



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS  
CAMPUS V – MINISTRO ALCIDES CARNEIRO  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**SILVANA CARTAXO DA COSTA**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE  
XILANA PELA TÉCNICA DE RETICULAÇÃO POLIMÉRICA INTERFACIAL  
USANDO TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2011**

SILVANA CARTAXO DA COSTA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE XILANA  
PELA TÉCNICA DE RETICULAÇÃO POLIMÉRICA INTERFACIAL USANDO  
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

JOÃO PESSOA – PB

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL CAMPUS V – UEPB

C837d Costa, Silvana Cartaxo da.  
Desenvolvimento e caracterização de micropartículas de xilana pela técnica de reticulação polimérica interfacial usando trimetafosfato de sódio / Silvana Cartaxo da Costa. – 2011.  
45f. : il. color

Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, Curso de Ciências Biológicas, 2011.  
“Orientação: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira, Curso de Ciências Biológicas”.

1. Xilana. 2. Micropartículas de xilana. 3. Trimetafosfato de sódio. I. Título.

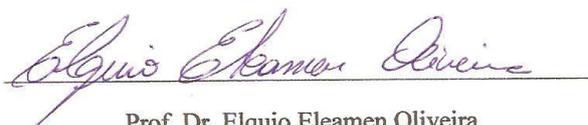
21. ed. CDD 581.76

SILVANA CARTAXO DA COSTA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE  
XILANA PELA TÉCNICA DE RETICULAÇÃO POLIMÉRICA INTERFACIAL  
USANDO TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO**

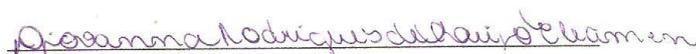
Aprovado em 25 de novembro de 2011

BANCA EXAMINADORA



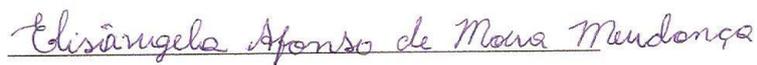
Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

Orientador



Esp. Giovanna Rodrigues de Araújo Eleamen

Examinadora



Prof.ª Msc. Elisângela Afonso de Moura Mendonça

Examinadora

Aos meus pais, Maria Neuma e Autinoel Costa, por todo o incentivo e dedicação, e aos meus tios, Maria do Socorro e Geraldo Moreira, por acreditarem no meu sonho e por terem sido fundamentais na realização desse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as graças que me proporcionou e vem me proporcionando.

Ao meu orientador, Elquio Eleamen Oliveira, por ter me aceitado como orientanda e por todo o ensinamento, dedicação e compreensão.

Á meus colegas de trabalho, Camilla Aquino (Nano), por sempre ter acreditado em mim e por toda ajuda, compreensão e dedicação, e a Antoniel Gomes, por ter ajudado na extração da xilana e nos momentos de dúvidas.

Aos professores da UEPB, pela minha formação.

Aos professores Francisco Jaime, pelas análises de espectrometria de infravermelho, Ricardo Moura, por tirar minhas dúvidas sempre que precisei, e a José Tavarez, pela ajuda nos dados estatísticos.

AMonique Christina Salgado, Henrique Marcelino e Bartolomeu Souza do Laboratório de Sistemas Dispersos - UFRN, por terem realizado a contagem das micropartículas.

Ao estabelecimento comercial Casa do Sertão por ter disponibilizado o sabugo de milho.

Aos meus pais, Maria Neuma e Autinoel, que mesmo distantes, me apoiaram nas horas em que eu mais precisei me dando conselhos e conforto nos momentos de angustia.

Ao meu namorado, Anderson, por todo o conforto nas horas em que me encontrava em desespero, pelo carinho, confiança e toda dedicação.

A minha família que sempre me apoiou durante a realização desse trabalho, principalmente Tia Socorro e Tio Geraldo por terem sido os meus pais durante toda essa minha jornada.

As minhas amigas de sala pelo companheirismo e dedicação.

Aos técnicos de laboratório André, Alena e Tatiana (Tati).

E ao CNPQ e PROPESQ/UEPB pelo apoio financeiro.

"Aliás, sabemos que todas as coisas concorrem para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são os eleitos, segundo os seus desígnios” (Romanos 8,28).

## RESUMO

O desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármaco é considerado uma abordagem importante para obter um efeito farmacológico desejado de uma maneira eficiente, o que é preferível a alterar a natureza química da droga. Esta abordagem pode ser aplicada para prolongar a liberação do fármaco e melhorar a eficácia terapêutica, segurança e aceitação do paciente. Entre esses sistemas se encontram as Micropartículas, que são sistemas micrométricos (1-1000  $\mu\text{m}$ ) que podem ser classificados de acordo com a sua constituição em: microesferas, que são sistemas matriciais monolíticos, e microcápsulas, que são sistemas reservatórios contendo uma substância ativa ou núcleo rodeado por uma membrana ou revestimento. Os polímeros biodegradáveis tornam-se cada vez mais importante no desenvolvimento desses sistemas. A xilana, um polímero largamente encontrado na natureza, é degradada por enzimas produzidas especificamente pela microflora colônica, o que a torna uma alternativa na produção de sistemas microparticulados. Assim, esse trabalho teve como objetivo produzir micropartículas pela técnica de reticulação polimérica interfacial usando trimetafosfato de sódio como agente reticulante. A partir desse método foram produzidas micropartículas com a forma predominantemente esférica e bem distribuídas individualmente. A espectroscopia na região do infravermelho confirmou a reticulação da xilana com o trimetafosfato de sódio, uma vez que formou ligações éster fosfato, identificadas pelo pico  $1258\text{ cm}^{-1}$ . Foi visto também que durante a produção das micropartículas, diversos parâmetros, tais como velocidade de agitação, concentração do polímero e do reticulante, influenciam no tamanho das micropartículas. Concluindo, este trabalho mostrou que através da reticulação polimérica interfacial é possível produzir micropartículas de xilana usando trimetafosfato de sódio como agente reticulante.

**Palavras-chave:** xilana, micropartículas de xilana, trimetafosfato de sódio.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da xilana. ....	14
Figura 2: Estrutura química do trimetafosfato de sódio.....	16
Figura 3: Espectro no infravermelho da xilana pela técnica em pastilha de KBr. ....	25
Figura 4: Espectro na região do infravermelho das micropartículas de xilana, formulação F1. ....	27
Figura 5: Espectro na região do infravermelho da xilana e de F1. Ampliação da região entre 2000 $\text{cm}^{-1}$ e 0 $\text{cm}^{-1}$ . ....	28
Figura 6: Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes concentrações de STMP: (a) F9 (200mg); (b) F1(200mg) e (c) F2 (400mg) em aumento de 100X. ....	30
Figura 7: Gráfico representando a relação da concentração do STMP com o diâmetro médio. ....	31
Figura 8: Gráfico representando a relação inversa da velocidade de agitação com o diâmetro das micropartículas. ....	32
Figura 9: Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes velocidades de agitação: (a) F1 (800rpm); (b) F6 (1200rpm) e (c) F8 (1500rpm) em aumento de 10X.....	33
Figura 10: Gráfico representando a relação entre o tempo de reticulação com o diâmetro das micropartículas. ....	34
Figura 11: Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes tempos de reticulação: (a) F7 (2h); (b) F5 (4h) e (c) F1(6h) em aumento de 40X. ....	34
Figura 12: Gráfico representando a relação entre a concentração do polímero xilana com o diâmetro das micropartículas.....	35
Figura 13: Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes concentrações de xilana: (a) F10 (200mg); (b) F1(500mg) e (c) F3 (800mg) (d) F4 (1000mg) em aumento de 40X.....	36

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>11</b>
2.1. SISTEMAS MICROPARTICULADOS.....	11
2.2. XILANA .....	13
2.3. AGENTES RETICULANTES .....	15
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
3.1. OBJETIVO GERAL .....	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>19</b>
4.1. MATERIAIS.....	19
4.1.1. Matérias-primas.....	19
4.1.2. Equipamentos .....	19
4.1.3 Solventes, reagentes e outros materiais .....	19
4.2. MÉTODOS .....	20
4.2.1. Extração da xilana .....	20
4.2.2. Preparação das micropartículas de xilana .....	21
4.2.3. Análise das micropartículas.....	23
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
5.1. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO .....	25
5.2. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS MICROPARTÍCULAS.....	29
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>38</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A administração oral de uma forma farmacêutica é a via mais usual, confortável e conveniente para a liberação de uma substância ativa no organismo (SANTOS et al.,2004). Porém, na administração oral é comum acontecer perda de atividade do fármaco, o que é consequência da destruição parcial do princípio ativo através do trato gastrointestinal (por variações de pH ou devido a degradação enzimática) ou de má absorção (SALTÃO & VEIGA, 2001).

Nos últimos anos, a procura em estabelecer alternativas terapêuticas mais eficientes para os sistemas de liberação de fármacos tem sido bastante relevante, uma vez que proporciona maior segurança durante a administração do princípio ativo, além de diminuir os efeitos colaterais(CERA, 2001 apud FORMARIZet al., 2005). Desse modo, têm surgido diversos sistemas de administração de fármacos com a finalidade de modelar a cinética de liberação, de melhorar a absorção, de aumentar a estabilidade do fármaco ou de vetorizá-lo para uma determinada população celular (SALTÃO & VEIGA, 2001).

As formas farmacêuticas de liberação controlada requerem a administração menos frequente do medicamento com relação às formas convencionais(LYRA et al., 2007), além disso esses sistemas de liberação, comparadas as formas farmacêuticas convencionais, oferecem uma maior eficácia, toxicidade reduzida, maior aceitação do paciente e conveniência (KUMAR, 2000).

O controle de liberação de fármacos em sítios de ação específicos é capaz de permitir o melhoramento da velocidade de liberação e do regime de dosagem das substâncias, por meio da utilização de vetores (SCHAFFAZICK et al., 2003). Dentre estes vetores estão as micropartículas que são partículas sólidas, geralmente esféricas, com dimensões da ordem de 1 a 1000  $\mu\text{m}$ . Podem ser constituídas por matrizes poliméricas (microesferas) onde o fármaco pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à rede tridimensional formada pelo polímero ou por sistemas reservatórios (microcápsulas) onde o fármaco encontra-se encapsulado na forma sólida, líquida ou gasosa, separado do meio externo por uma membrana polimérica (ROSSANEZI, 2008; SILVA, C.et al., 2003).

O uso de partículas transportadoras de medicamentos é uma possível estratégia para a realização da entrega do fármaco no local de ação desejada e diminuição das interações indesejáveis em outros locais do corpo. Sendo as micropartículas uma das mais promissoras formas de liberação de doses controladas (BERTHOLD et al., 1998).

Os polímeros biodegradáveis têm sido de grande interesse na tecnologia de liberação controlada, devido à capacidade de serem reabsorvidos pelo corpo (BRANNON-PEPPAS, 1995). Um grupo interessante de polímeros com propriedade potencial para uso na área biomédica são as hemiceluloses, que são polissacarídeos disponíveis especialmente a partir de plantas anuais (resíduos de culturas agrícolas, tais como espigas de milho, grão de milho, hastes de trigo, cascas de semente e caules de cana de açúcar) (GARCIA et al., 2001).

A xilana, a mais comum hemicelulose, representa mais de 60% dos polissacarídeos existentes nas paredes celulares de espigas de milho (GARCIA et al., 2001), sendo a principal hemicelulose na maioria das plantas e o segundo polímero mais abundante na natureza, correspondendo a um terço da biomassa disponível na terra (KAYSERLIOĞLU et al., 2003).

Esse polissacarídeo pode ser insolúvel em água e solúvel em soluções alcalinas, sendo capaz de sofrer hidrólise enzimática por uma classe de enzimas denominada xilanases, que são produzidas por algumas espécies bacterianas existentes no organismo humano e localizadas em nível de cólon (FUJITA et al., 2002; NAGASHIMA JR., 2009), o que a torna um polímero promissor para a produção de sistemas de entrega de fármacos cólon-específico (OLIVEIRA et al., 2010).

