UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

Antônio Jedson Caldeira Brant

**“Preparação e caracterização de hidrogéis
a partir de misturas de soluções de
quitosana e poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)”**

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

18/02/2008

Antônio Jedson Caldeira Brant

**“Preparação e caracterização de hidrogéis
a partir de misturas de soluções de
quitosana e poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)”**

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Química (Química
Orgânica).*

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Catalani

São Paulo

2008

Antônio Jedson Caldeira Brant

“Preparação e caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)”

*Tese apresentada ao Instituto de Química
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Química (Química Orgânica).*

Aprovado em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

À memória de minha mãe Antônia e irmão Antônio Edson, que são uma forte lembrança, uma saudade constante; aos irmãos Maria José, Edna e Whitery, que sempre me apoiaram e incentivaram na concretização de meus ideais.

“A sabedoria foi criada antes de todas as coisas, e a luz da inteligência existe antes de todos os séculos!”

(Eclo, 1,4)

“Na busca do conhecimento, a cada dia se soma uma coisa. Na busca da sabedoria, a cada dia se diminui uma coisa.”

(Tao-Te-Ching)

“Onde está a sabedoria que perdemos no conhecimento?”

(T. S. Eliot)

AGRADECIMENTOS

Sou profundamente agradecido:

Primeiramente a Deus, por conceder-me a oportunidade de vivenciar toda essa experiência e dar-me energia para superar tantos impasses e desafios.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Catalani, o orientador do meu trabalho, pela confiança depositada na minha pessoa para levar avante o projeto e poder realizá-lo. Pela atenção que me dispensou em momentos críticos, demonstrando competência, equilíbrio e discernimento.

À Prof^a. Dr^a. Denise Freitas Siqueira Petri, quem muito me ajudou e me estimulou a continuar o trabalho, passando-me ou discutindo comigo muitas informações sobre polímeros, úteis no meu projeto.

Ao Prof. Dr. Vicente de Paulo Emerenciano, meu orientador de Mestrado, que sempre me prestigiou e incentivou a prosseguir na luta pela realização de meus ideais.

Ao Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos e à sua equipe pela orientação e colaboração direta nos testes de DSC/TG, pertinentes à sua área de trabalho e pesquisa.

Ao Prof. Dr. Willi Baader pelo apoio e orientação na finalização da tese.

Ao professores Dr. Yoshio, Dr. Omar El Seoud e Dr. Politi pelo auxílio na realização de testes de alguns tópicos de meu trabalho.

Ao Dr. Paulo Augusto Rodrigues, do Lab. do Dr. Omar El Seoud, pelos ensaios de viscosimetria capilar.

A todos os professores do Instituto de Química que direta e indiretamente contribuíram na minha formação acadêmica e aprendizagem.

Aos colegas do laboratório, Vânia, Janaína, Renata, Danielle, Flávia, Aline, Guilhermino, Luiz Carlos, Romeu, Ricardo, Reginaldo, Patrícia, com quem tive sempre um bom convívio, de quem angariei muita amizade, paciência, ajuda, solidariedade. Só posso dizer a cada um: “Muito obrigado!”

À Sílvia, nossa secretária, uma amiga sempre nos recebendo com um sorriso sincero, torcendo pelo sucesso de cada um de nós.

Ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação, Cibeles, Milton e Emiliano pelo excelente atendimento, eficiência e receptividade.

À Dra. Clarice Terui Kunioshi e ao Vinícius Freire Elias – EMBRAER e Escola Politécnica, respectivamente – pela grande colaboração no meu trabalho, no tópico de MEV.

A todo o pessoal de nossa Central Analítica pela dedicação e eficiência.

A todos os funcionários do Instituto de Química pela atenção e amizade.

À amiga Alessandra, carinhosamente Rainha Aléssia, pelo apoio e incentivo no trabalho.

Aos amigos do Instituto de Química, Mimi, Décio, Mara, Carla, Ana Maria e Joey, Ana Paula, Cerize, Marcelo, Lolo, Camila, Erick, André pelos anos de convívio e amizade.

A um amigo especial, Rivaldo Fagundes Silva, que, na sua simplicidade e bondade de pessoa, tem-me apoiado bastante. Nos últimos seis meses de término de meu trabalho, aliviou-me de muitas tarefas e envolvimento de casa, para que eu pudesse dedicar-me à tese.

Aos colegas de profissão, Marcelo J. P. Ferreira, Sônia Regina Mendes, Patrícia Chicaro e Roseli Gennari pela amizade e pelo incentivo na realização de minha tese.

Aos órgãos de apoio à pesquisa, CNPq, FAPESP, CAPES, mesmo na condição de aluno não-bolsista.

CONTEÚDO

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS PRINCIPAIS	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE ESQUEMAS	17
LISTA DE EQUAÇÕES	17
RESUMO.....	19
SUMMARY	21
1. INTRODUÇÃO	23
1.1. Biomateriais	23
1.1.1. Biomateriais Poliméricos	25
1.1.2. Hidrogéis	26
1.2. Polímeros Sintéticos	27
1.2.1. Poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona)	30
1.3. Polímeros Naturais	34
1.3.1. Polissacarídeos	34
1.3.2. Quitosana.....	38
1.3.2.1. Modificação da quitosana	40
1.3.2.2. Um pouco de história de quitina e quitosana	41
1.3.2.3. Quitosana e suas múltiplas aplicações	42
1.3.2.4. Quitosana como biomaterial	43
1.4. Blendas poliméricas.....	44
1.4.1. Blendas de Polímeros Naturais e Sintéticos	45
1.4.1.1. Blendas de polissacarídeos e polímeros hidrofílicos naturais ou sintéticos.....	46
1.4.2. Métodos de obtenção de blendas poliméricas	46
1.4.3. Miscibilidade de blendas	47

1.4.3.1. Blendas Miscíveis e Blendas Imiscíveis	47
1.4.4.2. Miscibilidade e Compatibilidade.....	48
1.4.4.3. Parâmetros termodinâmicos e correlatos em miscibilidade de blendas	48
1.4.4.4. Interação de ligação de hidrogênio em blendas miscíveis.....	49
1.4.4.5. Temperatura de transição vítrea (T_g)	50
1.4.4.6. Considerações sobre blendas imiscíveis	51
1.5. Definições de IPN e SIPN.....	52
2. OBJETIVOS E ASPECTOS RELEVANTES DO TRABALHO	54
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
3.1. Materiais	56
3.2. Equipamentos e Técnicas.....	56
3.3. Metodologias	57
3.3.1. Preparação das soluções de quitosana e PVP	57
3.3.2. Preparação de filmes de blendas de quitosana - PVP	59
3.3.3. Irradiação dos filmes com luz UV $_{254\text{ nm}}$	59
3.3.4. Fração gel e índice de intumescimento de filmes irradiados.....	59
3.3.5. Preparação dos hidrogéis a partir de soluções irradiadas por luz UV 254 nm	60
3.3.6. Fração gel e índice intumescimento.....	60
3.3.7. Determinação da massa molar	62
3.3.7.1. Osmometria	62
3.3.7.2. Viscosimetria	63
3.3.8. Determinação do grau de acetilação/desacetilação	64
3.3.8.1. Análise elementar	64
3.3.8.2. Espectroscopia vibracional no infravermelho (IV).....	64
3.3.8.3. Ressonância magnética nuclear de H ($\text{RMN-}^1\text{H}$).....	65

3.3.9. Difração de raios X (XRD)	65
3.3.10. Transmissão de vapor de água (WVT)	66
3.3.11. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG) ...	67
3.3.12. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	68
3.3.12.1. Preparação das amostras	69
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.1. Caracterização dos polímeros componentes das blendas	70
4.1.1. Quitosanas	70
4.1.1.1. Grau de acetilação médio de quitosana	70
4.1.1.1.1. Grau de acetilação de quitosana por análise elementar	71
4.1.1.1.2. Desacetilação de quitosanas para novos ensaios de análise elementar e infravermelho	72
4.1.1.1.3. Grau de acetilação/desacetilação por espectroscopia vibracional no infravermelho	72
4.1.1.1.4. Grau de acetilação de quitosana por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ¹ H)	73
4.1.1.2. Massa molar	76
4.1.1.2.1. Massa molar viscosimétrica média	78
4.1.1.2.2. Massa molar de quitosana por osmometria de membrana	82
4.1.2. Caracterização da Poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) (PVP)	84
4.2. Filmes de Blendas de Quitosana-PVP	86
4.2.1. Fração gel e índice de intumescimento	87
4.2.1.1. Filmes não-irradiados	87
4.2.1.2. Filmes irradiados por luz uv	90
4.2.2. Espectroscopia vibracional no infravermelho	93
4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	98
4.3.1. Filmes de blendas de quitosana e PVP não-irradiados por luz uv	98

