hidrogel.

Figura 9. Célula unitária das AgNp's



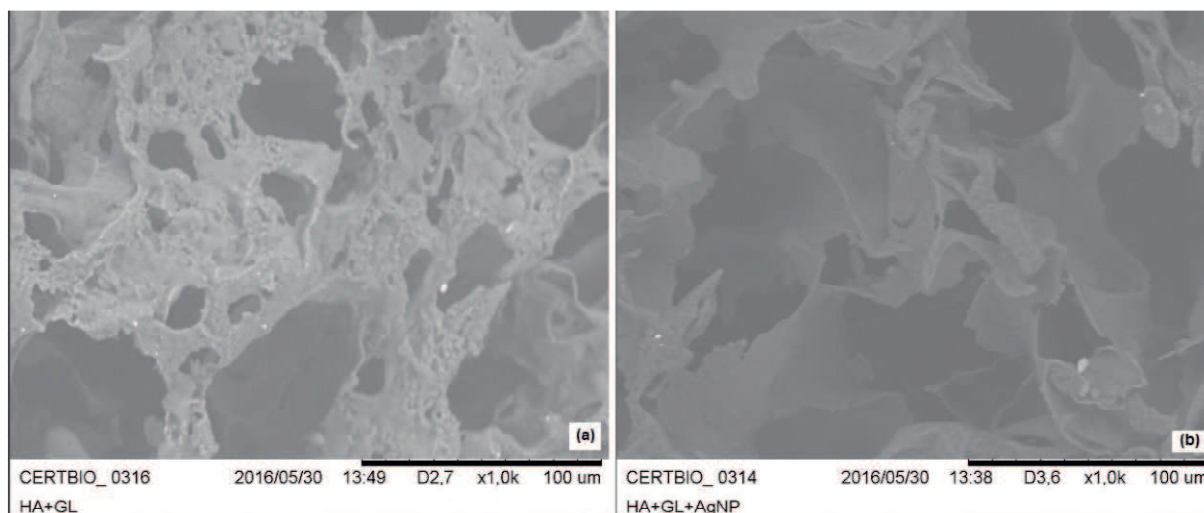
Fonte: própria

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura –EV/EDS

A Figura 10 ilustra o MEV do hidrogel de amido e do hidrogel de amido/AgNp's.

Através da Figura 10 (a) observa-se que o hidrogel de amido apresentou um aspecto irregular e desorganizado. Na Figura 10 (b) verifica-se que a presença das AgNp's fragilizou o hidrogel deixando com uma espessura mais fina.

Figura 10. MEV do hidrogel de amido (a) e do amido/AgNp's (b).

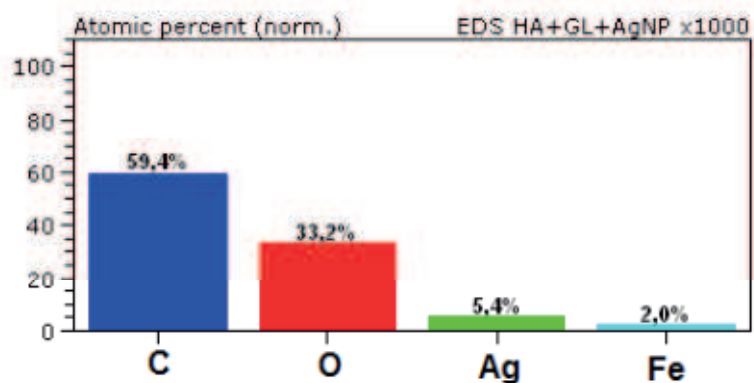


Fonte: Própria

Os resultados do MEV demonstraram que a presença das AgNps gerou um enfraquecimento no hidrogel observado pela presença do aparecimento de “laminulas” no hidrogel com AgNp's, demonstrando uma espessura mais fina sendo motivo para a falha no teste de intumescimento.