Ao longo desse trabalho será apresentada uma técnica de produção de micropartículas de xilana por reticulação polimérica interfacial usando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante. Além disso, será avaliada a relação do diâmetro das micropartículas com a variação nas concentrações tanto do polímero quanto do agente de reticulação, bem como de seu tempo de agitação e de sua velocidade.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. SISTEMAS MICROPARTICULADOS

A tecnologia da microencapsulação tem sido utilizada em diversas indústrias, como na agrícola, alimentícia, médica, gráfica, cosmética (SILVA, C. et al., 2003) e no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas (PIMENTEL et al., 2007). Sendo definida como um processo pelo qual é possível isolar um produto ativo do meio externo através da formação de microesferas ou microcápsulas (HIRECH et al., 2003).

As micropartículas são sistemas micrométricos (1-1000  $\mu\text{m}$ ) que podem ser classificados, de acordo com a sua constituição, em: microesferas, que são sistemas matriciais monolíticos, e microcápsulas, que são sistemas reservatórios contendo uma substância ativa ou núcleo rodeado por uma membrana ou revestimento (PEREIRA et al., 2006; SILVA, C. et al., 2003). As primeiras são constituídas por matrizes poliméricas onde o fármaco pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à rede tridimensional formada pelo polímero. Já as microcápsulas são sistemas reservatórios onde o fármaco encontra-se encapsulado na forma sólida, líquida ou gasosa, separado do meio externo por uma membrana polimérica (ROSSANEZI, 2008; SILVA, C. et al., 2003). Ambas têm sido utilizadas com sucesso para uma grande variedade de fármacos e substâncias bioativas, incluindo proteínas, enzimas, hormônios, e vacinas (COSTA, R. 2002).

As aplicações para esses sistemas microparticulados na indústria farmacêutica são muito variadas. Entre essas aplicações estão: a proteção contra os agentes atmosféricos (umidade, luz, calor e/ou oxidação), diminuição ou eliminação da irritação gástrica ou efeitos não desejáveis provocados por alguns fármacos, redução da volatilidade, a utilização de compostos que são incompatíveis ou reativos entre si dentro da mesma formulação, melhoria das características de escoamento de pós, facilitação do manuseio de substâncias tóxicas, auxílio à dispersão de substâncias insolúveis em meio aquoso e produção de formas farmacêuticas de liberação controlada, sustentada e sítio-específico (LEONEL, 2010; PEREIRA et al., 2006; SILVA, C. et al., 2003).

Diversas técnicas podem ser utilizadas para preparar micropartículas poliméricas. Onde, a escolha da técnica depende das características do polímero, do fármaco e o uso pretendido (BAZZO et al., 2008). Entre esses métodos de microencapsulação estão: a coacervação, a evaporação do solvente, a reticulação polimérica interfacial, entre outros (BLASI et al., 2006; GARCIA et al., 2001; NAGASHIMA JR. et al., 2008).

A reticulação polimérica interfacial consiste basicamente na formação de uma emulsão contendo o agente reticulante. Para produção da emulsão são utilizados dois líquidos imiscíveis, no qual o polímero encontra-se solubilizado nas gotículas da fase dispersa. Em seguida é realizado a reticulação, induzida por um agente reticulante no sistema, proporcionando a deposição do polímero na interface da gotícula, formando assim a micropartícula (OLIVEIRA, 2006). O agente reticulante pode ser adicionado juntamente com o polímero solubilizado (LI et al. 2009b) ou após a formação da emulsão (PARIOT et al., 2000).

Li et al. (2009a) produziram micropartículas do tipo microesferas a partir dessa técnica, que consistiu na formação de uma emulsão água/água. Eles utilizaram como fase dispersa, solução de amido, trimetafosfato de sódio e hidróxido de sódio. E, como fase contínua, solução de polietilenoglicol (PEG). As microesferas apresentaram-se esféricas e bem individualizadas. Além disso, eles observaram que, entre todos os parâmetros que foram utilizados para observar a interferência no tamanho das partículas (concentração do polímero, concentração do reticulante, volume das proporções da fase dispersa e da fase contínua, entre outros), os que apresentaram resultados positivos foram a concentração do polímero e a proporção do volume entre as fases.

Entretanto, Li et al. (2009b) em seu trabalho, produziram micropartículas por meio da formação de uma emulsão água/óleo. Onde a fase aquosa apresentava solução de amido e de trimetafosfato de sódio. Já a fase oleosa, consistiu de parafina líquida e Span<sup>®</sup> 80. As micropartículas apresentaram-se esféricas, porém agregadas. Com relação a concentração do reticulante que foram utilizadas, foi observado que o diâmetro da micropartícula aumentava a medida que se elevava a concentração do mesmo.

Ambas as metodologias apresentaram sucesso com relação a sua estrutura e composição, sendo indicados para a liberação controlada de compostos bioativos em alimentos, como vitaminas (LI et al., 2009a; LI et al., 2009b).

Por outro lado, Pariotet al. (2000), produziram micropartículas de ciclodextrinas pela técnica de reticulação polimérica interfacial, utilizando como agente reticulante cloridrato de tereftaloíla. Foram feitas variações no procedimento padrão, em relação a velocidade de agitação, a concentração do agente reticulante e a concentração das ciclodextrinas. Os resultados mostraram que a média das micropartículas depende dos parâmetros da reação, ou seja, o diâmetro médio das micropartículas aumenta com o aumento da concentração de ciclodextrinas, e diminuem com o aumento da velocidade de agitação.

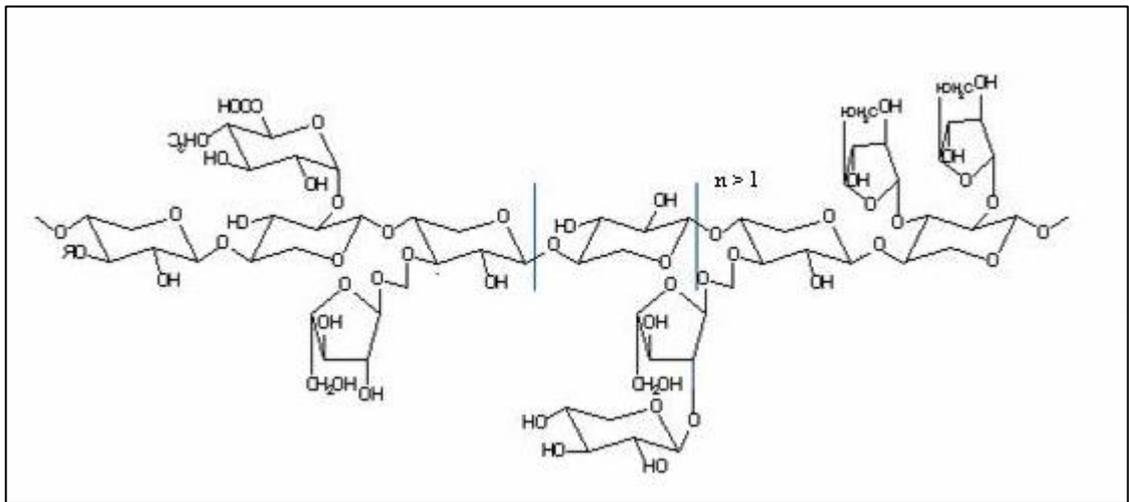
## 2.2. XILANA

Os polissacarídeos são polímeros de monossacarídeos encontrados em abundância, têm grande disponibilidade, são baratos e disponíveis em grande quantidade de estruturas com uma variedade de propriedades. Eles podem ser facilmente modificados quimicamente e bioquimicamente e são altamente estáveis, seguro, atóxico, hidrofílico e formam gel, além de serem biodegradáveis, o que sugere sua utilização em sistemas de liberação de fármacos em locais específicos (SINHA & KUMRIA, 2001).

Alguns polímeros importantes considerados como derivados da biomassa, como copolímeros de poli (ácido lático) e, polihidroxialcanoatos, e derivados de celulose, são produtos comerciais com aplicação bem sucedida na área biomédica, tais como a produção de suturas reabsorvíveis, dispositivos protéticos, agentes bioativos e sistemas de entrega de fármacos (GARCIA et al., 2001).

Um grupo interessante de polímeros com potenciais propriedades para uso na área biomédica são as hemiceluloses (GARCIA et al., 2001), que são os polissacarídeos não celulósicos mais abundantes na biomassa (LIGEROA et al., 2011), formado por um complexo de carboidratos poliméricos incluindo xilana, xiloglicana (heteropolímero de D-xilose e D-glicose), glicomanana (heteropolímero de D-glicose e D-manose), galactoglicomanana (heteropolímero de D-galactose, D-glicose e a D-manose) e arabinogalactana (heteropolímero de D-galactose e arabinose) (BIGAND et al., 2011; CHAA et al., 2008; COLLINS et al., 2005).

A xilana (Figura 1) é a principal hemicelulose na maioria das plantas, sendo um polissacarídeo estrutural importante nas células vegetais, e o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, representando cerca de um terço de todo o carbono orgânico renovável na terra (COLLINS et al., 2005; CUYVERS et al., 2011; KAYSERILIOĞLU et al., 2003; KOSEKI et al., 2006; OLIVEIRA et al. 2010; YANG et al., 2005). Dependendo de sua origem, a xilana pode ser encontrada em diversas variações, mas com todas apresentando a  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-xilopirranose como cadeia principal (SEDLMEYER, 2011).



**Figura 1:** Estrutura química da xilana (EBRINGEROVÁ & HEINZE, 2000 *apud* OLIVEIRA, 2006).

Segundo Sedlmeyer (2011), a classificação utilizada para a caracterização da xilana é baseada no grau de substituição e nos tipos de grupos laterais acoplados a sua cadeia principal. Logo, de acordo com Garcia et al. (2000) e Oliveira et al. (2010), a maioria das D-xilanas possui açúcares nas cadeias laterais, tais como o ácido 4-O-metil-D-glucurônico, O-acetil-L-arabinose, L-arabinose e ácido D-glucurônico. Sendo a estrutura química da xilana do sabugo de milho constituída principalmente por ácido D-glucurônico, L-arabinose e D-xilose (GARCIA et al., 2000). Além do mais, as xilanas apresentam-se interligadas com outras estruturas, até mesmo com a lignina, através de pontes de ácido ferúlico fazendo conexões com substituintes de arabinofuranose em sua cadeia principal (VAN DONGEN et al., 2011).

De acordo com Fundador (2011), a estrutura da xilana de plantas anuais é mais complexa devido a presença de arabinofuranose, xilopirranose, ramnose, ácido glicurônico e grupos acetil ligados a cadeia principal.

A xilana apresenta uma vasta aplicabilidade na indústria farmacêutica (HROMÁDKOVÁ & EBRINGEROVÁ, 1999; NAGASHIMA JR, 2009). Podendo ser extraída de diferentes produtos agrícolas incluindo a palha de trigo, caules de milho e espiga, sorgos e cana de açúcar, cascas e películas de amido, bem como de resíduos florestais e despolpa provenientes das folhosas e resinosas (KAYSERILIOĞLU et al., 2003).

Ela pode ser insolúvel em água e solúvel em soluções alcalinas, podendo ser hidrolisada e convertida a xilose por uma classe de enzimas denominada xilanases. Essas enzimas são produzidas por algumas espécies bacterianas existentes no organismo humano e localizadas em nível de cólon (FUJITA et al., 2002; NAGASHIMA JR, 2009). De acordo com estudos de Ebringerová et al. (1998) a xilana insolúvel em água (wis-X) apresenta baixa concentração de arabino-(4-O-metilglicurônio), já a solúvel (ws-X) é composta por uma cadeia principal similar, porém, além de arabinosil e ramos de glicuronosil, é constituída também por cadeias laterais de dissacarídeos, compostas por xilose e arabinose, bem como pequenas quantidades de galactose.