4.4. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos Filmes de blendas de quitosana-PVP	101
4.5. Análise termogravimétrica dos filmes de blendas de quitosana-PVP	104
4.6. Permeação de Água através de Filmes de Blendas de Quitosana-PVP	109
4.7. Testes de Difração de Raios X	114
4.8. Hidrogéis a Partir de Co-Soluções de Quitosana-PVP, Induzidos por Radiação UV	117
4.8.1. Hidrogéis de soluções de quitosana a 2% (m/v) em ácido acético diluído com água a 2% (v/v)	117
4.8.2. Hidrogéis a partir de soluções de PVP a 2% irradiadas com luz UV _{254 nm}	118
4.8.3. Hidrogéis a partir de soluções de PVP irradiadas com luz UV _{254 nm} , analisados através de planejamento fatorial	119
4.9. Hidrogéis a Partir de Misturas de Co-Soluções de Quitosana a 2% (m/v) e PVP a 2% (m/v)	126
4.9.1. Microscopia eletrônica de varredura de hidrogéis formados de co-soluções de quitosana-PVP	131
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	134
6. CONCLUSÕES	138
7. REFERÊNCIAS	140
8. ANEXOS	167
SÚMULA CURRICULAR	167

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS PRINCIPAIS

AnEI	Análise elementar
CMC	Carboximetilcelulose
DA	Grau de acetilação
DD	Grau de desacetilação
DMA	Análise mecânico-dinâmica
EGDMA	Dimetacrilato de etileno glicol
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
HAc	Ácido acético
Íi	Índice de intumescimento
IP	Índice de polidispersidade
IPN	Rede polimérica interpenetrante
IV	Infravermelho
m	Massa de polímero inicial
m_s	Massa da amostra seca
m_u	Massa da amostra úmida
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MS	Espectrometria de massas
NaAc	Acetato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
PB	Polibutadieno
PEO	Poli(óxido de etileno)
PHEMA	Poli(metacrilato de 2-hidroxietila)
PNIPAAm	Poli(isopropilacrilamida)
PVA	Poli(álcool vinílico)
PVP	Poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona)
QH	Quitosana de massa molar alta
QuitH	Quitosana de massa molar alta desacetilada
QM	Quitosana de massa molar média
QuitM	Quitosana de massa molar média desacetilada
QS	Quitosana da Sigma
RMN ^1H	Ressonância magnética nuclear de ^1H
SEC	Cromatografia por exclusão de tamanho

SIPN	Rede polimérica semi-interpenetrante
T _g	Temperatura de transição vítrea
TG	Termogravimetria
TS	Teor de sólidos
TSPA	ácido 3-(metilsilil)-1-propanossulfônico-d4
UV	Ultravioleta
XRD	Difração de raios X
WVT	Transmissão de vapor de água
WVTR	Taxa de transmissão de vapor de água

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Alguns biomateriais e suas aplicações.	24
Tabela 2. Polímeros hidrofílicos sintéticos e suas principais aplicações.	29
Tabela 3. Polissacarídeos importantes e produzidos comercialmente.	36
Tabela 4. Relação dos principais reagentes utilizados neste trabalho.....	56
Tabela 5. Resultados de análise elementar (C, H, N), DA e DD médios de quitosanas QH e QM sem purificação.....	71
Tabela 6. Análise elementar (C, H, N); graus de acetilação (DA) e de desacetilação (DD) médios de quitosanas QuitH e QuitM.	72
Tabela 7. Grau de acetilação de quitosana por espectroscopia no infravermelho....	73
Tabela 8. Graus de acetilação e desacetilação de quitosanas por RMN- ¹ H.....	74
Tabela 9. Graus de acetilação / desacetilação de quitosanas obtidos por análise elementar (AnEI), espectroscopia no infravermelho (IV) e RMN- ¹ H.	74
Tabela 10. Viscosidade intrínseca [η] a 25,0 ± 0,1 °C, massa molar viscosimétrica média ($\overline{M}_v$) para quitosana dissolvida em CH ₃ COOH 0,3 mol/dm ³ / CH ₃ COONa 0,2 mol/dm ³	79
Tabela 11. Pressões osmóticas reduzidas de quitosanas QH e QM para determinação de suas massas molares numéricas médias (M_n).	83
Tabela 12. Caracterização de PVP (Luviskol K90D).....	86

Tabela 13. Fração de polímero insolúvel de filmes de blendas de quitosana QM-PVP e QH-PVP não-irradiados, após extração em água destilada durante 48 h, à temperatura ambiente.	88
Tabela 14. Índice de intumescimento e fração gel de filmes de blendas de quitosanas-PVP (QM-PVP e QH-PVP) irradiados por luz $uv_{254\text{ nm}}$	91
Tabela 15. Identificação de grupos funcionais no espectro FT-IR de quitosana QH	95
Tabela 16. Identificação de grupos funcionais no espectro FT-IR de PVP	95
Tabela 17. Freqüências da carbonila de PVP em blendas de quitosana QH.	97
Tabela 18. Porcentagem de perda de massa das blendas de quitosana-PVP em diversos estágios, conforme análise termogravimétrica.	105
Tabela 19. Transmissão de vapor de água de filmes de PVP, quitosana e blendas de quitosana-PVP não-irradiados e irradiados por luz UV, controlada a cada 24 h, no período de 120 h.	110
Tabela 20. Taxa de transmissão de vapor de água de filmes de blendas de quitosana –PVP não-irradiados e irradiados por luz UV (amostras com índice uv)	112
Tabela 21. Índices de cristalinidade (I_{α}) de quitosana QH, PVP e blenda QH50....	115
Tabela 22. Fração gel e índice de intumescimento de hidrogéis de soluções de PVP a 2% irradiadas com luz $UV_{254\text{ nm}}$ a 30 °C, durante 4 h.	118
Tabela 23. Fatores de níveis das variáveis independentes	120
Tabela 24. Resultados para fração gel do planejamento fatorial.	120
Tabela 25. Resultados dos principais efeitos para fração gel e suas interações....	121
Tabela 26. F-teste e probabilidade (valor-p) para fração gel.	121
Tabela 27. Frações gel e índices de intumescimento médios de hidrogéis obtidos de co-soluções de quitosana-PVP.	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da PVP.....	30
Figura 2. Estrutura do Complexo Iodo-PVP.....	31

Figura 3. Estruturas de (a) poli(éster monometil do ácido itacônico) e (b) poli(ácido acrílico).....	32
Figura 4. Complexo de poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) – poli(ácido acrílico).....	32
Figura 5. Estruturas de anéis glicofuranosídico e glicopiranosídico.	38
Figura 6. Estruturas químicas de celulose e quitina.	39
Figura 7. Desacetilação alcalina da quitina, normalmente realizada a temperaturas de 80 °C a 150°C.....	39
Figura 8. Estrutura química idealizada da quitosana totalmente desacetilada.	39
Figura 9. Formas desprotonada e protonada da quitosana.....	40
Figura 10. (A) Carboximetilação no grupo OH de CH ₂ -OH da quitosana e (B) Carboximetilação no grupo NH ₂ da quitosana.....	40
Figura 11. Etapas para purificação da quitina e obtenção de quitosana.	42
Figura 12. Glucosaminoglicanas ou mucopolissacarídeos consistindo de unidades repetitivas de um dissacarídeo.....	44
Figura 13. Redes poliméricas interpenetrantes com a linha preta da malha representando a rede I e com a linha cinza da malha representando a rede II.....	53
Figura 14. SIPN Modelo de uma rede polimérica semi-interpenetrante de estrutura porosa	53
Figura 15. Determinação da massa molar média numérica por extrapolação da curva de pressão reduzida da solução do polímero à concentração zero.....	63
Figura 16. Determinação da viscosidade intrínseca de quitosana QH.	80
Figura 17. Determinação da viscosidade intrínseca de quitosana QM.....	80
Figura 18. Determinação da massa molar numérica média, $\overline{M}_n$, de quitosana QH por osmometria.....	83
Figura 19. Determinação da massa molar numérica média, $\overline{M}_n$, de quitosana QH por osmometria.....	84
Figura 20. Fração de polímero insolúvel de blendas de quitosana-PVP. Extração a partir de filmes das blendas não-irradiados e imersos em água deionizada durante 48 h, à temperatura ambiente.	88