A análise quantitativa do MEV-EDS apresentou porcentagens de prata e ferro no hidrogel, como mostra a Figura 11.

Figura 11. EDS do hidrogel de amido/AgNp's.



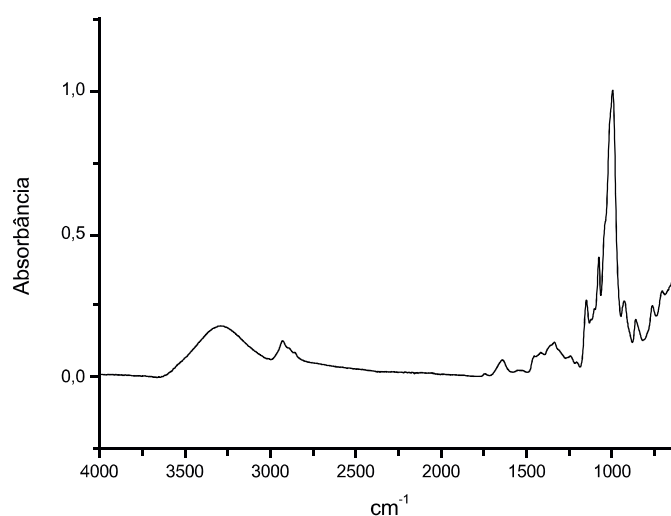
Fonte: Própria

O resultado de EDS corrobora com o DRX, uma vez que apareceu prata na composição do hidrogel. Foi observado também um percentual de Ferro, que pode ser devido a alguma contaminação na água utilizada na síntese.

4.3.3 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

A Figura 12 apresenta os Espectros de FTIR para o hidrogel de amido. O espectro apresentou bandas de absorção de 3000 a 3500 cm^{-1} correspondente à absorção dos grupos hidroxila livre inter e intramolecular do amido. Bandas de absorção a aproximadamente 2926 cm^{-1} e 2897 cm^{-1} indicam estiramento C-H. As Bandas de absorção em 1648 cm^{-1} e 1400-1460 cm^{-1} correspondem à água ligada em C-C e C-O-H, respectivamente. Bandas localizadas a aproximadamente 1458 cm^{-1} , 1242 cm^{-1} e 860 cm^{-1} são designadas como vibrações associadas com grupos CH_2 . As absorções em 1340 cm^{-1} e 1024 cm^{-1} tem sido relacionadas a deformações de grupos C-OH. Os modos relacionados a deformações C-CH foram identificados em torno de 1418 cm^{-1} , 1205 cm^{-1} e 1080 cm^{-1} , enquanto que estiramentos C-O e C-C correspondem a bandas em 1153 cm^{-1} , 1107 cm^{-1} e 933 cm^{-1} (PELISSARI, 2009).