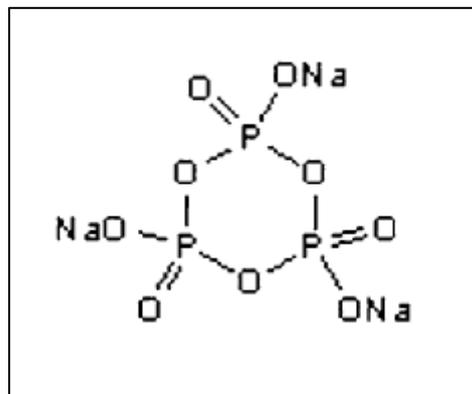
Olson et al. (1983) apud Garcia et al. (2001) avaliaram o efeito no processo digestivo humano sobre este polímero, e mostraram a capacidade da xilana em passar através do trato digestivo inalterado. Esta resistência à digestão a torna elegível como um potencial excipiente que poderia ser usada na indústria farmacêutica. Além disso, Schacht et al. (1996) apud Nagashima Jr. et al. (2008), relataram que, devido a complexa estrutura da xilana, a sua degradação completa requer a atividade de algumas enzimas que são especificamente produzidas pela microflora colônica humana. Portanto, a capacidade da xilana em passar pelo trato digestivo sem sofrer alterações, juntamente com a presença de enzimas específicas para biodegradabilidade no cólon, faz desse polímero uma matéria-prima adequada para área médica e especialmente como carreador de fármacos para a liberação colôn-específica (SINHA & KUMRIA, 2001; OLIVEIRA et al., 2010).

### 2.3. AGENTES RETICULANTES

Os reticulantes são moléculas de peso molecular bem menor quando comparado ao peso molecular da cadeia principal entre duas ligações cruzadas consecutivas, normalmente apresentando, no mínimo, dois grupos funcionais reativos que permitam a formação de ponte entre cadeias poliméricas (COSTA JR. & MANSUR, 2008). Neste sentido, os grupos amino e/ou hidroxila das redes poliméricas interagem com determinados agentes de reticulação permitindo a formação de redes poliméricas insolúveis em água (PAULINO, 2008).

Coimbra (2010) relatou em seu trabalho que a reticulação das cadeias de pectina, através dos grupos funcionais OH ou COOH por agentes reticulantes como o glutaraldeído, etileno glicol diglicidil éter e epiclorigrina, tem sido uma estratégia investigada na preparação de hidrogéis químicos. Porém, de acordo com Paulino (2008), os agentes de reticulação tais como epiclorigrina e glutaraldeído são prejudiciais ao meio ambiente e até mesmo ao ser humano devido a sua toxicidade. Logo, entre os agentes de reticulação que estão sendo recentemente utilizados, e que possuem características extremamente favoráveis para aplicação como a não toxicidade e a solubilidade em água estão: o trimetafosfato de sódio, tripolifosfato de sódio e os ácidos dicarboxílicos (PAULINO, 2008).

O trimetafosfato de sódio (STMP) (Figura 2) é um trifosfato cíclico (BEJENARIU et al., 2009; LACK et al., 2007), obtido pela condensação de ácido fosfórico (Pi) e pirofosfato (PPi) em alta temperatura. Por não apresentar efeitos nocivos à saúde descritos na literatura, foi relatado como uma agente reticulante eficaz para amidos (FANG et al., 2008).



**Figura 2:** Estrutura química do trimetafosfato de sódio.

Esse agente reticulante é um sólido de baixa toxicidade e sem efeitos adversos em seres humanos (DULONG et al., 2004; GUI-JIE et al., 2006; WOO & SEIB, 1997). E, além disso, de acordo com Dulong et al. (2004) e Autissier et al. (2010), ele não reage com grupos carboxílicos, a reticulação ocorre através de grupos hidroxila formando ligações éster.

Bejenari et al. (2009) estudaram a reação de reticulação da xantana com STMP, e observaram que essa reação começa a partir da transformação dos grupos hidroxilas da xantana em alcoolatos como um resultado da presença do NaOH. Enquanto isso o trimetafosfato de sódio vai sendo quebrado, devido a alcalinidade do meio, e consequentemente os alcoolatos vão se ligando ao STMP formando ligações éster fosfato. Além do mais, as condições alcalinas determinam a degradação do STMP pela abertura do ciclo trifosfato, o que também foi reportado nos trabalhos de Sang et al. (2010) e Kasemsuwan et al. (1998), onde eles relataram que a reticulação de amidos com trimetafosfato de sódio são realizadas em pH alcalino.

Autissier et al. (2010), Lackett et al. (2007) e Sang et al. (2007) também relataram essa reação de reticulação entre o polissacarídeo e o trimetafosfato de sódio. Primeiramente os grupos hidroxilas do polissacarídeo são transformados em alcoolatos, com a presença do NaOH. A segunda etapa é a abertura do anel devido o ataque do íon alcoolato para formar um trifosfato intermediário de STMP. A adição de outra cadeia do polímero a este produto intermediário leva a formação de um polissacarídeo monofosfato reticulado epirofosfato inorgânico.

Gliko-kabiret et al. (2000a) usaram o trimetafosfato de sódio para reticular a goma guar com o intuito de reduzir sua propriedade de intumescimento. A partir disso ele pode concluir que a reticulação desse polissacarídeo com STMP pode ser usada na produção de hidrogéis com propriedades de intumescimento controlada e reduzida. Além disso, outro estudo realizado por Gliko-kabiret et al. (2000b) mostrou que a goma guar fosfatada a partir do trimetafosfato de sódio pode ser usada potencialmente como transportador de fármacos cólon-específicos administrados oralmente com baixa solubilidade em água.

Assim, o trimetafosfato de sódio tem sido utilizado como agente de reticulação na indústria de alimentos para reticular amido, como também na produção de carreadores cólon-específicos (MAIRE et al., 2005).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral o desenvolvimento de micropartículas de xilana através do método de reticulação polimérica interfacial usando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir micropartículas de xilana através da reticulação polimérica interfacial;
- Avaliar e caracterizar as micropartículas obtidas quanto à morfologia e granulometria;
- Avaliar a interação ocorrida entre o trimetafosfato de sódio e a xilana após o processo de reticulação polimérica interfacial através de espectroscopia na região do infravermelho.
- O estudo de pré-formulação consistindo de diferentes concentrações do reticulante, do polímero, diferentes tempos de reticulação, e diferentes velocidades de agitação, para saber se há relação direta com o diâmetro das micropartículas.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. MATERIAIS**

#### **4.1.1. Matérias-primas**

- Xilana - produzida no Laboratório de Síntese e vetorização de Moléculas – LSVM, UEPB, Brasil.

#### **4.1.2. Equipamentos**

- Agitador Mecânico, modelo IKA RW 20 digital;
- Agitador Magnético, modelo ICA C-MAG HS 4;
- Balança Analítica, modelo KN300/3;
- Centrífuga, modelo CENTRIBIO 80-2B;
- Espectrofotômetro de infravermelho, modelo ThermoNicoletNexus 470;
- EstufaDeleo, modelo B2C;
- Microscópio óptico, modelo CX31, OLYMPUS.

#### **4.1.3 Solventes, reagentes e outros materiais**

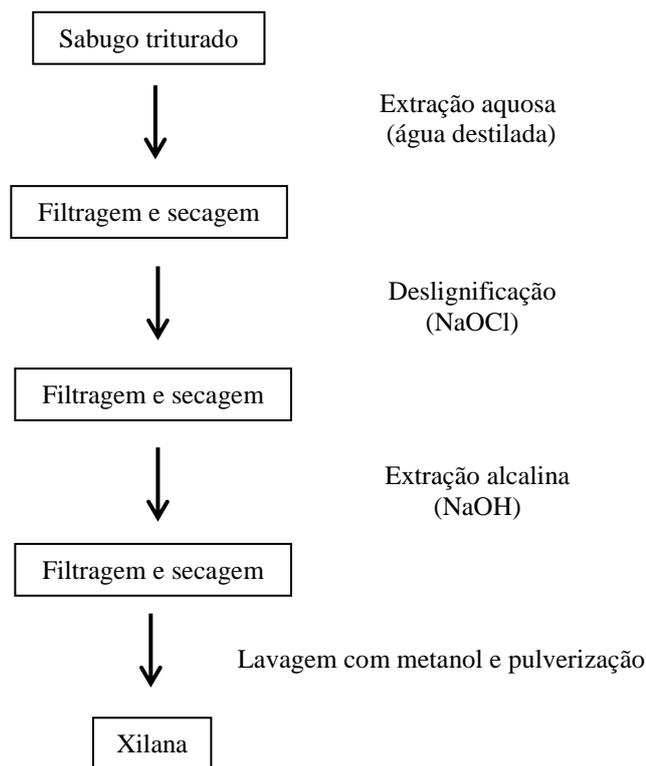
- Acetona;
- Ácido acético glacial;
- Água destilada;
- Álcool etílico absoluto;
- Álcool isopropílico;
- Álcool metílico;
- Éter de petróleo;
- Hidróxido de sódio 0,6N e 1N;
- Hipoclorito de sódio;
- Monoleato de sorbitano (span<sup>®</sup> 80);
- Polissorbato 80, (tween<sup>®</sup> 80);
- Parafina líquida;
- Trimetafosfato de sódio.

## 4.2. MÉTODOS

### 4.2.1. Extração da xilana

A extração da xilana (Esquema 1) foi baseada no modelo descrito por Oliveira (2006). O sabugo de milho, obtido do estabelecimento comercial Casa do sertão, foi seco em estufa a 55°C, triturado e tamisado para obtenção da granulometria 710µm. Posteriormente lavou-se o sabugo de milho triturado com água destilada na proporção 1L para cada 30g do sabugo de milho, durante 24 horas sob agitação mecânica. Ao final desse processo de lavagem, a mistura foi filtrada com auxílio de papel filtro. O resíduo então foi seco em estufa a 55°C. Após secagem, esse resíduo foi lavado com hipoclorito de sódio (NaOCl) 1,3% (v/v) na proporção 200mL de NaOCl e 5g de detergente para cada 10g do resíduo, sob agitação mecânica durante 1 hora. Em seguida realizou-se o mesmo procedimento de filtragem e secagem em estufa.

Esse resíduo seco foi tratado com hidróxido de sódio (NaOH) 4% (v/v) na proporção de 1g do resíduo para 10mL de NaOH, sob agitação mecânica durante 4 horas. Passado esse tempo, a mistura foi filtrada e o resíduo descartado, utilizando apenas o filtrado. O mesmo foi neutralizado com ácido acético glacial verificando-se o pH com auxílio de um pHmetro. Depois de neutralizado, foi adicionado álcool metílico na proporção 1 de álcool metílico para 1,5 (v/v) do filtrado neutralizado com a finalidade de precipitar a xilana. Posteriormente a xilana foi lavada quatro vezes com álcool metílico e filtrada com auxílio de um funil sinterizado. A xilana depositada no funil foi armazenada em álcool isopropílico durante 12 horas para posterior processo de filtração. Por fim, a xilana depositada no funil passou por um processo de secagem em estufa a 55°C, onde de cinco em cinco minutos o material era pulverizado.