Figura 21. Índice de intumescimento de filmes de blendas de quitosana-PVP (QH-PVP e QM-PVP). Filmes não-irradiados por luz UV. Extração em H ₂ O deionizada durante 48 h, à temperatura ambiente.	90
Figura 22. Fração gel e índice de intumescimento de filmes de blendas de quitosana QH-PVP irradiados por luz uv _{254 nm}	91
Figura 23. Fração gel e índice de intumescimento de filmes de blendas de quitosana QM-PVP irradiados por luz uv _{254 nm}	92
Figura 24. Espectro IV de filme de quitosana QH.....	94
Figura 25. Espectro IV de filme de PVP	94
Figura 26. Espectros IV de filmes de blendas de quitosana QH-PVP na região de 1800–1500 cm ⁻¹	96
Figura 27. Fotomicrografias de superfícies de criofraturas de filmes de (a) PVP, (b) quitosana QM e (c) quitosana QH não- irradiados por luz uv, obtidas em MEV.	98
Figura 28. Fotomicrografias de superfícies de criofratura de filmes de blendas de quitosana-PVP não-irradiados por luz uv, obtidas em MEV. (a) QM 5; (b) QH 5; (c) QM 30 e (d) QH 30.....	99
Figura 29. Fotomicrografias de superfícies de criofraturas de filmes de blendas de quitosana-PVP não-irradiados por luz uv, obtidas em MEV. (a) QM 50; (b) QH 50; (c) QM 70; (d) QH 70; (e) QM 95 e (f) QH 95.	100
Figura 30. Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) de filmes blendas de quitosana QM-PVP não-irradiados por luz uv. 2º aquecimento de 25 °C a 250 °C, a uma taxa constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N ₂ (100 mL/min).102	
Figura 31. Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) de filmes blendas de quitosana QH-PVP não-irradiados por luz uv. 2º aquecimento de 25 °C a 250 °C, a uma taxa constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N ₂ (100 mL/min).102	
Figura 32. Curvas de TG/DrTG de filmes de quitosanas QM e QH não-irradiados por luz uv (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N ₂ (100 mL/min).	106
Figura 33. Curvas de TG/DrTG de filme de PVP não-irradiado com luz UV (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N ₂ (100 mL/min).	106

Figura 34. Curvas de análise termogravimétrica de filmes de blendas de quitosana QM-PVP não-irradiados (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min), em atmosfera dinâmica de N ₂ (100 mL/min).	107
Figura 35. Curvas de análise termogravimétrica de filmes de blendas de quitosana QH-PVP não-irradiados (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N ₂ de 100 mL/min).	108
Figura 36. Transmissão de vapor de água de filmes de quitosana e de blendas de quitosana-PVP não-irradiados e irradiados por luz UV.	111
Figura 37. Transmissão de vapor de água de filmes de quitosana e de blendas de quitosana-PVP não-irradiados e irradiados por luz UV.	111
Figura 38. Difratoograma de PVP.....	115
Figura 39. Difratoograma da blenda QH50.....	115
Figura 40. Difratoograma de quitosana QH.....	116
Figura 41. Superfície de resposta de fração gel mantendo tempo de exposição (h) (H de exp) em seu valor máximo.....	122
Figura 42. Superfície de resposta de fração gel mantendo % HAc em seu valor máximo.....	123
Figura 43. Superfície de resposta de fração gel mantendo [PVP] em seu valor mínimo.	123
Figura 44. Macrorradicais mais prováveis de PVP em solução aquosa, formados através de radiação de alta energia (adaptação de Rosiak et al., 1990).....	124
Figura 45. Frações gel e índices de intumescimento médios de hidrogéis de misturas de co-soluções de quitosana a 2%(m/v) e PVP a 2%(m/v).....	128
Figura 46. Membranas de hidrogéis de PVP induzidos por radiação UV _{254 nm} durante 4 horas a 30°C a partir de (a) solução aquosa de PVP a 2% (m/v) em HAc a 2% (v/v) e (b) solução de PVP a 2% (m/v) em água deionizada.	132
Figura 47. Membranas de hidrogéis de quitosana-PVP (a)QM30 e (b)QH30 induzidos por radiação UV _{254 nm} durante 4 h a 30°C – 70% de PVP e 30% de	

quitosana QM (m/m), a partir de mistura das soluções aquosas ácidas – HAc a 2% (v/v) – contendo 2% (m/m) de cada polímero.....132

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Caráter básico da PVP em sistemas aquosos.	32
Esquema 2. Polissacarídeo formado a partir de unidades de hexose.....	35
Esquema 3. Obtenção de poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) por polimerização radicalar em solução aquosa.	85
Esquema 4. Reação de desidratação de PVP.....	109
Esquema 5. (A) PVP; (B) PVP excitada pela irradiação UV; 1C, 2C e 3C: possíveis macrorradicais livres (Adaptação do Esquema 1, Fechine et al., 2006).....	125
Esquema 6. Formação de radical a partir de quitosana parcialmente desacetilada.	129
Esquema 7. Formação de radicais de quitosana.....	130

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	48
Equação 2	49
Equação 3	49
Equação 4	58
Equação 5	61
Equação 6	61
Equação 7	63
Equação 8	64
Equação 9	66
Equação 10	66

	18
Equação 11	71
Equação 12	71
Equação 13	73
Equação 14	74
Equação 15	75
Equação 16	75
Equação 17	79
Equação 18	80
Equação 19	82
Equação 20	115

RESUMO

Blendas poliméricas são misturas físicas de dois ou mais polímeros. O interesse de obtenção de blendas poliméricas, com características físicas e químicas desejadas para as mais diversas aplicações, é crescente em todo o mundo.

Neste trabalho foram desenvolvidos filmes de blendas de quitosana e poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (PVP) em várias proporções. A irradiação destes filmes com radiação UV_{254nm} gerou hidrogéis estáveis. Foram também obtidos hidrogéis a partir de co-soluções aquosas destes polímeros, em diversas proporções, com reticulação de seus componentes induzida pela radiação ultravioleta. Em ambos os casos, os materiais foram caracterizados e avaliados quanto a sua potencialidade de uso como biomaterial.

Para análise e caracterização das blendas e hidrogéis utilizaram-se as técnicas de espectroscopia no infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA), difratometria de raios X e transmissão de vapor de água (WVT).

Os resultados mostraram que a forte interação entre PVP e quitosana leva a um aumento da insolubilidade da blenda em relação à PVP pura, mesmo com baixas quantidades de quitosana. A presença de PVP aumenta a hidrofiliabilidade da blenda e também ocasiona a diminuição da cristalinidade da quitosana. Outro aspecto importante foi o aumento da estabilidade térmica das quitosanas, também influenciada pelo aumento da parcela de PVP nas blendas.

A análise dos dados parece indicar que uma SIPN foi formada, onde a rede básica é constituída de PVP reticulada, enquanto a quitosana é mantida “presa” nesta rede, sem participar da mesma, mas impedida de ser extraída.

O estudo da irradiação de co-soluções aquosas de PVP e quitosana gerou hidrogéis estáveis, porém restritos a baixa porcentagem de quitosana na mistura – até 30%. Este estudo revelou, também, que a presença de ácido acético na solução facilita o processo de reticulação, incluindo solução de PVP pura.