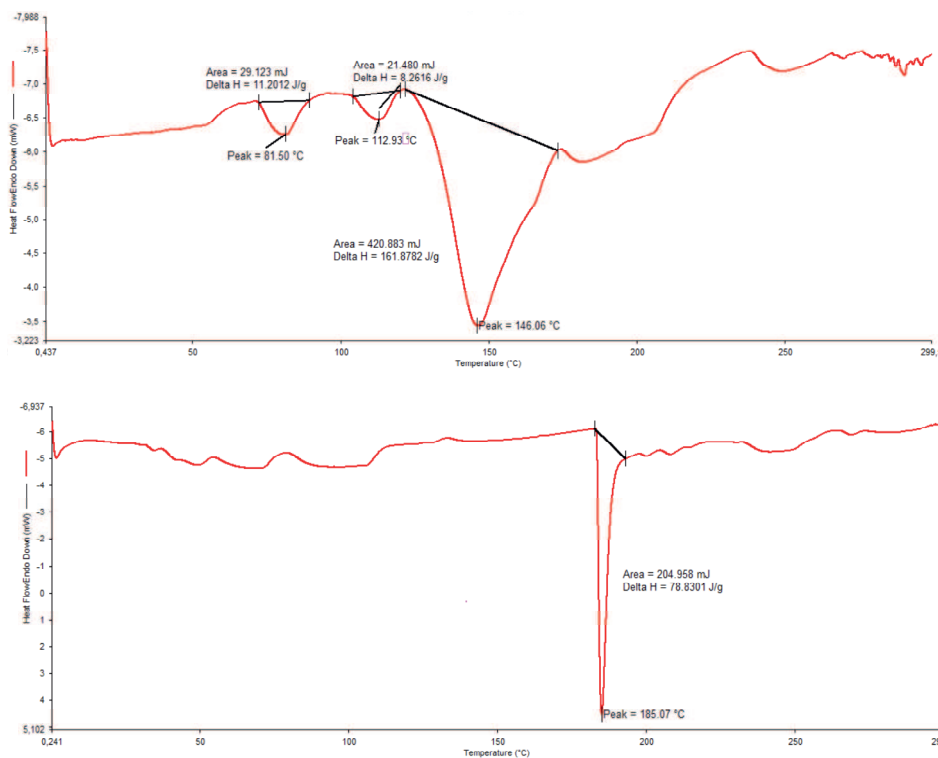
Figura 12. FTIR do hidrogel de amido.



Fonte: Própria

4.3.4 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC

Figura 13. Ilustra o DSC do hidrogel sem AgNp's (a) e hidrogel com AgNp's (b).



Fonte: própria

Através da Figura 13 (a) observa-se um evento na temperatura de **146,06 °C** correspondente a degradação do amido o qual, quando comparado a Figura 12 (b) ocorre na temperatura de **185,07 °C** sendo explicado pelo aumento acima de 100% na cristalinidade do hidrogel resultante da incorporação da AgNp's, contribuindo no aumento da sua resistência térmica. Esse evento também contribui como evidência da incorporação das AgNp's no hidrogel.

4.3.5 Avaliação Biológica

A Tabela 3 apresenta o percentual de Citotoxicidade dos hidrogéis de amido de jaca. De acordo com a norma ABNT NBR ISO 10993-5:2009 a viabilidade celular deve ser $\geq 70\%$ em comparação com o grupo controle.

Tabela 4. Percentual de Citotoxicidade dos hidrogéis de amido sem e com as AgNp's.

Resultado			
Amido		Amido + AgNp's	
V (%)	U (%)	V (%)	U (%)
80,2	2,7	80,3	3,4

Fonte: própria

Onde: V = viabilidade celular

U = Incerteza

Os resultados observados na Tabela 3 confirmam que as amostras analisadas se apresentaram em conformidade com a norma utilizada. Isto demonstra a possibilidade de aplicação como biomaterial.

4.3.6 Determinação da Cinética de Intumescimento (*Q*)

Os resultados mostraram que os hidrogéis possuem a capacidade de reter uma grande quantidade de água na sua estrutura após a hidratação, porém não alcançando um ponto de equilíbrio, se desmanchando logo após intumescer.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados assim como objetivado inicialmente os hidrogéis sintetizados apresentaram a presença de AgNp's como pode ser observado nos resultados do DSC, DRX, EDS, os quais constataram aumento da estabilidade térmica do material, presença de prata cristalina na estrutura, e determinação qualitativa de 5,4% de Ag no hidrogel. Modificações estruturais foram observadas no MEV resultando no enfraquecimento da estrutura do hidrogel. O aumento da citotoxicidade em conjunto com os demais resultados possibilitou concluir que o hidrogel com AgNp's é um material com potencial para aplicação como curativo.

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, K.R., HENKEL, T., e POPP, J., “Quantitative online detection of low-concentred drugs via a SERS microfluidic system”. *Chempyschem* 2007, 8, 2665.