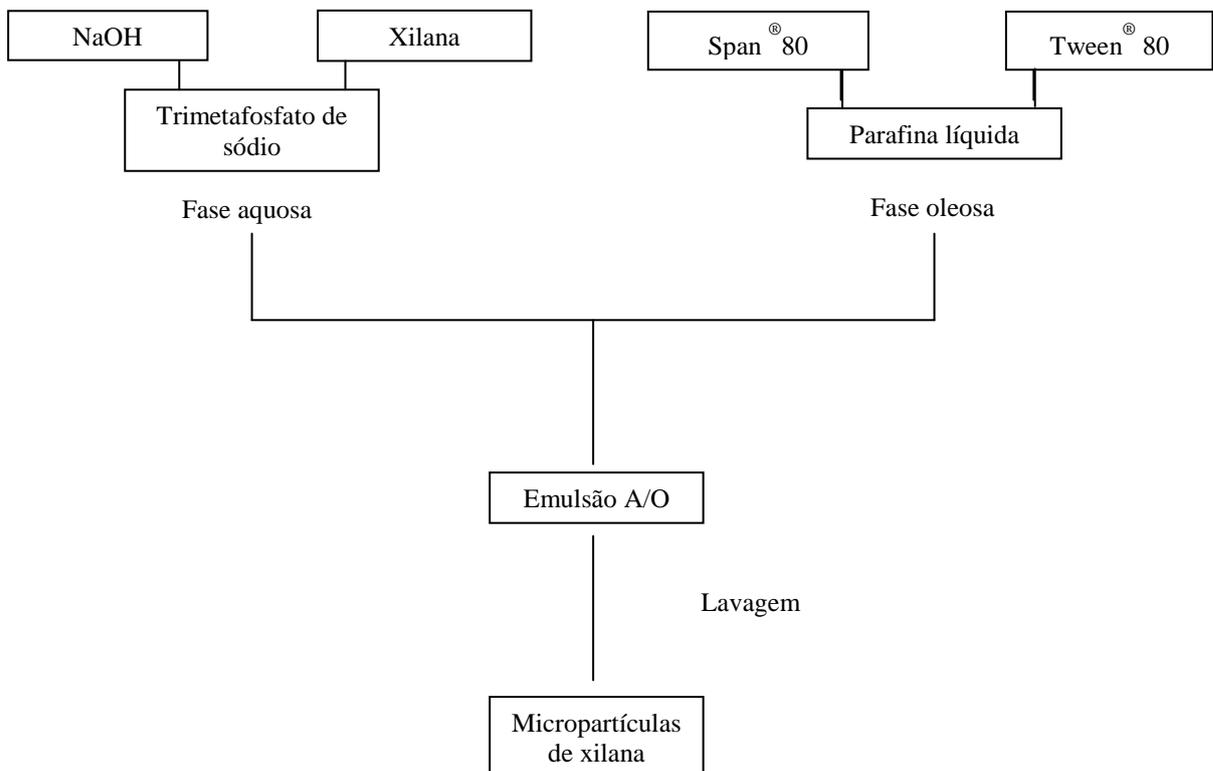


**Esquema 1:** Fluxograma do processo de extração da xilana.

#### 4.2.2. Preparação das micropartículas de xilana

O método utilizado para a produção das micropartículas de xilana (Esquema 2) foi a reticulação polimérica interfacial. Esse procedimento foi realizado em três etapas: preparação da fase aquosa, preparação da fase oleosa e mistura de ambas as fases para a obtenção da emulsão com posterior lavagem das micropartículas.

Para obter a fase aquosa 500mg de xilana foram solubilizadas em 5mL de NaOH 0,6N sob agitação magnética a 50°C até a mesma ser totalmente solubilizada. Logo após foi adicionado 200mg de trimetafosfato de sódio sob agitação, também a 50°C, por 2 min. Já para a obtenção da fase oleosa foram adicionadas a uma mistura de 750mg de span<sup>®</sup> 80 e tween<sup>®</sup> 80 na proporção 90,65 : 9,35 15mL de parafina líquida, essa mistura foi mantida a uma agitação mecânica de 800rpm a 50°C. Em seguida, 1,5mL da fase aquosa foram adicionadas gota a gota na fase oleosa, obtendo então a emulsão água/óleo. Após 6h de agitação, a emulsão foi centrifugada durante 10 minutos a uma velocidade de 3600 rpm para separar as micropartículas da fase oleosa. Logo após, o sobrenadante foi desprezado. As micropartículas foram lavadas com acetona, éter de petróleo, solução de tween<sup>®</sup> 1% em álcool, álcool absoluto e água destilada, por meio de centrifugação. As micropartículas obtidas foram armazenadas em 1mL de meio aquoso.



**Esquema 2:** Fluxograma do processo de preparação das micropartículas de xilana.

Foram preparadas micropartículas de xilana com diferentes formulações (QUADRO1), variando a quantidade de xilana e trimetafosfato, bem como o tempo de agitação e a velocidade. Todas as amostras foram feitas em triplicata.

**QUADRO 1: Composição das micropartículas produzidas pela técnica de reticulação polimérica interfacial.**

<b>FORMULAÇÃO</b>	<b>STMP (g)</b>	<b>Xilana(g)</b>	<b>Tempo de agitação (horas)</b>	<b>Velocidade de agitação (rpm)</b>
<b>F1</b>	<b>200</b>	<b>500</b>	<b>6</b>	<b>800</b>
<b>F2</b>	<b>400</b>	500	6	800
<b>F3</b>	200	<b>800</b>	6	800
<b>F 4</b>	200	<b>1000</b>	6	800
<b>F5</b>	200	500	<b>4</b>	800
<b>F6</b>	200	500	6	<b>1200</b>
<b>F7</b>	200	500	<b>2</b>	800
<b>F 8</b>	200	500	6	<b>1500</b>
<b>F 9</b>	<b>100</b>	500	6	800
<b>F10</b>	200	<b>200</b>	6	800

### 4.2.3. Análise das micropartículas

#### 4.2.3.1. Avaliação morfológica

A morfologia das micropartículas de xilana foi analisada por microscopia óptica. A microscopia óptica foi realizada através da observação de uma lâmina de micropartículas suspensas com lente objetiva de 10, 40 e 100 vezes.

#### 4.2.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho

A interação da xilana com o trimetafosfato de sódio durante o processo de reticulação foi analisada por espectroscopia de absorção na região de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Primeiramente foi preparado uma pastilha de KBr. Para isso, foram misturados em um gral de ágata liso 100mg de KBr e 0,5mg da amostra. Após isso, essa mistura foi levada para uma prensa hidráulica, onde foi prensada formando uma pastilha fina, a qual foi analisada no espectrofotômetro.

#### 4.2.3.3. Análise granulométrica das micropartículas

A análise do tamanho das micropartículas foi realizada através de microscopia óptica pela observação de uma lâmina de micropartículas suspensas com lente objetiva 40 vezes e ocular provida de um nônio graduado, utilizando a metodologia de Ferret. Foram analisadas 500 micropartículas, em triplicata, para obter o tamanho médio das mesmas.

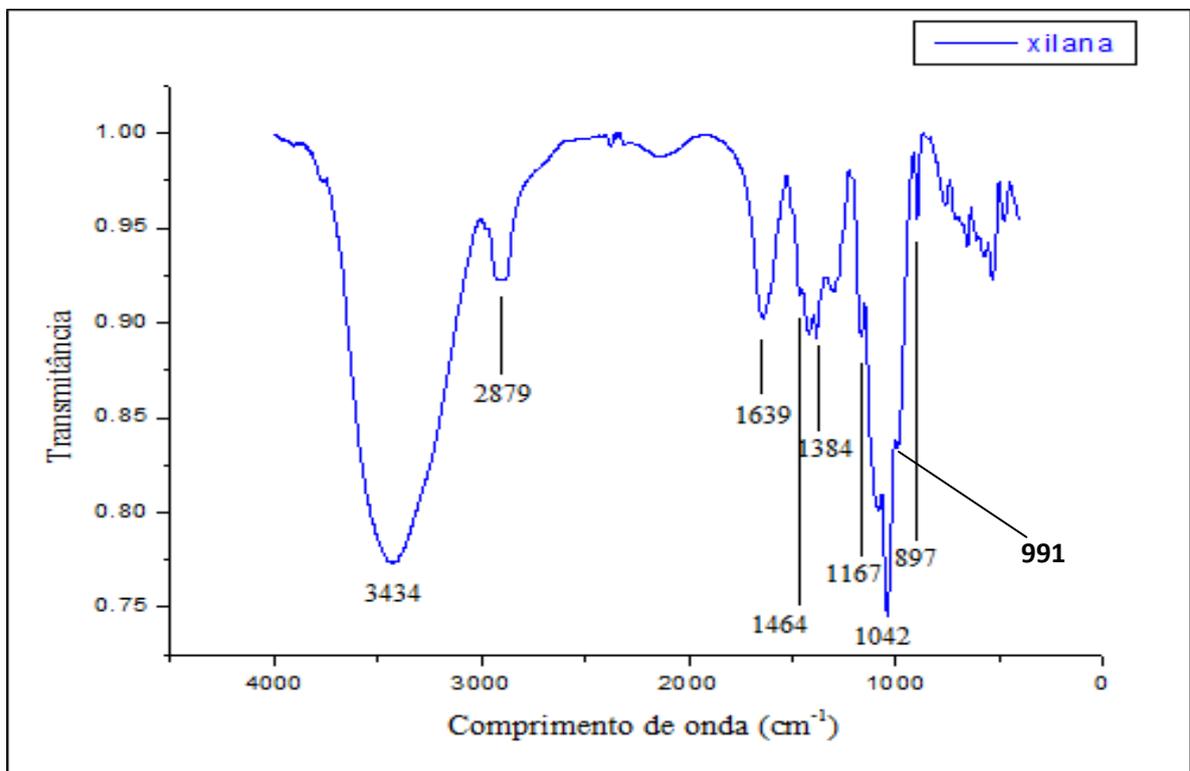
#### 4.2.3.4. Análise estatística

Para análise estatística dos dados foi realizado o teste t-student utilizando o software Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2007) a um nível de significância de 0,05.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

A caracterização da xilana por meio da espectroscopia na região do infravermelho foi realizada a partir da comparação dos valores encontrados com os valores presentes na literatura (BARSBERG et al., 2011; CHATJIGAKIS et al., 1998; CAO & TAN, 2004; CHAA et al., 2008; KAČURÁCOVÁ et al., 1999; KAČURÁCOVÁ et al., 2000; OLIVEIRA et al. 2010; PANDEY & PITMAN, 2003; SILVA, S. et al., 1998; SUN, R. et al., 1998; SUN, J. et al., 2004; SUN, YONG-CHANG et al., 2011; XU, et al., 2006). A Figura 3 representa o espectro de infravermelho para a xilana, obtido pela técnica de transmissão em pastilha de KBr.



**Figura 3:** Espectro no infravermelho da xilana pela técnica em pastilha de KBr.

O espectro da xilana (Figura 3) apresentou várias bandas de absorção características desse polímero. Na região entre  $4.000\text{ cm}^{-1}$  –  $3.000\text{ cm}^{-1}$  observou-se um pico largo em  $3.434\text{ cm}^{-1}$  que está associado ao estiramento de grupos hidroxilas (OH) (CAO & TAN, 2004; CHAA et al., 2008; CHATJIGAKIS et al., 1998; GILARD et al., 1995; SILVA, S. et al., 1998; XU et al., 2006; SUN, YONG-CHANG et al., 2011). De acordo com Oliveira et al., (2010) essa larga banda de absorção ocorre devido ao estiramento OH associados à grupos polares por meio de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares.

Em  $2.879\text{ cm}^{-1}$  foi detectado uma banda de absorção que pode estar associado à deformação axial C-H devido aos grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  (CHATJIGAKIS et al., 1998; CHAA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010; SILVA, S. et al., 1998; SUN, YONG-CHANG et al., 2011). Verificou-se também um pico em  $1.639\text{ cm}^{-1}$ , o qual está relacionado à deformação angular HOH devido à água de hidratação (KAČURÁCOVÁ et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2010). Entre  $1.500\text{ cm}^{-1}$  –  $1.250\text{ cm}^{-1}$  observaram-se algumas bandas de absorção:  $1.464\text{ cm}^{-1}$ ,  $1.421\text{ cm}^{-1}$  e  $1.384\text{ cm}^{-1}$ , correspondendo à deformação angular CH assimétrica de grupo  $\text{CH}_3$  (KAČURÁCOVÁ et al., 2000; OLIVEIRA, 2006), deformação angular CH de  $\text{CH}_2$  (SILVA, S. et al., 1998) e deformação angular CH de grupo  $\text{CH}_3$  (OLIVEIRA, 2006).