A permeabilidade à água dos filmes de blendas de quitosana/PVP não-irradiados e irradiados indica sua potencialidade de aplicações desses materiais em áreas medicinal e alimentícia.

A literatura descreve vários métodos de produção de hidrogéis de quitosana, porém, todos baseados no uso de agentes reticulantes externos ou da

enxertia de grupos reativos na cadeia de quitosana. Deve-se ressaltar que o sistema de reticulação aqui proposto não faz uso de agentes de reticulação, fotoiniciadores nem incorporação de algum grupo fotorreativo nas cadeias dos polímeros.

De modo geral, os resultados obtidos dos materiais poliméricos irradiados e não-irradiados sugerem que possuem potencialidade para várias aplicações: como biomaterial, por exemplo, matrizes poliméricas para liberação controlada de fármacos, curativos para ferimentos mais leves, outros.

Palavras-chave: polímero, biomaterial, poli(*N*-vinil-2-pirrolidona), quitosana, blendas, hidrogéis, radiação ultravioleta.

SUMMARY

Polymer blends are physical mixtures of two or more polymers. The interest in obtaining polymer blends, with desired physical and chemical characteristics for the most diverse applications, is increasing in the whole world.

In this work, chitosan and poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) (PVP) blend films were developed at several ratios. Hydrogels were also obtained from co-solutions of these polymers, at diverse ratios, through crosslinking induced by ultraviolet radiation. In both cases, the materials were characterized and evaluated in terms of their potentiality of use as biomaterial.

For analysis and characterization of blends and hydrogels were utilized the techniques of infrared spectroscopy (IR), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA), X-ray diffractometry (XRD), and water vapor transmission (WVT).

The results have shown that the strong interaction between PVP and chitosan leads to an increase of blend insolubility in relation to pure PVP, even with low amounts of chitosan. PVP presence increases blend hydrophilicity and causes reduction of chitosan crystallinity, as well. Another important aspect was the increase of chitosan thermal stability, influenced by the increase of PVP portion in blends.

Analysis of the data seems to indicate that a SIPN was formed, where the basic net is constituted of crosslinked PVP, while chitosan is kept "imprisoned" in this net, without participating of the same, but hindered of being extracted.

The study of irradiation of PVP and chitosan aqueous co-solutions generated stable hydrogels, however restricted low chitosan percentage in the mixture - up to 30%. This study also disclosed that the acetic acid presence in the solution facilitates the crosslinking process, including pure PVP solution.

Permeability to water of non-irradiated and irradiated blend films of chitosan/PVP indicates application potentiality of these materials in medicinal and food areas.

Literature describes several methods of chitosan hydrogel production, however, all basing on the use of external crosslinkers or graft of reactive groups on chitosan chain. It must be pointed out that the crosslinking system considered here does not make use of crosslinkers, photoinitiators nor incorporation of some photoreactive group into the chains of the polymers

In a general way, the results obtained from irradiated and non-irradiated polymer materials suggest they possess potentiality for some applications: as biomaterial, for example, polymer matrices for controlled drug release, dressings for simpler wounds, others.

Key-words: polymer, biomaterial, poli(*N*-vinyl-2-pyrrolidone), chitosan, blends, hydrogels, ultraviolet radiation.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Biomateriais

Entende-se por biomateriais toda substância (outra que não fármaco) ou combinação de substâncias, de origem natural ou sintética, capaz de substituir, tratar ou aumentar tecidos, órgãos ou funções do corpo e que são implantados no corpo permanentemente ou por um determinado período de tempo (Helmus e Tweden, 1995).

Os biomateriais desenvolveram-se, historicamente, a partir de uma combinação satisfatória de propriedades físicas e químicas próximas àquelas do tecido substituído, desde que acompanhado de uma resposta tóxica mínima para o hospedeiro. Isto conduziu a uma gama diversa de biomateriais “quase inertes”, resultando nos 2 milhões, aproximadamente, de dispositivos implantados anualmente (Oréfice *et al.*, 2006)

O critério de seleção para um biomaterial baseia-se, principalmente, na aplicação a que se destina. Como exemplo disso têm-se os dispositivos para aplicações em tecidos moles, que têm geralmente a função de aumentar ou reparar, no intuito de redefinir o tecido. Já para dispositivos que se destinam a aplicações ortopédicas e odontológicas, os materiais irão compor implantes estruturais ou serão utilizados no reparo de defeitos ósseos, com propriedades mecânicas opostas aos do exemplo anterior.

As propriedades físicas, químicas e mecânicas devem ser avaliadas na escolha dos materiais, tais como fadiga, resistência, taxa de permeação, rugosidade, bioatividade, (bio)estabilidade, entre outras.

Uma das propriedades mais importantes dos biomateriais é a sua habilidade de desempenhar uma função com uma resposta tecidual e biológica apropriada dentro da aplicação específica a que se destina; a isso damos o nome de biocompatibilidade. Dentro deste conceito, estes materiais devem ser isentos de produzir qualquer tipo de resposta biológica adversa, de maneira que devem ser não-tóxicos, não-carcinogênicos, não-antigênicos, não-mutagênicos e não-trombogênicos (para as aplicações sanguíneas).

Quanto aos diferentes tipos de materiais, os biomateriais classificam-se em: poliméricos, cerâmicos, metálicos, compósitos e biorrecobrimentos, entre outros.

A Tabela 1 descreve alguns biomateriais aplicados com a respectiva função e composição.

Tabela 1. Alguns biomateriais e suas aplicações.

DISPOSITIVO	FUNÇÃO	COMPOSIÇÃO
Prótese da córnea	Prover um caminho ótico para a retina	Poli(metacrilato de metila) (PMMA); hidrogel
Lentes intraoculares	Correção de problemas causados por cataratas	PMMA (lentes); náilon, polipropileno; Pt, Ti
Tubulação nervosa	Alinhamento de nervos desligados	Membrana de silicone; metais cirúrgicos porosos
Cateteres e <i>shunts</i>	Assistência à hemodiálise	Polietileno com recobrimentos hidrofílicos
Válvulas cardíacas	Substituição de válvulas danificadas	Ligas Co-Cr; carbono historópico de baixa temperatura; liga de Ti com Silastic
Próteses artificiais do quadril, joelho, ombro, cotovelo e pulso	Reconstrução de articulações artríticas ou fraturadas	Aço inox 316L; liga Co-Cr; Ti e liga Ti-Al-V; cimento de PMMA; polímero poliacetal; PTFE-recobrimento de carbono em metal; alumina de alta densidade
Pinos intramedulares	Alinhamento de fraturas	Compósito polissulfona-fibra de carbono; compósito de ácido polilático-ácido poliglicólico
Implante subperiósteo de substituição de dentes	Dar suporte a trabalhos de ponte ou dente diretamente no osso alveolar	Aço inox; liga Co-Cr-Mo; recobrimentos de carbono LTI

Cont. Tabela 1

DISPOSITIVO	FUNÇÃO	COMPOSIÇÃO
Prótese mamária	Substituição ou aumento de seios	Gel e borracha de silicone, Dacron; esponja de Hydron
Cartilagem articular artificial	Substituição de cartilagem deteriorada por artrite	Hidrogel-PVA e poliuretana, PTFE mais fibras de grafita (Proplast)
Pele artificial	Tratar queimaduras severas	Colágeno tratado; compósito de espuma de policaprolactona (PCL) – filme de PCL
Suturas	Manutenção de contato entre tecidos para auxiliar na cura	PLA, PGA, P(LA-co-GA); Aço inox; seda; náilon; Dacron, polipropileno; categute
Sistemas de liberação controlada	Liberação de fármacos progressivamente; imobilização de enzimas	Borracha de silicone; hidrogéis; copolímero etileno-acetato de vinila; P(LA-co-GA)

1.1.1. Biomateriais Poliméricos

Têm-se relatos da aplicação de polímeros naturais para fins biomédicos desde o início da civilização humana, destacando-se o algodão, a seda e a celulose. Por outro lado, os polímeros sintéticos tiveram seu *debut*, no campo dos biomateriais com a aplicação de poliamidas sintéticas (Nylon®) em suturas, aproximadamente nos anos de 1940-1942. Biopolímeros são macromoléculas derivadas de seres vivos, as quais possuem unidades repetitivas na cadeia. Além disso, aos polímeros que são aplicados como biomateriais dá-se, também, o nome de biopolímeros. Dentre eles, encontram-se os de origem natural, sintética, biodegradáveis ou estáveis frente aos sistemas biológicos.