AGARWAL, A.; NELSON, T. B.; KIERSKI, P. R.; SCHURR, M. J.; MURPHY, C. J.; CZUPRYNSKI, C. J; et al. Polymeric multilayers that localize the release of chlorhexidine from biologic wound dressings. *Biomaterials*. Elsevier Ltd; 2012 Oct;33(28):6783-92.

BECHTOLD, M. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata como agente biocida em tinta poliuretânica hidrossolúvel. 19 de maio de 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.

BEER, C.; FOLDBJERGA, R.; HAYASHIB, Y.; SUTHERLANDB, D.; AUTRUPA, H. Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion? *Toxicology Letters*, v. 208, n. 3,p. 286– 292, 2012.

BOBBIO, F.O.; EL-DASH, A.A.; BOBBIO, P.A.; RODRIGUES, R.L. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus*). *Cereal Chemistry*, v.55, p.505-511, 1978.

BLANES, L. Tratamento de feridas. Baptista-Silva JCC. *Cirurgia vascular: guia ilustrado*. São Paulo: 2004. Disponível em: <<http://baptista.com>> Acesso em 15 nov.2016.

CHEN, X.; SCHULUESENER H. Nanosilver: A nanoproduct in medical application. *Toxicol Lett* 2008; 176(1): 1-12.

CHOPRA, I. 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59:587-590.

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

FABREGA, J.; LUOMA, S.; TYLER, C.; GALLOWAY, T.; LEAD, J. Silver Nanoparticles: behavior and effects in the aquatic environment. *Environ Int* 2011; 37(2):517-431.

FABREGA, J.; FAWCETT, S. R.; RENSHAW, J. C.; LEAD, J. R. Silver nanoparticle impact on bacterial growth: effect of pH, concentration, and organic matter. *Environ. Sci. Technol.* Birmingham, v. 43, 7285-7290, 2009.

FELT, O.; FURRER, P.; MAYER, J. M.; PLAZZONET, B.; BURI, P; GURNY, R. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *Int J Pharm.* v. 180, p.185-193, 1999.

W. R. GLOMM, "Functionalized gold nanoparticles for applications in bionanotechnology," *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 26, no. 3, pp. 389-414, 2005.

GUZMÁN, M.G.; DILLE, J.; GODET, S. 2009. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2:104-111.

HUEBINGER, R. M.; GOMEZ, R.; McGEE, D.; CHANG, L. Y.; BENDER, J. E.; O'KEEFE, T; et al.. Association of mitochondrial allele 4215C with increased risk for sepsis-related organ dysfunction and shock after burn injury. *Shock* (Augusta, Ga.). 2010 Jan;33(1):19-23.

INOCENTINNI-MEI, L. C.; MARIANI, P. D. S. C. Visão Geral sobre Polímeros ou Plásticos Ambientalmente Biodegradáveis. (PADs). 2005.

JEEVANDA, T., SIDDARAMAIAH, Synthesis and characterization of polyaniline filed PU/PMMA interpenetrating polymer networks. *European Polymer Journal*, v.39, p. 569-78, 2003.

JIN, R. C., CAO, Y.C., HAO, E. C., METRAUX, G. S., SCHATZ, G. C. e MIRKIN, C. A., "Controlling anisotropic nanoparticle growth trough plasmon excitation". *Nature* 2003, 425, 487.

KHATTAK, C.P.; COX, D.E. Profile analysis of x-ray powder diffractometer data-structural refinement of $\text{La}_{0.75}\text{Sr}_{0.25}\text{CrO}_3$., *Journal of Applied Crystallography*, v.10, p. 405-411, 1977.

LEE, Y. M.; KIM, S. S.; PARK, M. H.; SONG, K. W.; SUNG, Y. K.; KANG, I. K. β -Chitin-based wound dressing containing silver sulfurdiazine. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. V. 11, n 12, p. 817-823, 2000.