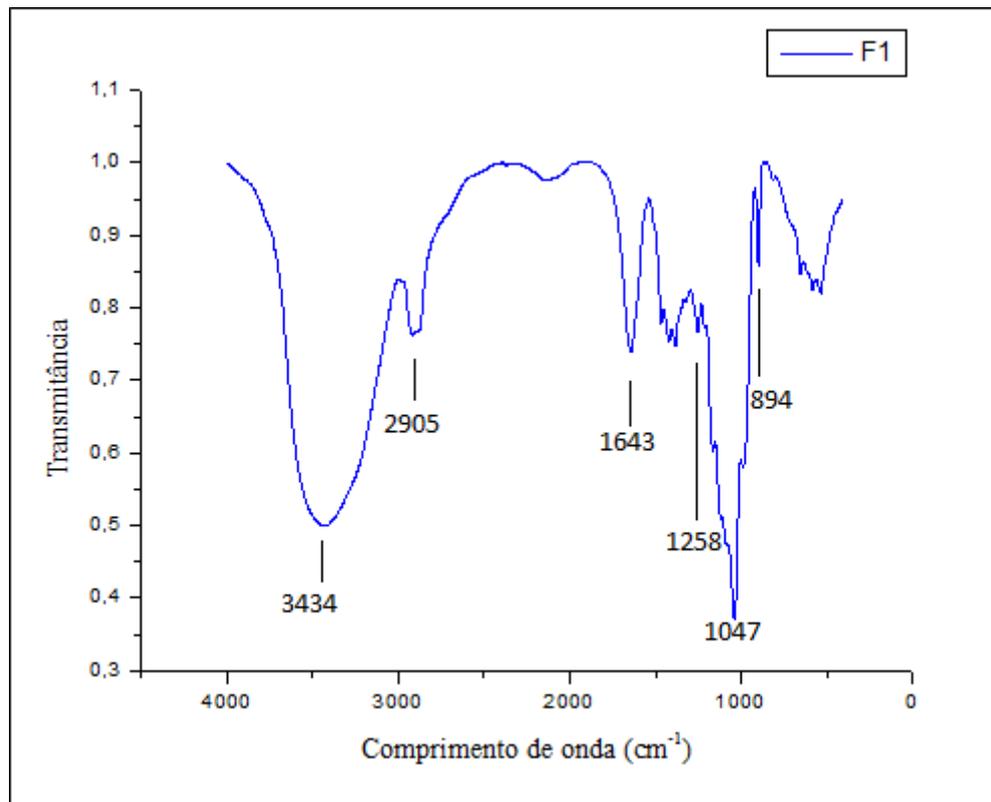
Segundo Kačurácová et al. (2000), cada polissacarídeo apresenta uma banda de absorção específica na região  $1.200\text{ cm}^{-1}$  –  $1.000\text{ cm}^{-1}$ , que é dominada por vibrações do anel sobrepostas com vibrações de estiramentos de grupos C-OH e vibrações de ligações glicosídicas C-O-C. No espectro da xilana (Figura 3) pode-se observar vários picos presentes nessa região. Foi detectado um pico em  $1.167\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde à banda de absorção característica de vibrações C-O-C presentes em celulosas e hemicelulose (CAO & TAN, 2004). O surgimento de uma forte banda de absorção em  $1.042\text{ cm}^{-1}$  pode estar relacionado a vibrações do anel glicosídico, a deformação angular C-OH e deformação axial C-O e C-O-C (CHAA et al., 2008; PANDEY & PITMAN, 2003; SILVA, S. et al., 1998).

Uma banda esperada em  $897\text{ cm}^{-1}$  foi observada no espectro da xilana, uma vez que este pico é característico de ligações  $\beta$ -glicosídicas entre unidades de açúcares em hemicelulose (OLIVEIRA et al., 2010; XU et al., 2006).

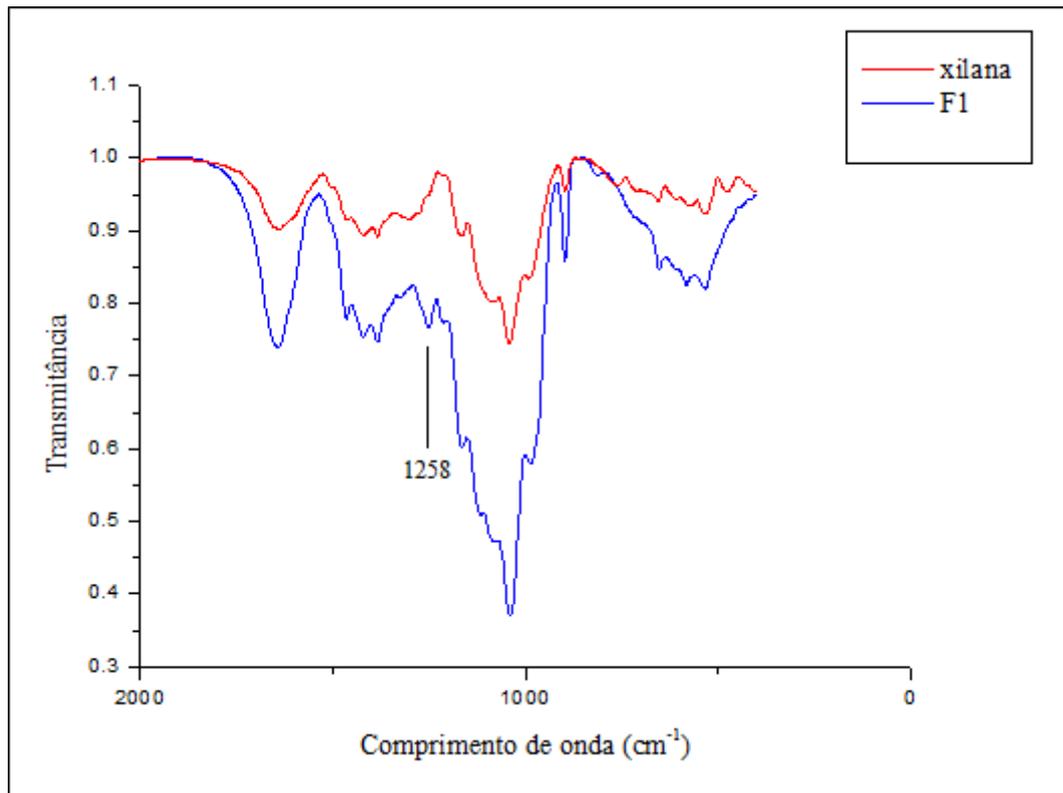
Segundo Sun, J. et al. (2004) bandas entre  $1.175\text{ cm}^{-1}$  e  $1.000\text{ cm}^{-1}$  são típicas de xilana. A cadeia lateral arabinosil, que foi relatada por ser ligada apenas a posições dos constituintes de xilopiranosil, é documentada por dois ombros de baixa intensidade em  $1.175\text{ cm}^{-1}$  e  $990\text{ cm}^{-1}$ . Como também representado no espectro da Figura 3, onde é possível ver a

presença desses ombros, porém com valores aproximados  $1.167\text{ cm}^{-1}$  e  $991\text{ cm}^{-1}$ . Chaaet al., 2008 também relataram em seu trabalho a presença de cadeias laterais de arabinose caracterizada por uma banda em  $1.168\text{ cm}^{-1}$ , correspondendo a vibração em regiões anoméricas de hemiceluloses. Além disso, Barsberget al., (2011) mostraram em seu trabalho que a banda de absorção em  $1.047\text{ cm}^{-1}$  é dominada por glicuronoxilana e arabinoxilana.

A espectroscopia na região do infravermelho das micropartículas de xilana foi realizada para verificar a interação deste polímero com o trimetafosfato de sódio (STMP). Assim, analisando o espectro das micropartículas de xilana (Figura 4), foi possível observar as bandas de absorção características desse polímero com a presença de um pico em  $1258\text{ cm}^{-1}$  que não ocorre no espectro apenas da xilana. Essa diferença entre o espectro da xilana e o das micropartículas de xilana (Formulação F1) está apresentado na Figura 5.



**Figura 4:** Espectro na região do infravermelho das micropartículas de xilana, formulação F1.



**Figura 5:** Espectro na região do infravermelho da xilana e de F1. Ampliação da região entre 2000  $\text{cm}^{-1}$  e 0  $\text{cm}^{-1}$ .

Segundo Silverstein&Webster (2000) bandas de absorção entre 1.250  $\text{cm}^{-1}$  – 1.299  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a vibrações de deformação axial do grupo éster fosfato. Os espectros na região do infravermelho de todas as formulações apareceram picos em 1258  $\text{cm}^{-1}$ , o que pode ser atribuído à formação de ligações éster fosfato entre a xilana e o reticulante. Este fato corrobora com os resultados de Cavalcantiet al. (2005) que utilizaram o trimetafosfato de sódio para reticular osulfato de condroitina. O espectro na região do infravermelho para esse polissacarídeo já reticulado mostrou a presença de bandas de absorção referente à ligação éster fosfato, banda esta que não ocorreu no espectro apenas do sulfato de condroitina. O que confirmou a interação do trimetafosfato de sódio com este polissacarídeo.

Porém, no trabalho realizado por Liet al. (2009b), que produziram micropartículas de amido reticuladas com STMP, não foi encontrado bandas de absorção no espectro das micropartículas referente a essa ligação. Sendo esse fato explicado devido a baixa concentração do reticulante durante a formação das micropartículas.

Assim, essa reticulação, de acordo com Fanget al.(2008), ocorre a partir dos grupos hidroxilas do polissacarídeo que reage com o trimetafosfato, formando as ligações éster inter

e intra molecular. Que pode ser sugerida devido a bandas de absorções características na nossa molécula.

## 5.2. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS MICROPARTÍCULAS

As micropartículas de xilana foram produzidas com sucesso a partir da metodologia descrita. Na Tabela 1 se encontra o aspecto morfológico, com base no formato esférico ou irregular das micropartículas de xilana, referente a cada formulação com os respectivos valores do diâmetro médio. Quanto mais esférica o formato das micropartículas, melhor o seu aspecto morfológico.

**Tabela 1:** Tamanho médio e aspecto morfológico das micropartículas de xilana obtidas pela reticulação polimérica interfacial.

Formulação	Diâmetro	Aspecto morfológico
<b>F1</b>	7,70 ± 0,173	+++++
<b>F2</b>	8,67 ± 0,289	+++
<b>F3</b>	1,33 ± 2,021	+++++
<b>F4</b>	12,50 ± 0,500	++
<b>F5</b>	8,20 ± 0,693	+++
<b>F6</b>	4,67 ± 0,611	+++++
<b>F7</b>	8,00 ± 0,346	+++
<b>F8</b>	3,5 ± 0,265	+++
<b>F9</b>	5,97 ± 0,058	+++
<b>F10</b>	ND	+

(+ ruim, ++ regular, +++ bom, +++++ muito bom, ND não determinado).

As micropartículas de xilana apresentaram a forma predominantemente esférica (com ocorrências de formas oblongas em algumas formulações (Figura 6a)), individuais, e sem presença de agregados.