Polímeros porosos têm sido amplamente empregados no campo dos biomateriais na produção de membranas, suportes para crescimento celular e implantes. A exemplo dos mais utilizados têm-se polietileno, polipropileno, poli(tetrafluoroetileno), poliuretanos, etc (Oréfice *et al.*, 2006).

Outra classe de biomateriais poliméricos bastante interessantes e de destaque particular neste trabalho são os hidrogéis, extensivamente utilizados para aplicações biomédicas.

1.1.2. Hidrogéis

A síntese do poli(metacrilato de hidroxietila) por Wichterle e Lim em 1960 (Wichterle and Lim, 1960) é considerada o começo da pesquisa moderna do hidrogel. Desde então, tem havido um considerável progresso nas sínteses e nas aplicações dos hidrogéis. Uma das áreas em que os hidrogéis mais atuam é como matriz polimérica para liberação controlada de fármacos. Outra área em que os hidrogéis têm um papel de suma importância é na de curativos para ferimentos e queimaduras.

Hidrogéis são definidos como sistemas de dois ou mais componentes consistindo de uma rede tridimensional estável de cadeias de polímeros e água, que preenche os espaços entre as macromoléculas. Hidrogéis são, portanto, capazes de absorver/reter grandes quantidades de água, podendo chegar a milhares de vezes a massa do(s) polímero(s) envolvido(s) no sistema (Rosiak *et al.*, 1999).

Os hidrogéis podem ser classificados segundo as interações que formam a estrutura tridimensional. Nos hidrogéis físicos, também chamados de pseudogéis, as cadeias poliméricas estão unidas por interações não-covalentes, que podem ser facilmente desfeitas com mudanças de temperatura e pH, por exemplo. Dentre estas interações, podemos destacar as forças eletrostáticas, as ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e enovelamento das cadeias.

A outra classe é constituída dos hidrogéis químicos ou permanentes. Nesse caso, a estrutura tridimensional é coesa graças a ligações covalentes entre as cadeias poliméricas, e que não são facilmente desfeitas com aquecimento ou adição de solventes, mas podem ser degradadas por reações químicas e quebradas sob estresse mecânico.

Para que o hidrogel possa absorver grandes quantidades de água, é necessário que o polímero (ou polímeros) seja hidrofílico. Como exemplos comuns de hidrogéis de origem natural podem-se citar as gelatinas, produzidas a partir de hidrolisados de colágeno (proteínas) ou de algas marinhas (fração polissacarídea), comercializados em mercados como gênero alimentício. É comum, também,

utilizarem-se polímeros sintéticos solúveis em água como, por exemplo, os hidrogéis de poli(álcool vinílico) (Mohlebach et al., 1997), poli(óxido de etileno) (Emami et al., 2003) e polivinilpirrolidona (Fechine et al., 2004). Hidrogéis também podem ser formados a partir de misturas (blendas) de dois ou mais polímeros, como os hidrogéis de blendas de poli(metil vinil éter) e poli(*N*-vinil-2- pirrolidona) obtidos por Gottlieb et al.(2005) e os de poli(alilbiguanido-co-alilamina) e poli(álcool vinílico) obtidos por Lio et al. (1995).

Por serem de consistência muito flexível, não-abrasivos, permeáveis e com capacidade de absorver/trocar fluidos com organismos vivos, encontram largo emprego como biomateriais. Os principais usos de hidrogéis como biomateriais são como lentes de contato, substratos para engenharia de tecidos, membranas para liberação controlada de fármacos em tratamentos dos mais diferentes tipos de doenças, além de aplicações em ortodontia, implantes, oftalmologia, curativos para ferimentos e queimaduras, etc (Razzak et al., 1999).

Dependendo da estrutura do polímero que compõe o hidrogel, eles podem responder a estímulos externos como pH (Turan et al., 2007), temperatura (Dogu et al., 2006), força iônica (Yang et al., 2007), campo elétrico, luz e outros. Estes hidrogéis fazem parte de uma classe de materiais ditos “inteligentes”, que podem ser utilizados, por exemplo, para a implementação de músculos artificiais (Moschou et al., 2006) e implantes liberadores de insulina (Brannon-Peppas, 1997).

1.2. Polímeros Sintéticos

Polímeros sintéticos hidrofílicos possuem normalmente agrupamentos de átomos polares na cadeia. Tais agrupamentos podem ser hidroxílicos, amínicos, carboxílicos, iônicos ou de outra natureza, os quais fazem o polímero interagir mais fortemente com a água, dissolvendo-se, dispersando ou intumescendo. O aumento de cargas iônicas num polímero aumenta a repulsão entre suas moléculas e, conseqüentemente, leva a um aumento de sua hidrofiliidade e capacidade de intumescimento (Peppas et al., 2000).

A hidrofiliidade de um polímero é uma característica importante para seu uso em sistemas aquosos, principalmente em matrizes poliméricas para liberação controlada de fármacos (Lopes et al., 2005) e hidrogéis para as mais diversas aplicações. Pode ser aumentada, por exemplo, enxertando na cadeia do polímero

monômeros ou oligômeros polares hidrofílicos; misturando polímero com outro hidrofílico, formando, portanto uma blenda; valendo-se de aditivos hidrofílicos especiais (tensoativos, por exemplo).

Por outro lado, dependendo do uso específico do polímero, por exemplo, para a liberação controlada de um fármaco num determinado tecido ou órgão, a matriz polimérica pode necessitar de um aumento de caráter hidrofóbico. Neste caso, enxertam-se na cadeia do polímero monômeros ou oligômeros hidrofóbicos ou, se nela existem grupos funcionais hidrofílicos, estes podem ser modificados através de reações com compostos que aumentem a hidrofobicidade. Exemplos típicos são esterificação em grupos ácidos e eterificação em grupos hidroxilados.

A biocompatibilidade e a biodegradabilidade de um polímero dependem também de um ajuste fino de sua hidrofiliabilidade. Isso pode ser feito modificando a energia de superfície do polímero, mediante polimerização por enxerto de algum monômero hidrofílico na cadeia, realizada por radiação de alta energia (Aliev, 2001; Park et al., 2003).

A Tabela 2 apresenta alguns polímeros hidrofílicos sintéticos importantes e suas principais aplicações.

Tabela 2. Polímeros hidrofílicos sintéticos e suas principais aplicações.

Polímero	Abreviação	Principais Aplicações	Referência
Poli(álcool vinílico)	PVA	Colas, adesivos, aditivos para papel e têxteis, biomateriais	(Wu et al., 2008); Clariant (fornecedor)
Poli(etileno glicol) ou Poli(óxido de etileno)	PEG ou PEO	Membrana para liberação controlada de fármacos; nanofibras	(Pinto et al., 2004; Venugopal et al., 2005)
Poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona)	PVP	Biomateriais; cosméticos; outras	(Robinson, 1990; BASF (fornecedor))
Poli(metacrilato de metila)	PMMA	Biomateriais; Inúmeras no segmento de plásticos	(Parra et al., 2005; Santos Jr. et al., 2006; Altuglas International (fornecedor))
Poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida)	PNIPAm	Hidrogéis termossensíveis	(Cui et al., 2005; Alvarez-Lorenzo et al., 2005)
Poli(ácido láctico)	PLA	Suturas bioabsorvíveis para os mais diversos tipos de cirurgia	(Gupta et al., 2007)
Poli(ácido glicólico)	PGA	Suturas bioabsorvíveis para os mais diversos tipos de cirurgia	(Gilding and Reed, 1979)

1.2.1. Poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)

Poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (PVP, Figura 1) é o nome dado ao polímero solúvel em água resultante da polimerização radicalar de *N*-vinil-2-pirrolidona. Após seu desenvolvimento na Alemanha, em meados dos anos de 1930, foi proposta como componente de plasma sanguíneo artificial. Devido a todas as suas propriedades, como a baixa toxicidade, biocompatibilidade, relativa inércia química, formação de filmes e resistência à degradação, encontrou usos em praticamente todos os ramos industriais, principalmente nos da indústria farmacêutica, cosmética e de alimentos (Robinson, 1990).