LEONEL, M.; OLIVEIRA, M.A.; FILHO, J.D. Espécies tuberosas tropicais como matérias-primas amiláceas (Tropical tubers as starchy raw materials). *Revista Raízes Amidos Tropicais (RAT)*, Botucatu, v.1, p.49-68, 2005.

LIO, P.; KAYE, E. T. Topical antibacterial agents. *Infectious disease clinics of North America*. 2004 Sep; 18(3):7 17-33,x.

LIU, Z., STEELE, J.M., SRITURAVANICK, W., PIKUS, Y., SUN, C., ZHANG, e X., "Focusing surface plasmons with a plasmonic lens". *Nano Lett.* 2005, 5, 1726.

MACKIE, P.E.; Young, R.A., Profile-fitting-structure-refinement applied with X-ray powder data. *Acta Crystallographica*, v. 31, p. S198-S198, 1975.

MAHL, D.; DIENDORF, J.; MEYER-ZAIKA, W.; EPPLE, M. Possibilities and limitations of different analytical methods for size determination of a bimodal dispersion of metallic nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical. Eng. Aspects*, v. 377, p.386-392, 2011.

MALMROS, G.; THOMAS, J.O., Least-squares structure refinement based on profile analysis of powder film intensity data measured on an automatic microdensitometer., *Journal of Applied Crystallography*, v. 10, p. 7-11, 1977

MALVERN. Zetasizer Nano Series User Manual. User Manuals, England, 2004. Disponível em: < http://www.biophysics.bioc.cam.ac.uk/files/Zetasizer_Nano_user_manual_Man0317-1.1pdf>. Acesso em: 19/12/2016.

MOLINA, M.A.; RIVAROLA, C.R.; BARBERO, C.A. Study on partition and release of molecules in superabsorbentthermosensitivenanocomposites. *Polymer*, v.53, n.2, p. 445-453. January 2012.

MORONES, J.R.; ELECHIGUERRA, J.L.; CAMACHO, A.; RAMIREZ, J.T. 2005. The bacterial effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16:2346-2353.

MOYER, C. A.; BRETANO, L.; GRAVENS, D. L.; MARGRAF, H. W.; MORFANO, W. W. *Arch. Surg.* 90, 812. 1965.

C. B. MURRAY, C. R. KAGAN, e M. G. BAWENDI, "Synthesis and Characterization of Monodisperse Nanocrystals and Close-Packed Nanocrystal Assemblies". *Annu Rev Mater Sci* 2000, 30, 545.

NAIR, L.S.; LAURENCIN, C.T. Silver nanoparticles: Synthesis and therapeutic applications. *J. Biomed. Nanotech.*, v. 3, 301-316, 2007.

NIE, S. e EMORY, S. R., "Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering". *Science* 1997, 275, 1102.

NUSBAUM, A. G.; GIL, J.; RIPPY, M. K.; WARNE, B.; VALDES, J.; CLARO, A.; et al. Effective method to remove wound bacteria: comparison of various debridement modalities in a in vivo porcine model. *The Journal of surgical research*. Elsevier Inc; 2012 Aug;176(2):701-7.

OZBAY, E., “Plasmonics: merging photonics and electronics at nanoscale dimensions”. *Science* **2006**, 311, 189.

Pal, M., E. HORVATH, T. JANDA, E. PALDI, and G. SZALAI, 2006. Physiological changes and defence mechanisms induced by cadmium stress in maize. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 169: 239–46

PARVEEN, S.; MISRA, R.; SAHOO, S.K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomed-Nanotechnol.*, v. 8, p. 147-166, 2012.

PATEL, A.; MEQUANINT, K. Hydrogel Biomaterials. In: *Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges*, Fazel-Rezai, R. (Ed.), InTech, 2011, cap. 14.

PATEL, A.; MEQUANINT, K. Hydrogel Biomaterials. In: *Bio Engineering – Frontiers and Challenges*, Fazel-Rezai, R. (Ed.), InTech, 2011, Cap. 14, p. 275-296.