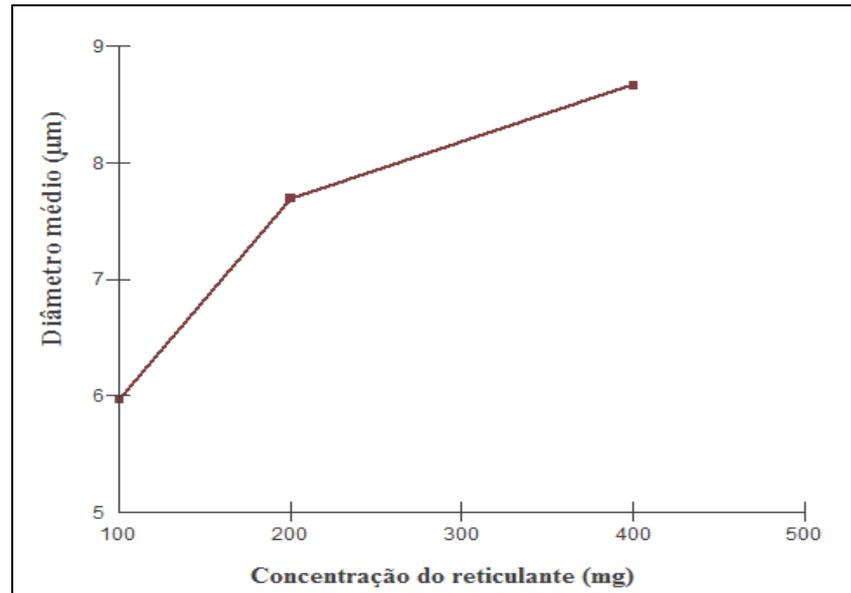


**Figura 6:** Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes concentrações de STMP: (a) F9 (100mg); (b) F1(200mg) e (c) F2 (400mg) em aumento de 100X.

Alguns parâmetros foram alterados durante a produção das micropartículas. Alterando a concentração do trimetafosfato de sódio (STMP) podem-se observar diferenças significativas entre as formulações ( $p < 0,05$ ). Quanto maior a concentração, maior o diâmetro médio das micropartículas (Figura 7). O mesmo ocorreu nos trabalhos de Liet al. (2009b) e Dulong et al. (2004) onde o diâmetro das micropartículas aumentava com o aumento da quantidade do reticulante.

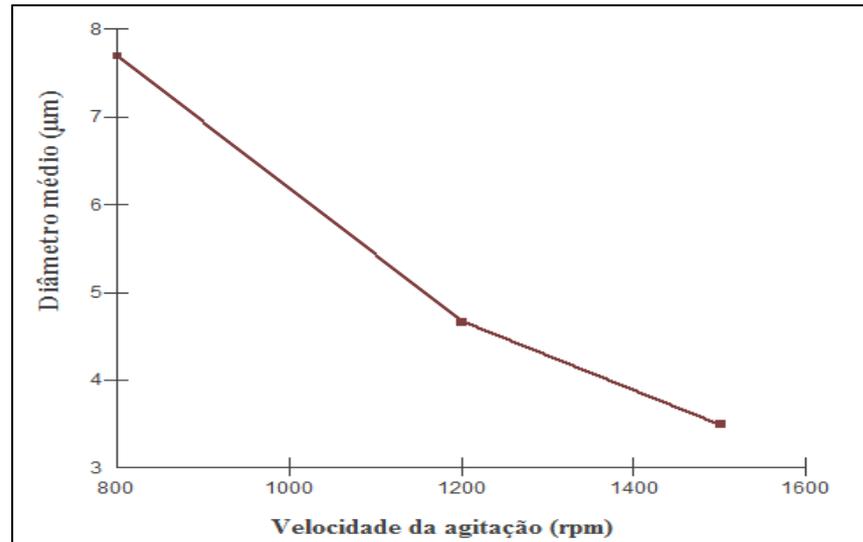
Esse aumento no diâmetro das micropartículas pode ser atribuído a maior disponibilidade de agente reticulante, bem como ao aumento da viscosidade da fase aquosa com o incremento na quantidade de STMP.

Outro parâmetro analisado foi a velocidade de agitação. Que, de acordo com Li, M. et al. (2008), é um dos mais importantes parâmetros que controlam o tamanho da micropartícula depois das propriedades físico-química dos materiais.



**Figura 7:** Gráfico representando a relação da concentração do STMP com o diâmetro médio.

As formulações F1 (800rpm), F6 (1200), F8 (1500) apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quando realizado o teste t. As micropartículas de xilana produzidas a uma velocidade de 800 rpm apresentaram diâmetro médio igual a  $7,70 \pm 0,173 \mu\text{m}$ , as produzidas com 1200 rpm o diâmetro médio foi  $4,67 \pm 0,611 \mu\text{m}$ . Já com 1500 rpm o diâmetro médio das micropartículas foi de  $3,5 \pm 0,265 \mu\text{m}$ . O que mostra uma relação inversamente proporcional entre a velocidade e o tamanho das micropartículas (Figura 8). Logo, quanto maior a velocidade de agitação, menor o diâmetro das micropartículas. Esse mesmo resultado foi obtido por Pariot et al. (2000), que introduziu variações no procedimento padrão e mostrou que a velocidade de agitação influencia no tamanho das micropartículas, que quanto maior a velocidade de agitação, menor o tamanho delas.

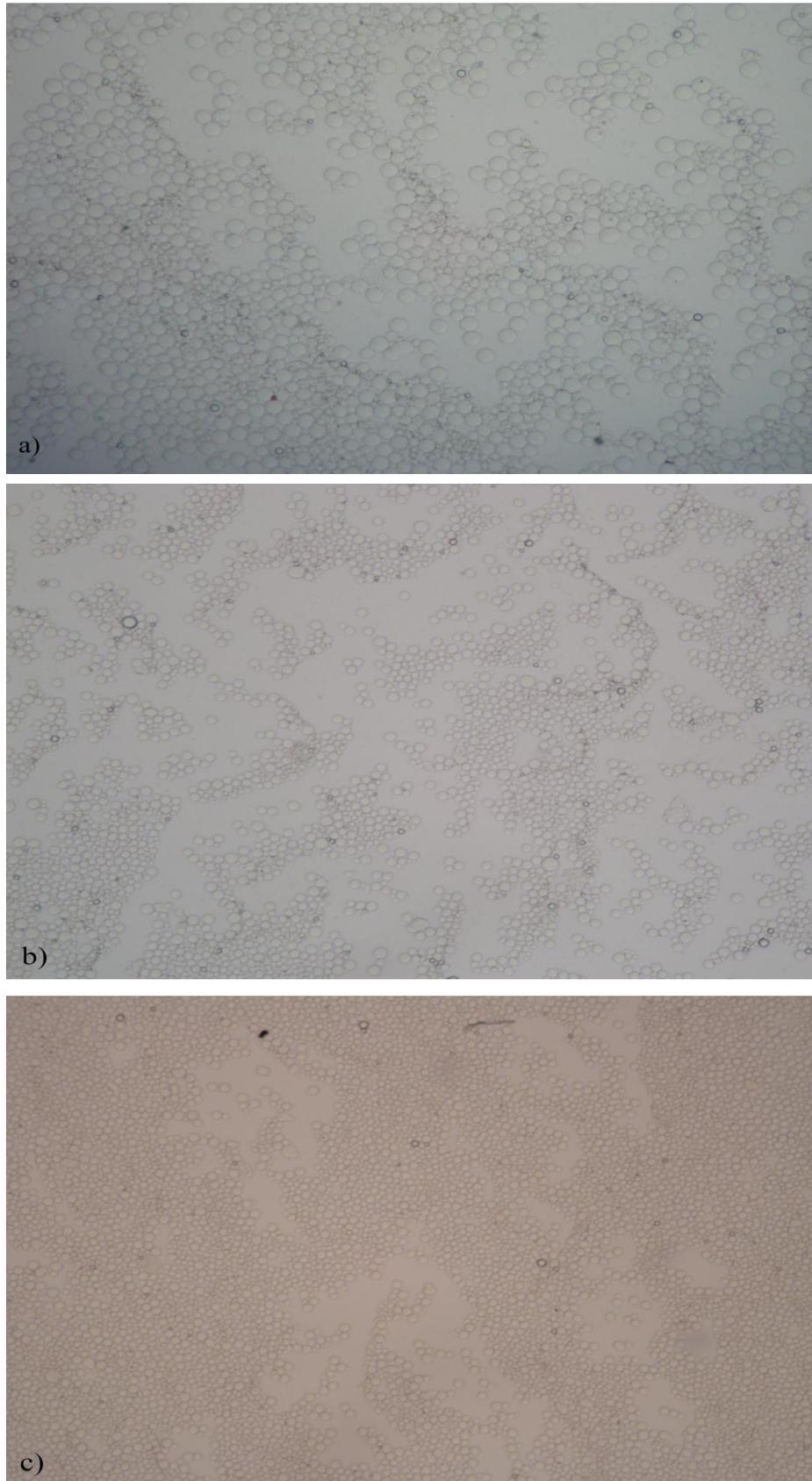


**Figura 8:** Gráfico representando a relação inversa da velocidade de agitação com o diâmetro das micropartículas.

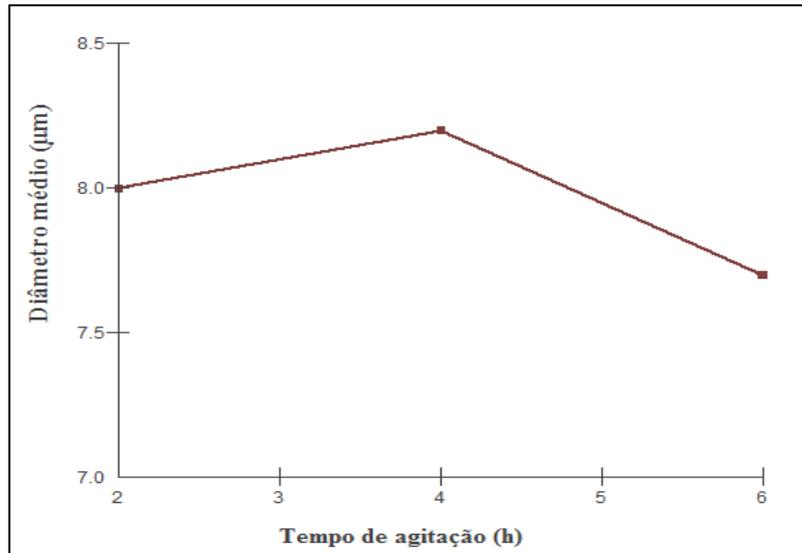
Balmayoret al. (2009) observaram que as micropartículas que eles produziram diminuíram drasticamente com o aumento da velocidade. Aumentando a velocidade de agitação proporciona maior energia para dispersar as duas fases imiscíveis e formar a emulsão, produzindo gotículas menores da fase dispersa, formando assim partículas bem menores. A Figura 9 mostra imagens das micropartículas de xilana produzidas com diferentes velocidades de agitação.

Com relação ao tempo de reticulação não foi observado uma modificação linear no tamanho médio das micropartículas (Figura 10). A Figura 11 mostra imagens de cada formulação. As micropartículas apresentaram aspectos semelhantes quanto a morfologia, porém as micropartículas reticuladas durante seis horas apresentaram-se bem mais regulares com relação as outras.