Figura 1. Estrutura da PVP.

PVP também apresenta característica anfótera, ou seja, além da dissolução em água, também é capaz de se dissolver em alguns solventes orgânicos, tais como ácido acético, ácido fórmico, etanol, etileno glicol, metanol, cloreto de metileno, outros. Na indústria farmacêutica, seu principal uso tem sido em revestimentos de comprimidos, retardando e, conseqüentemente, controlando a liberação do princípio ativo do fármaco. Além disso, descobriu-se que este polímero é capaz de formar um complexo com iodo, que foi apresentado para o mercado farmacêutico nos anos de 1950 e é usado até hoje como agente anti-séptico de uso tópico ou oral (ISP Technologies, 2004). É tão efetivo quanto o próprio iodo num espectro amplo de ação contra vários microorganismos causadores de doenças (Figura 2).

Figura 2. Estrutura do Complexo Iodo-PVP.

Quando um grande número interações intermoleculares (forças eletrostáticas, ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas) estão presentes, materiais altamente associados podem ser obtidos. Geralmente são chamados interpolímeros ou complexos interpoliméricos. Os complexos de polímero-polímero são obtidos freqüentemente misturando um poliácido com uma polibase e usando um solvente comum. Dependendo da extensão da associação do interpolímero (controlada geralmente pela concentração, temperatura, pela estrutura química do solvente e dos polímeros, pH, tamanhos dos polímeros, outras variáveis), pode-se formar um precipitado. A maioria dos complexos interpoliméricos tem sido estudada em soluções aquosas, porque tais complexos podem ser considerados como modelos para interações entre macromoléculas biológicas (Meaurio et al., 1996).

PVP, mesmo sendo um polímero não-iônico, forma complexos poliméricos com alguns polímeros ionizáveis (exemplos na Figura 3). Através de complexação interpolimérica (Nurkeeva et al., 2003; Chun et al., 2002; Tang et al., 2001), pode-se obter um complexo polimérico de melhor bioadesão e outras características vantajosas, tais como maior intumescimento, maior resistência à fotodegradação em relação ao polímeros puros. Esses complexos encontram várias aplicações, principalmente como matrizes para liberação controlada de fármacos. A estrutura de um complexo interpolimérico de PVP-PAA (Chun et al., 2002), formado por ligação de hidrogênio do ácido poli(ácido acrílico) (PAA) com a carbonila da PVP, está representada na Figura 4.

Figura 3. Estruturas de (a) poli(éster monometil do ácido itacônico) e (b) poli(ácido acrílico).

Figura 4. Complexo de poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) – poli(ácido acrílico)

Em sistemas aquosos, é possível PVP apresentar um caráter básico conforme o esquema proposto por Takagiski (Takagiski et al., 1973).

Esquema 1. Caráter básico da PVP em sistemas aquosos.

A presença de uma carga negativa no polímero participante da mistura com PVP resulta geralmente na formação de um complexo de polímero-polímero, por causa da natureza catiônica do átomo do nitrogênio do anel pirrolidona da PVP, mostrado no Esquema (caráter básico da PVP). O átomo de oxigênio é hidratado fortemente, porque não está protegido. Por outro lado, os grupos hidrocarbonetos vizinhos protegem o átomo de nitrogênio, impossibilitando sua hidratação. No complexo de PVP-PAA, por exemplo, a parte hidrofóbica inclui os grupos

hidrocarbonetos das cadeias de PVP e do poli(ácido acrílico) bem como os metilenos do anel pirrolidona (Figura 4). A importância das interações hidrofóbicas de ligar PVP é evidenciada também na literatura. Num ambiente aquoso, as forças eletrostáticas e as interações hidrofóbicas contribuem para a formação do complexo polimérico, enquanto que, em solventes orgânicos, estas interações diminuem à medida que aumentam as forças eletrostáticas no sistema.

PVP forma também complexos com cátions de alguns metais de transição (Hg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , outros) (Güner et al., 1998). Esses complexos encontram aplicações principalmente como catalisadores (Zhang et al., 1999), nos quais PVP é o suporte.

1.2.1.1 Hidrogéis de PVP, PVP modificada e PVP combinada com outros polímeros

PVP forma também hidrogel, quando reticulada. Vários métodos têm sido utilizados para promover as ligações cruzadas. Um dos mais antigos é a *radiação de alta energia*. – comumente a radiação gama ou a radiação de feixe de elétrons (EB) - (Rosiak et al., 1994; Miranda et al., 1999). Neste processo, a irradiação de soluções do polímero aquosas provoca uma radiólise da água formando $\text{H}^\bullet$ reativo e especialmente radicais $\text{OH}^\bullet$. Estes radicais atacam a cadeia do polímero, abstraem hidrogênio deste e transferem o centro do radical para a cadeia. Estes métodos, assim chamados de “limpos”, levam a um processo de reticulação por recombinação mútua dos macrorradicais covalentemente, sem o uso de aditivos reticulantes e com vantagens de obter um produto esterilizado. Um outro método é a utilização da *radiação ultravioleta com $\lambda = 254 \text{ nm}$* (Fechine et al., 2004). Este processo induz a formação de macrorradicais livres que se recombinam e reticulam a PVP. A fim de acelerar esse processo, adiciona-se H_2O_2 à solução de PVP-água. Neste caso, a formação de macrorradicais livres é sinergisticamente favorecida pela reação com radicais $\text{OH}^\bullet$ originados da foto-homólise do H_2O_2 , levando à reticulação da PVP por recombinação dos macrorradicais livres. Uma outra metodologia usada é o uso da tecnologia das *reações de Fenton e foto-Fenton* (Barros et al., 2006; Fechine et al., 2006), sendo a primeira reação com adição de Fe^{2+} e H_2O_2 na solução de PVP, onde radicais $\text{OH}^\bullet$ liberados pelas reações promovem a reticulação da PVP. No caso da reação foto-Fenton, utilizam-se o Fe^{3+} e o H_2O_2 na solução de PVP-água,

associados à radiação UV com $\lambda = 366$ nm. Normalmente, a reticulação da PVP é mais lenta neste processo do que no da reação de Fenton com Fe^{2+} , que pode ser realizada *in situ*. Os hidrogéis obtidos nestes processos, aqui descritos, encontram aplicação principalmente como curativos para ferimentos e queimaduras.

Os primeiros hidrogéis poliméricos para curativos de ferimentos foram desenvolvidos pelo grupo de Rosiak. Foram baseados na reticulação e na esterilização simultâneas da mistura dos polímeros de grau medicinal poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)/(PVP), poli(etileno glicol) (PEG) e ágar (Rogerio et al., 2003). Um curativo de hidrogel impede a contaminação microbiana da ferida, inibe a perda de líquidos de corpo, fornece o fluxo livre do oxigênio à ferida e acelera geralmente o processo de cura. A produção de curativos de hidrogéis à base de PVP começou primeiramente na Polônia (Universidade Técnica de Lodz), em 1992. Foram obtidos por radiação de feixe de elétrons e comercializados com as marcas registradas KIK-gel e AQUA-gel. No começo de 2003, iniciou-se a produção inteiramente automática de hidrogel à base de PVP, no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Brasil. Foram obtidos por radiação- γ e denominados comercialmente Biogel (Şen and Avci, 2005).

Hidrogéis de PVP, PVP modificada ou de combinação de PVP com outros polímeros têm sido reportados amplamente na literatura, envolvendo os processos de reticulação aqui mencionados, além de outros de natureza física e química.

1.3. Polímeros Naturais

1.3.1. Polissacarídeos

Segundo Tolstoguzov (2004), propõe-se que os polissacarídeos são os primeiros biopolímeros formados na Terra. Os polissacarídeos constituem uma classe de carboidratos de alto peso molecular, complexos coloidais que se hidrolisam em monossacarídeos contendo cinco ou seis átomos de carbono. Considera-se que os polissacarídeos são polímeros nos quais monossacarídeos foram unidos glicosidicamente com eliminação de água. Um polissacarídeo que consiste de unidades de monossacarídeo de hexose pode ser representado pela reação abaixo (Esquema 2).