PAWDE, S. M.; DESHMUKH, K. *Characterization of polyvinyl alcohol/gelatin blend hydrogel films in controlled release*. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 11, 1-35, 1993.

PENNA, A. L. B. Hidrocolóides: uso em alimentos. *Food Ingredients*, São Paulo, vol. 3, n. 17, p. 58-64, 2002.

PEPPAS, N. A., BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 50, n. 1, 27-46, 2000.

PEPPAS, N.A.; KHARE, A.K. Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogel in controlled release. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 11, 1-35, 1993.

PETICA, A.; GAVRILIU, S.; LUNGU, M.; BURUNTEA, N.; PANZARU, C. 2008. Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering B*, 152:22-27.

RAI M., YADAV A., GADE A., Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials; *Biotechnology Advances* 27 76–83 2009.

RIETVELD, H.M., Line profile of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement, *Acta Crystallographica*, v. 22, p.151-152, 1967.

ROSIK, J. M.; RUCINSKA-REYBAS, A.; PEKALA, W. Method of Manufacturing of Hydrogel Dressings, US Patent nº 4,817,149, 1989.

SAMUEL, J. C.; CAMPBELL, E. L. P.; MJUWENI, S.; MUYCO, P.; CAIRNS, B.; CHARLES, G. The epidemiology, management, outcomes and areas for improvement of burn care in central Malawi: an observational study. *The journal of international medical research*. 2011. Jan;39(3):879-9.

SANTOS, L.S.; BONOMO, R.C.F.; FONTAM, R.C.I.; BONOMO, P.; LEITE, C. X. S.; SANTOS, D. O.; *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.15, n.3, p. 255-261, 2013

SCHOCH, T. L. Advances, in, carbohydrates, chemistry. v. 1, 1945, 247p., Academic Press, New York.

SILVA, E.B.; Recuperação de prata dos resíduos de indústria farmacêutica e estudo nanocristalino. 2001. 71 f. Dissertação em (Mestrado em Química) – Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Universidade do Ceará, Ceará. 2011.

SUGIMOTO, T. Preparation of monodispersed colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 28, p. 65-108, 1987.

TODAR, K. Bacterial Resistance to Antibiotics em *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. [s.d] Disponível em: <<http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial.html>> Acesso em 15 nov.2016.

USKOKOVIC, V. Nanotechnologies: What we do not know. *Tecnology in Society*. 29, 1, p. 43-61, 2007.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. Tratado de infectologia 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2006. In REMPEL, L.C.T.; TIZZOT, M.R.P.A.; VASCO, J.F.M. Incidência de infecções bacterianas em pacientes queimados sob tratamento em hospital universitário de Curitiba. *Ver. Bras. Queimaduras*. 10, n. 1, p. 3-9, 2011.

XIA, Y.N. e HALAS, N.J., "Shape-controlled synthesis and surface plasmonic properties of metallic nanostructures". *MRS Bull*. 2005, 30, 338.

XIA, Y.N., et al., "One-dimensional nanostructures: Synthesis, characterization, and applications". Adv. Mater. 2003, 15, 353.

WEBER, J. and McManus, A. Infection control in burn patients. Burns, v. 30, p. A16-A24, 2004.

YI, H.; WU, L. Q.; BENTLEY, W. E.; GHODSSI, R.; RUBLOFF, G. W.; CULVER, J. N.; PAYNE, G. F. Biofabrication with Chitosan. Biomacromolecules, v 6, n 6, p. 2881-2894, 2005.

YOUNG, R.A.; MACKIE, P.E.; E VON DREELE, R.B., Application of the pattern-fitting structurerefinement method to X-ray powder diffractometer patterns., Journal of Applied Crystallography, v.10, p. 262-269, 1977.

ZOU, S.L. e SCHATZ, G.C., "Metal nanoparticle array waveguides: Proposed structures for subwavelenth devices". Phys. Rev. B 2006, 74.