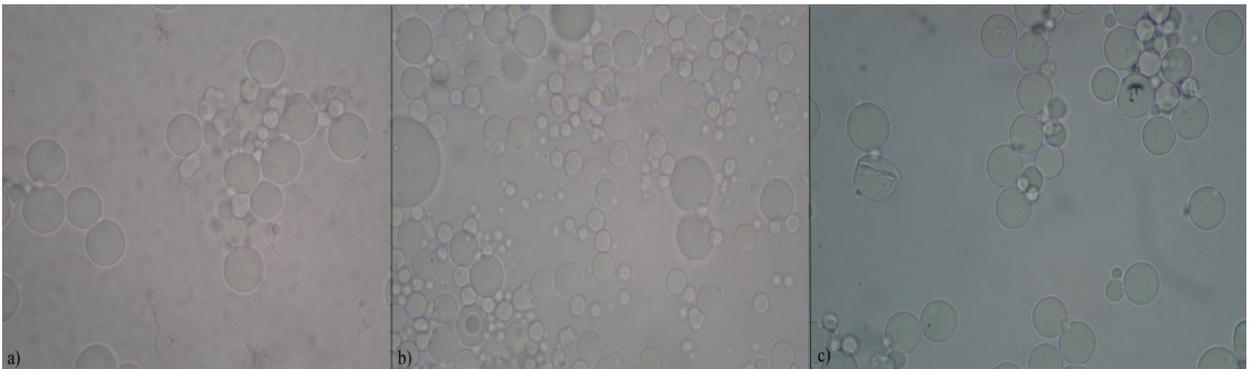
Alterando a quantidade de xilana foi possível observar algumas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as formulações. No entanto, quando realizado o teste t para saber se há diferença entre as formulações F3 e F4, o p foi maior que 0,05, mostrando que não há diferença estatisticamente entre elas. Além do mais, não foi possível fazer a comparação de F10 devido o tamanho reduzido das micropartículas ao serem observadas ao microscópio óptico.



**Figura 9:** Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes velocidades de agitação: (a) F1 (800rpm); (b) F6 (1200rpm) e (c) F8 (1500rpm) em aumento de 10X

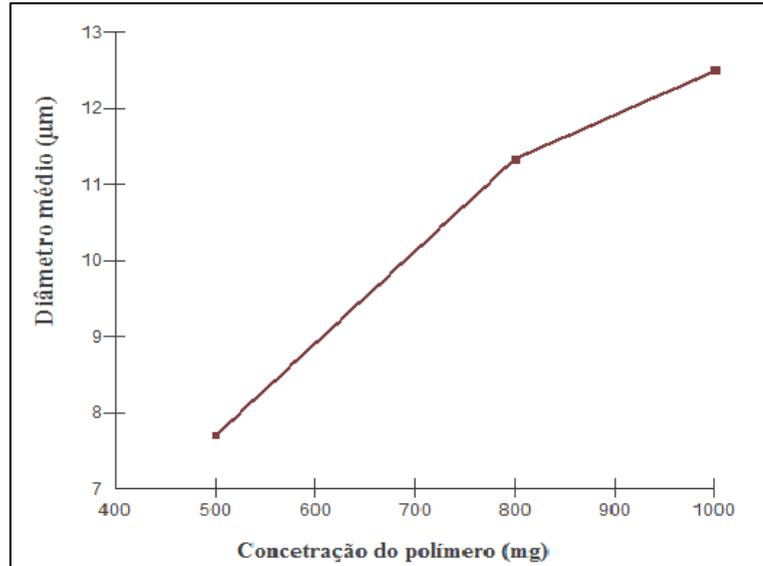


**Figura 10:** Gráfico representando a relação entre o tempo de reticulação com o diâmetro das micropartículas.



**Figura 11:** Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes tempos de reticulação: (a) F7 (2h); (b) F5 (4h) e (c) F1(6h) em aumento de 40X.

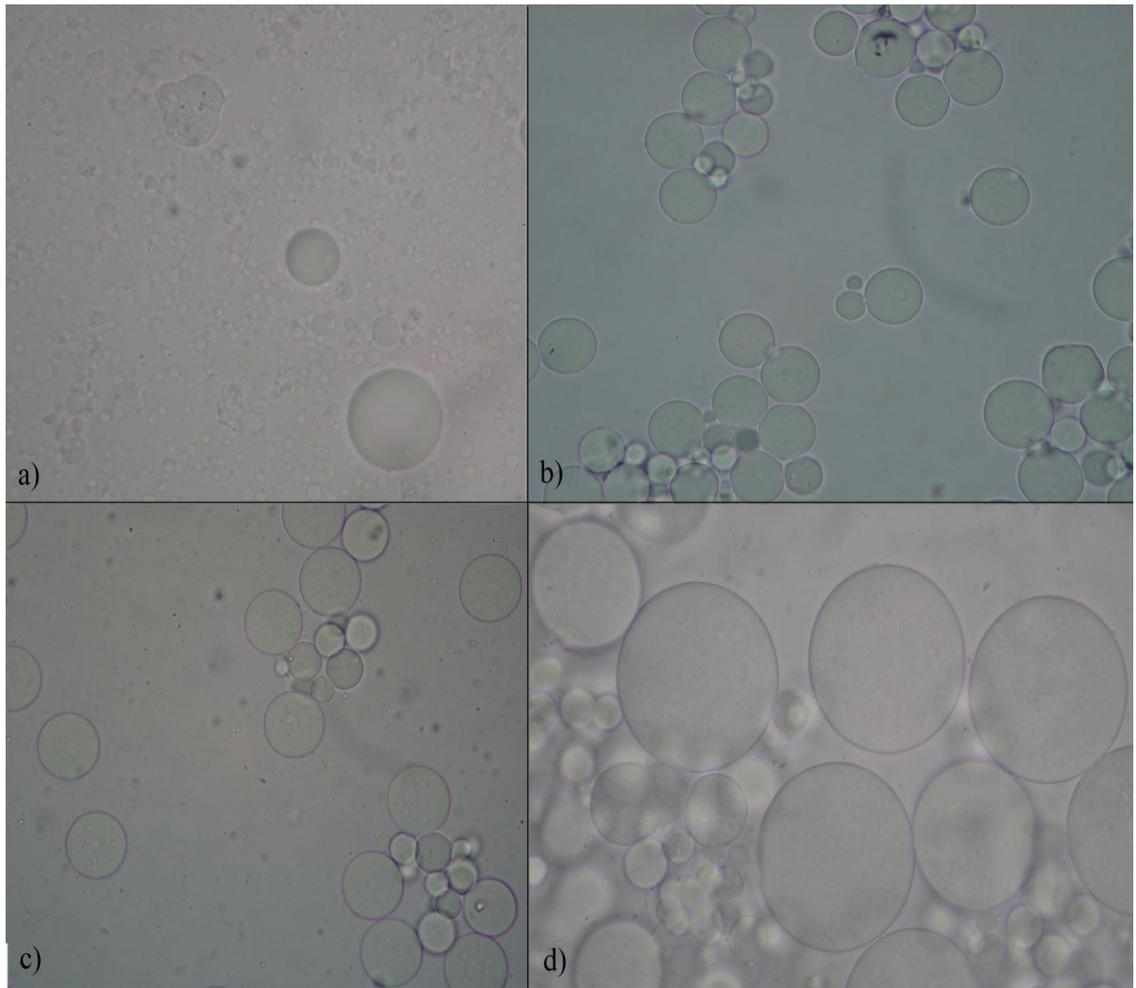
Foi possível observar que quanto maior a quantidade de xilana, maior foi a média do diâmetro das micropartículas (Figura 12). O mesmo ocorreu no trabalho de Pariotet al. (2000) e Balmayoret al. (2009), quando aumentaram a quantidade do polímero, houve um aumento no diâmetro médio das micropartículas.



**Figura 12:** Gráfico representando a relação entre a concentração do polímero xilana com o diâmetro das micropartículas.

Segundo Li, M. et al.(2008), aumentando a concentração do polímero ou o seu peso molecular aumenta a viscosidade da fase dispersa, conseqüentemente o tamanho das micropartículas aumentam exponencialmente com a viscosidade. Conseqüentemente, esse aumento fez com que as gotículas, adicionadas no recipiente contendo outra substância para formar a emulsão, sejam maiores, o que leva a um aumento no tamanho das micropartículas (BALMAYOR et al., 2009).

A Figura 13 apresenta imagens das micropartículas de xilana produzidas com diferentes concentrações de xilana. A partir dessas imagens pode-se observar as diferenças nos tamanhos das micropartículas a medida que se aumenta a concentração do polímero.



**Figura 13:** Microscopia óptica das micropartículas de xilana com diferentes concentrações de xilana: (a) F10 (200mg); (b) F1(500mg) e (c) F3 (800mg) (d) F4 (1000mg) em aumento de 40X.

## 6. CONCLUSÃO

As micropartículas foram produzidas eficientemente pela técnica de reticulação polimérica interfacial. Elas se apresentaram na forma esférica e individual, com presença de algumas formas oblongas.

A partir da espectroscopia na região do infravermelho foi possível caracterizar a xilana bem como identificar a interação ocorrida entre esse polímero e o trimetafosfato de sódio, uma vez que no espectro das micropartículas de xilana ocorreu um pico referente a ligação éster fosfato que não ocorre no espectro apenas da xilana.

Entre todos os parâmetros utilizados durante a produção das micropartículas, a concentração do polímero e a velocidade foram os que mais influenciaram no seu tamanho.

O estudo de pré-formulação mostrou que a melhor formulação foi a F1, pois ao analisar as lâminas referentes a essa formulação, poucas micropartículas com formato irregular foram encontradas.

## REFERÊNCIAS

- AUTISSIER, A.; LE VISAGE, C.; POUZET, C.; CHAUBET, F.; LETOURNEUR, D. Fabrication of porous polysaccharide-based scaffolds using a combined freeze-drying/cross-linking process. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 3640–3648, 2010.
- AYRES, M.; AYRES Jr, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. 2007. BioEstat: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Bio-Médicas. Versão 5.0, Sociedade Civil Mamirauá, Belém, Pará, Brasil.
- BALMAYOR, E. R.; TUZLAKOGLU, K.; AZEVEDO, H. S.; REIS, R. L. Preparation and characterization of starch-poly-ε-caprolactone microparticles incorporating bioactive agents for drug delivery and tissue engineering applications. **Acta Biomaterialia**, v. 5, p. 1035–1045, 2009.
- BARSBERG, S.; SANADI, A. R.; JØRGENSEN, H. A new Density Functional Theory (DFT) based method for supporting the assignment of vibrational signatures of mannan and cellulose - Analysis of palm kernel cake hydrolysis by ATR-FT-IR spectroscopy as a case study. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 457–464, 2011.
- BAZZO, G. C.; LEMOS-SENNA, E.; GONÇALVES, M. C.; PIRES, A. T. N. Effect of Preparation Conditions on Morphology, Drug Content and Release Profiles of Poly(hydroxybutyrate) Microparticles Containing Piroxicam. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.19, n.5, p.914-921, 2008.
- BEJENARIU, A.; POPA, M.; DULONG, V.; PICTON, L.; CERF, D. L. Trisodium trimetaphosphate crosslinked xanthan networks: synthesis, swelling, loading and releasing behavior. **Polym. Bull.**, v. 62, p.525–538, 2009.
- BERTHOLD, A.; CREMER, K.; KREUTER, J. Collagen microparticles: carriers for glucocorticosteroids. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.45, p.23–29, 1998.
- BIGAND, V.; PINELA, C.; PEREZ, D. S.; RATABOULA, F.; HUBERC, P.; PETIT-CONIL, M. Cationisation of galactomannan and xylan hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 138–148, 2011.
- LASI, P.; GIOVAGNOLI, S.; SCHOUBBEN, A.; RICCI, M.; ROSSI, C.; LUCA, G.; BASTA, G.; CALAFIORE, R. Preparation and *in vitro* and *in vivo* characterization of

composite microcapsules for cell encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v.324, p.27–36, 2006.

BRANNON-PEPPAS, L. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.116, p.1-9, 1995.

CAO, Y. & TAN, H. Structural characterization of cellulose with enzymatic treatment. **Journal of Molecular Structure**, v. 705, p. 189–193, 2004.

CAVALCANTI, O. A.; DA SILVA, C. C.; PINEDA, E. A. G.; HECHENLEITNER, A. A. W. Synthesis and characterization of phosphated crosslinked chondroitin Sulfate: Potential Ingredient for Specific Drug Deliver. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 2, p. 234-8, 2005.

CHAA, L.; JOLY, N.; LEQUART, V.; FAUGERON, C.; MOLLET, JEAN CLAUDE; MARTIN, P.; MORVAN, H. Isolation, characterization and valorization of hemicelluloses from Aristidapungens leaves as biomaterial. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 597–602, 2008.