Esquema 2. Polissacarídeo formado a partir de unidades de hexose.

Os polissacarídeos são materiais biologicamente produzidos com uma combinação única de propriedades funcionais e características favoráveis ambientalmente. Em sua forma original ou modificados, possuem boas propriedades mecânicas para aplicações como fibras, filmes, adesivos, plásticos processáveis fundidos, espessantes, modificadores reológicos, hidrogéis, carreadores de drogas, emulsificantes, etc. São materiais derivados de fontes renováveis, produzidos a partir de biomassa. Geralmente são biodegradáveis e não-tóxicos. Polissacarídeos produzidos comercialmente incluem ágar, goma xantana, celulose e seus derivados (acetato de celulose, carboximetilcelulose, metilcelulose), amido e seus derivados, alginato de sódio, dextrana, carragenana, ácido hialurônico, quitina e quitosana

A Tabela 3 mostra os nomes, fontes, principais aplicações e referências de vários polissacarídeos.

Tabela 3. Polissacarídeos importantes e produzidos comercialmente.

Polissacarídeo	Fonte principal	Principais aplicações	Referência
Ágar	Algas-marinhas	Biotecnologia (suporte para cultura de bactérias) Alimento	(De Ruiter and Rudolph, 1997)
Goma xantana	Soro de leite - microrganismos (<i>Xanthomonas campestris</i>)	Indústria de alimentos	(Nitschke et al.)
Celulose e derivados	Plantas	Indústrias de papel, têxtil, fármacos, aditivos para tintas	(D'ALMEIDA,1988). L. O, 1988; Paavola et al., 1988; Mahli et al., 2005)
Amido e derivados	Milho, fécula de mandioca	Indústrias de alimentos, medicamentos, aprestos têxteis, por exemplo, engomagem)	(Queji et al., 2006;Liporacci et al., 2005)
Alginato de sódio	Algas (<i>Gelidium cartilagineum</i> , <i>Gracilaria confervoides</i> e outras da classe Rhodophyceae)	Indústrias de alimentos, medicamentos, cosméticos	(De Ruiter and Rudolph, 1997)
Dextrana	Síntese enzimática (Leuconostoc mesenteroides) ou processo fermentativo	Indústria de açúcar	(Honorato et.al.)
Carragenana	Algas-marinhas (<i>Kappaphycus cottonii</i> ; <i>Eucheuma spinosum</i> ; <i>Gigartina pistillata</i> ou <i>Chondrus crispus</i>)	Indústria de aditivos para alimentos, medicamentos, cosméticos	(Gómez et al., 2007)

Cont. Tabela 3

Polissacarídeo	Fonte principal	Principais aplicações	Referência
Hialurona (ácido hialurônico)	Cartilagens	Indústria de alimentos, medicamentos, cosméticos.	(Li et al., 2007; Yun et al., 2004))
Quitina e quitina modificada	Exoesqueletos de crustáceos	Tratamento de efluentes Biomateriais	(Kumar, 2000; Khor, 2002; Yamashita et al., 2002; Wan et al., 1997).
Quitosana	Desacetilação da quitina Paredes celulares de fungos	Biomateriais (membranas para liberação controlada de fármacos; hidrogéis para ferimentos)	(Kumar, 2000)

Polímeros de peso molecular relativamente baixo, consistindo de dois a nove resíduos de monossacarídeo, são, então, chamados de oligossacarídeos. O termo polissacarídeo é limitado a polímeros naturais que contêm 10 ou mais unidades de monossacarídeo. Todavia, polissacarídeos como celulose, amido, glicogênio, dextrana, quitina, quitosana e alginato consistem de vários milhares de unidades de monossacarídeo.

Polissacarídeos têm uma nomenclatura baseada no número de tipos de monossacarídeo presentes na molécula. Celulose e amido, por exemplo, produzem somente um tipo de monossacarídeo (D-glicose) na hidrólise total e são, portanto, denominados *homopolissacarídeos*. Existem polissacarídeos, tais como ácido hialurônico e quitosana parcialmente desacetilada, que produzem na hidrólise mais de um tipo de monossacarídeo (*N*-acetilglicosamina e ácido de D-glucurônico; *N*-acetilglicosamina e *N*-glicosamina, respectivamente). Tais polissacarídeos copolímeros são denominados *heteropolissacarídeos*.” (Adaptações de partes conceituais de polissacarídeos, in *McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology*, 5th edition, published by The McGraw-Hill Companies, Inc.).

Nos polissacarídeos, as unidades repetitivas de monossacarídeos são, em geral, estruturas de anéis glicofuranosídicos ou glicopiranosídicos (Figura 5). A

nomenclatura dos polímeros é um tanto complexa, pois engloba a base de seus principais componentes monossacarídeos, as sequências e ligações entre si, como também a configuração anomérica de ligações, o tamanho do anel (furanose ou piranose), a configuração absoluta (D- ou L-) e quaisquer outros substituintes presentes.

Figura 5. Estruturas de anéis glicofuranosídico e glicopiranosídico.

1.3.2. Quitosana

Quitina, depois da celulose, é o polímero natural mais abundante no planeta. É encontrada em exoesqueletos de crustáceos (camarões, caranguejos, lagostas e outros) (Canella *et al.*, 2001), artrópodes e em alguns fungos, em que é o polímero fibrilar principal da parede celular. Quitina tem uma estrutura cristalina constituída de uma rede de fibras organizadas, e essa estrutura confere rigidez e resistência aos organismos que a contêm (Roberts, 1992). Quimicamente é um polissacarídeo que consiste de unidades de β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glucopirranose (Figura 6). Pode-se considerar um derivado da celulose em que os grupos hidroxila do C-2 foram substituídos por grupos acetamida.

Figura 6. Estruturas químicas de celulose e quitina.

A quitosana é o principal derivado da quitina, produzido por desacetilação alcalina parcial ou total da quitina (Figura 7).

Figura 7. Desacetilação alcalina da quitina, normalmente realizada a temperaturas de 80 °C a 150°C.

A quitosana ocorre também em alguns fungos, mas sua ocorrência é menos difundida que a da quitina. Se totalmente desacetilada, é poli[β-(1→4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopirano] (Figura 8).

Figura 8. Estrutura química idealizada da quitosana totalmente desacetilada.

As quitosanas comerciais, na sua maioria, têm grau de desacetilação entre 70% e 85%. O grau de acetilação e o peso molecular da quitosana definem praticamente todas as suas propriedades físico-químicas e suas aplicações.

Quitosana é pouco solúvel em água. Nesta se dissolve mediante a adição de ácidos (minerais ou orgânicos) com os quais forma um policação (Figura 9) por protonação dos grupos amins livres na cadeia polimérica.

Figura 9. Formas desprotonada e protonada da quitosana.

É um polímero biodegradável e biocompatível. Daí seu uso em diversas aplicações, especialmente na área biomédica (Hirano *et al.*, 1990).

1.3.2.1. Modificação da quitosana

A molécula de quitosana já tem os grupos funcionais OH (nos carbonos C-3 e C-6) e NH₂ no C-2, que possibilitam a obtenção de muitos derivados deste polissacarídeo por reações relativamente simples. Um bom exemplo é a carboximetilação, ilustrada na Figura 10.

Figura 10. (A) Carboximetilação no grupo OH de CH₂-OH da quitosana e (B) Carboximetilação no grupo NH₂ da quitosana.

Uma outra grande possibilidade de modificar a quitosana é através de copolimerização por enxertia na sua cadeia utilizando monômeros vinílicos. Isso pode realizar-se mediante vários mecanismos: iniciação por íon cérico, reagentes de Fenton, radiação-γ, vários métodos radiculares e fotoinduzidos; mecanismos não-radicalares, tais como por abertura de anel, enxertia direta de polímeros telequélcos na cadeia da quitosana (Jenkins and Hudson, 2001). Todas as modificações aqui

citadas visam a alguma melhoria nas propriedades da quitosana para sua aplicação em termos de solubilidade em água, solubilidade em algum solvente orgânico, resistência mecânica, resistência térmica, reatividade química, outras.