CHATJIGAKIS, A. K.; PAPPAS, C.; PROXENIA, N.; KALANTZI, O.; RODIS, P.; POLISSIOU, M. FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 395–408, 1998.

COIMBRA, P. M. A. Preparação e Caracterização de Sistemas de liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural. Tese de Doutorado, FCTUC, Coimbra:2010.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**, v.29, p.3–23, 2005.

COSTA JR., E. S. & MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de Blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Quim. Nova**, v.31, n.6, p.1460-1466, 2008.

COSTA, R. M. R. Preparação de Microesferas de PLGA para Vetorização do Ácido Úsnico e Estudo *In Vitro* e *In Vivo* da Atividade Terapêutica. Projeto, UFPE, Recife: 2002.

CUYVERS, S.; DORNEZ, E.; MOERS, K.; POLLET, A.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M. Evaluation of the xylan breakdown potential of eight mesophilic endoxylanases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 49, p. 305–311, 2011.

DULONG, V.; LACK, S.; CERF, D. L.; PICTON, L.; VANNIER, J. P. MULLER, G. Hyaluronan-based hydrogels particles prepared by crosslinking with trisodium trimetaphosphate. Synthesis and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v.57, p.1–6, 2004.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z.; ALFÖDI, J.; HRÍBALOVÁ, V. The immunological active xylan from ultrasound-treated corn cobs: extractability, structure and properties. **Carbohydrate Polymers**, v.37, p.231-239, 1998.

FANG, Y.; WANG, L.; LI, D. *et al.* Preparation of crosslinked starch microspheres and their drug loading and releasing properties. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p.379–384, 2008.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; SILVA JÚNIOR, A. A.; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.3, 2005.

FUJITA, Y.; KATAHIRA, S.; UEDA, M.; TANAKA, A.; OKADA, H.; MORIKAWA, Y.; FUKUDA, H.; KONDO, A. Construction of whole-cell biocatalyst for xylan degradation through cell-surface xylanase display in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.17, p.189–195, 2002.

FUNDADOR, N. G. V.; ENOMOTO-ROGERS, Y.; TAKEMURA, A.; IWATA, T. Acetylation and characterization of xylan from hardwood kraft pulp. **Carbohydrate Polymers**, 2011.

GARCIA, R. B.; GANTER, J. L. M. S.; CARVALHO, R. R. Solution properties of D-xylans from corn cobs. **European Polymer Journal**, v. 36, p. 783-787, 2000.

GARCIA, R. B.; NAGASHIMA-JUNIOR, T.; PRAXEDES, A. K. C.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F. A. L.; EGITO, E. S. T. Preparation of micro and nanoparticles from corn cobs xylan. **Polymer Bulletin**, v.46, p.371–379, 2001.

GILARDI, G.; ABIS, L.; CASS, A. E. G. Carbon-13 CP/MAS solid-state NMR and FT-IR spectroscopy of wood cell wall biodegradation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, p. 266-275, 1995.

GLIKO-KABIR, I.; YAGEN, B.; PENHASI, A. Abraham Rubinsteina  
.Phosphatedcrosslinked guar for colon-specific drug delivery I. Preparation and physicochemical characterization. **Journal of Controlled Release**, v. 63, p. 121–127, 2000a.

GLIKO-KABIR, I.; YAGEN, B.; BALUON, M.; RUBINSTEIN, A. Phosphatedcrosslinked guar for colon-specific drug delivery II. In vitro and in vivo evaluation in the rat. **Journal of Controlled Release**, v. 63, p. 129–134, 2000b.

GUI-JIE, M.; PENG, W.; XIANG-SHENG, M.; XING, Z.; TONG, Z. Crosslinking of Corn Starch with Sodium Trimetaphosphate in Solid State by Microwave Irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, p. 5854–5860, 2006.

HIRECH, K.; PAYAN, S.; CARNELLE, G.; BRUJES, L.; LEGRAND, J.  
Microencapsulation of an insecticide by interfacial polymerization. **Powder Technology**, v. 130, p. 324–330, 2003.

HROMÁDKOVÁ, Z.; KOVÁČIKOVÁ, J.; EBRINGEROVÁ, A. Study of classical and ultrasound-assisted extraction of the corn cob xylan. **Industrial Crops and Products**, v. 9, p. 101–109, 1999.

KAČURÁCOVÁ, M.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z.; WILSON, R. H.; BELTON, P. S. Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 35–41, 1999.

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

KAYSERILIOĞLU B. Ş.; BAKIR, U.; YILMAZ, L.; AKKAŞ, N. Use of xylan, an agricultural by-product, in wheat gluten based biodegradable films: mechanical, solubility and water vapor transfer rate properties **Bioresource Technology**, v. 87, p. 239–246, 2003.

KASEMSUWAN, T.; BAILEY, T.; JANE, J. Preparation of clear noodles with mixtures of tapioca and high-amylose starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, p. 301–312, 1998.

KOSEKI, T.; MIWA, Y.; AKAO, T.; AKITA, O.; HASHIZUME, K. An *Aspergillus oryzae* xylan esterase: Molecular cloning and characteristics of recombinant enzyme expressed in *Pichia pastoris*. **Journal of Biotechnology**, v. 121, p. 381–389, 2006.

KUMAR, M. N. V. R. Nano and Microparticles as controlled Drug Delivery Devices. **J Pharm PharmaceutSci**, v. 3, p.234-258, 2000.

LACK, S.; DULONG, V.; PICTON, L. et al. High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of polysaccharides crosslinked by sodium trimetaphosphate: a proposal for the reaction mechanism. **Carbohydrate Research**, v. 342, p.943–953, 2007.

LEONEL, A. J.; CHAMBI, H. N. M.; BARRERA-ARELLANO, D. et al. Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. **Cien.Tecnol.Aliment.**, v.30, n.1, p.276-281,2010.

LI, BING-ZHENG.; WANG, LI-JUN.; LI, D.; BHANDARI, B.; LI, SHU-JUN; LAN, Y. CHEN, X. D.; MAO, ZHI-HUAI. Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 250–254, 2009a.

LI, BING-ZHENG.; WANG, LI-JUN.; LI, D. CHIU, Y. L.; ZHANG, ZHNG-JIE; SHI, J.; CHEN, X. D.; MAO, ZHI-HUAI. Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with trisodium trimetaphosphate. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p.255–260, 2009b.

LI, M.; ROUAUD, O.; PONCELET, D. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, p. 26–39, 2008.

LIGERO, P.; VEGA, A.; VAN DER KOLKA, J. C.; VAN DAM, J. E. G. Gorse (*Ulex europæus*) as a possible source of xylans by hydrothermal treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 205–210, 2011.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; LA ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofilicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Lat. Am. J. Pharm.**, v.26, n.5, p.784-93, 2007.

MAIRE, M.; LOGEART-AVRAMOGLU, D.; DEGAT, MARIE-CHRISTELLE; CHAUBET, F. Retention of transforming growth factor  $\beta$ 11 using functionalized dextran-based hydrogels. **Biomaterials**, v. 26, p. 1771–1780, 2005.

NAGASHIMA JÚNIOR, T.; OLIVEIRA, E. E.; SILVA, A. E. et al. Influence of the lipophilic external phase composition on the preparation and characterization of xylan microcapsules – A technical note. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v.9, n.3, Set. 2008.

NAGASHIMA JÚNIOR, T. Desenvolvimento de uma formulação cólon específica visando o tratamento da colite ulcerativa. 2000. Tese (Doutor em ciências da saúde), UFRN, Rio Grande do Norte: 2009.

OLIVEIRA, E. E. Desenvolvimento de microcápsulas de xilana / EUDRAGIT<sup>®</sup> S-100 para liberação em nível de cólon. 2006. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas), UFRN, Rio Grande do Norte: 2006.

OLIVEIRA, E.E.; SILVA, A.E.; NAGASHIMA JÚNIOR, T.; GOMES, M. C. S.; AGUIAR, L. M. MARCELINO, H. R.; ARAÚJO, I. B.; BAYER, M. P. RICARDO, N. M. P. S.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 5402–5406, 2010.

PANDEY, K. K. & PITMAN, A.J. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 52, p. 151 – 160, 2003.

PARIOT, N.; EDWARDS-LÉVY, F.; ANDRY, M.-C.; LÉVY, M.-C. Cross-linked  $\beta$ -cyclodextrin microcapsules: preparation and Properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v.211, p.19–27, 2000.

PAULINO, A. T. Produção de adsorventes não-convencionais e aplicação na remediação de águas e efluentes industriais. Tese (Doutor em ciências), UEM, Paraná: 2008.

PEREIRA, M. R.; CRUZ, L.; RÉ, M. I.; GUTERRES, S. S. Micropartículas Secas contendo Fármaco Modelo Lipofílico preparadas a partir de Suspensão Aquosa: Estudo de Formulação. **Acta Farm. Bonaerense**, v.25, n.2, p.98-205, 2006.

PIMENTEL, L. F.; JÚNIOR, A. T. J.; MOSQUEIRA, V. C. F.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.43, n.4, out./dez., 2007.

ROSSANEZI, G. Micropartículas Biodegradáveis para Liberação Prolongada Intraocular de Cetorolaco de Trometamina Obtida por “Spray Drying”. 2008. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas), UNESP, São Paulo: 2008.

SALTÃO, R. & VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, n.1, jan./abr., 2001.

SANG, Y.; PRAKASH, O.; SEIB, P. A. Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance ( $^{31}\text{P}$  NMR) spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 201–212, 2007.

SANG, Y.; SEIB, P. A.; HERRERA, A. I.; PRAKASH, O.; SHI, YONG-CHENG. Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility. **Food Chemistry**, v.118, p.323–327, 2010.

SANTOS, H. M. M.; VEIGA, F. J. B.; PINA, M. E. T. SOUSA, J. J. M. S. Obtenção de *pellets* por extrusão e esferonização farmacêutica. Parte I. Avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** vol., v.40, n.4, 2004.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quim.Nova**, v.26, n.5, p.726-737, 2003.

SEDLMEYER, F.B. Xylan as by-product of biorefineries: Characteristics and potential use for food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1891-1898, 2011.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.39, n.1, jan./mar., 2003.

SILVA, S. S.; CARVALHO, R. R.; FONSECA, J. L. C.; GARCIA, R. B. Extração e Caracterização de Xilanas de Sabugos de Milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 1998.

SILVERSTEIN, R. M. & WEBSTER, F. X. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6 ed. 2000.

SINHA, V.R. & KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, p. 19–38, 2001.

SUN, J.X.; SUN, X.F.; SUN, R.C.; SU, Y.Q. Fractional extraction and structural characterization of sugarcane bagasse hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 195–204, 2004.

SUN, R.; LAWThER, J.; BANKS, W.B. Isolation and characterization of hemicellulose B and cellulose from pressure refined wheat straw. **Industrial Crops and Products**, v. 7, p. 121–128, 1998.

SUN, YONG-CHANG; WEN, JIA-LONG; XU, F.; SUN, RUN-CANG. Organosolv- and alkali-soluble hemicelluloses degraded from *Tamarix austromongolica*: Characterization of

physicochemical, structural features and thermal stability. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, p. 1478-1488, 2011.

VAN DONGEN, F.E.M.; VAN EYLEN, D.; KABEL, M. A. Characterization of substituents in xylans from corn cobs and stover. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 722–731, 2011.

WOO, K. & SEIB, P. A. Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. **Carbohydrate Polymers**, v.33, p.263-271, 1997.

YANG, R.; XU, S.; WANG, Z.; YANG, W. Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides. **LWT**, v. 38, p. 677–682, 2005.

XU, F.; SUN, J. X.; LIU, C. F.; SUN, R. C. Comparative study of alkali- and acidic organic solvent-soluble hemicellulosic polysaccharides from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Research**, v. 341, p. 253–261, 2006.