O fato de a quitosana ser um polímero não-tóxico, biocompatível e biodegradável leva a um interesse crescente no seu uso nos mais diversos campos, principalmente no de biomaterias. As propriedades da solubilidade limitada da quitosana são consideradas os mais significantes impasses na sua processabilidade e uso. A baixa solubilidade em solventes orgânicos dificulta a processabilidade de materiais de quitosana e a solubilidade pobre em água limita seu uso na maioria das aplicações. A succinilação da quitosana torna-a solúvel. Através da reação de Maillard (Chung et al., 2006) pode-se melhorar sua solubilidade em água. Na reação de Maillard, prepara-se uma solução de quitosana a 1% e açúcar redutor (glucose ou glucosamina) a 2% dissolvidas em ácido acético 0,2 M. A solução é ajustada a um pH 6,0 e incubada a 50°C ou a 70°C durante 1-7 dias. A reação de Maillard envolve os grupos amina da quitosana, que reagem com o grupo aldeído do açúcar e pode levar à mudança de cor associada à hidrólise da quitosana.

1.3.2.2. Um pouco de história de quitina e quitosana

Em 1811, a quitina foi descrita, pela primeira vez, por Bracannot (Roberts, 1992). Ele era professor de História Natural, diretor do Jardim Botânico e membro da Academia de Ciências de Nancy, França. Ao longo de suas pesquisas em cogumelos, tratou *Agaricus volvaceus* e outro cogumelo com solução diluída alcalina e isolou a quitina, possivelmente com leve contaminação de proteínas.

Em 1832, Odier (Roberts, 1992) escreveu num artigo sobre insetos: “é muito notável descobrir na estrutura do inseto a mesma substância que forma a estrutura das plantas”. Ele chamou essa substância de quitina (do grego, túnica, carapaça). Apesar de não ter encontrado nitrogênio na quitina, conseguiu estabelecer uma forte relação entre a cutícula do inseto e o tecido das plantas. Depois de muitas controvérsias a respeito das estruturas de quitina e celulose, a presença de nitrogênio na quitina só foi detectada por Lassainge em 1843 (Lehmann, G.K., 1854), quando isolou o exoesqueleto quitinoso da larva do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) utilizando hidróxido de potássio a quente.

Em 1859, Rouget (Roberts, 1992; Velásquez, 2003) descobriu a quitosana. Ele notou que a quitina, após fervida numa solução muito concentrada de hidróxido de potássio, solubilizava-se em soluções diluídas de iodo e de ácido. A quitina ficava com manchas marrons e não se dissolvia nessas soluções.

Em 1878, Ledderhose (Roberts, 1992) mostrou claramente que quitina é composta de glicosamina e ácido acético, e escreveu a equação de hidrólise da quitina.

Em 1894, Gilson (Roberts, 1992) confirmou a presença de glicosamina na quitina.

Em 1894, quitina modificada foi estudada novamente por Hoppe-Seyler que a denominou de quitosana (Velásquez, 2003). Dessa data para cá, muito estudo sobre quitina vem sendo feito e incorporando também quitosana, que é quitina modificada em diversos graus de desacetilação. Há autores que consideram como quitosana a quitina com grau de desacetilação acima de 50%.

A Figura 11 mostra as etapas importantes do processo de obtenção da quitosana a partir da desacetilação alcalina da quitina e algumas modificações comuns da quitosana.

Figura 11. Etapas para purificação da quitina e obtenção de quitosana.

1.3.2.3. Quitosana e suas múltiplas aplicações

Quitosana é um polissacarídeo com uma vasta gama de aplicações:

- Agricultura*: como agente antifungo no controle de doenças de plantas (Bautista-Baños et al., 2006); matrizes de fertilizante (Entry and Sojka, 2006);
- Veterinária*: aditivo para alimento de animais (Shahidi et al., 1999); curativos na forma de filamentos, pó, esponja, grãos, ou em compósitos com algodão ou poliéster para ferimentos de animais (Senel and McClure, 2004)
- Cosméticos*: xampus, laquês para tratamento de cabelos relacionado a ações estáticas (Rinaudo, 2006).
- Indústria de papel e têxtil*: acabamentos (Dutta et al., 2002).
- Indústria de alimentos*: filmes para revestimentos de alimentos, dietéticos (Shahidi et al., 1999).
- Tratamento de água*: agente floculante, agente coagulante, remoção de metais pesados (Velásquez, 2003).
- Biomateriais*: curativos para ferimentos (Rinaudo, 2006); implantes; aplicações biomédicas; materiais dentais; materiais substituintes do osso; engenharia de tecidos; membranas para liberação controlada de fármacos (Khor e Lim, 2003).

1.3.2.4. Quitosana como biomaterial

Segundo Chandy e Sharma (1990), diversas tentativas têm sido feitas na utilização deste biopolímero no campo biomédico. O uso deste material no desenvolvimento das membranas de hemodiálise, pele artificial, matriz de fármacos e outras aplicações são discutidos. Parece que esta nova biomolécula biodegradável e biocompatível poderá encontrar aplicações na substituição ou regeneração de interfaces sangue/tecido. Devido às características estruturais deste polissacarídeo muito similares às das glucosaminoglucanas (Figura 12), parece imitar o comportamento destas.

Figura 12. Glucosaminoglucanas ou mucopolissacarídeos consistindo de unidades repetitivas de um dissacarídeo.

Quitosana encontra muitas aplicações como biomaterial quer na forma isolada, quer modificada quimicamente ou em outros sistemas, tais como blends poliméricas, matrizes híbridas, compósitos. Vem sendo estudada principalmente nos campos farmacêutico e biomédico: como matriz para liberação controlada de fármacos (Lim et al., 2000; Thanou et al., 2001; Hejazi and Amji, 2003); curativos para ferimentos, (Paul and Sharma, 2004), hidrogéis para queimaduras (Boucard et al., 2007), matrizes híbridas como suporte para regeneração de tecido ósseo (Zhang and Zhang, 2001), outros.

Os hidrogéis de quitosana e quitosana modificada podem ser obtidos via radiação de alta energia e outras técnicas físicas e químicas. Dentre as técnicas químicas, destacam-se a reação de dialdeídos (glutaraldeído é um dos preferidos) com grupos amina da quitosana, promovendo sua reticulação e formação de função imina. Outros reticulantes são também utilizados: epícloridrina, tripolifosfato de sódio, genipina (produto natural), etc.

1.4. Blendas poliméricas

Blendas poliméricas são misturas físicas de dois ou mais polímeros, sem que haja ligação química entre estes.

Nos últimos quarenta anos, tem crescido no mundo inteiro o interesse pelo desenvolvimento e uso de blends poliméricas para os mais diversos campos de aplicação científico-tecnológicos (Vlassopoulos et al., 2002; Warzelhan, 1998). Além de serem, quase sempre, comercialmente interessantes, blends têm despertado também grande interesse acadêmico no desenvolvimento de novos materiais. O número de publicações e patentes sobre blends vem crescendo vertiginosamente.

Uma das vantagens na produção de blendas é o desenvolvimento, de forma mais simples, de um novo material polimérico, sem necessidade de síntese de um novo polímero, o que requer longo tempo de pesquisa e alto custo. Neste caso, *“a finalidade da mistura é a obtenção de um material de características físicas, químicas e físico-químicas diferenciadas, combinadas de modo a conservar as vantagens de cada polímero”*.

Blendas poliméricas são usadas em muitas aplicações. No segmento de plásticos, por exemplo, são inúmeras as blendas poliméricas tanto de termoplásticos como de termofixos (Utracki, 1995), englobando plásticos de engenharia para a construção civil e indústria automotiva, materiais esportivos, aparelhos eletrônicos e eletrodomésticos, fios têxteis, embalagens, embalagens biodegradáveis, membranas de separação, detectores químicos (Dolerman et al., 1998), produtos de uso diário descartáveis (por exemplo, copos de café e sucos), biomateriais, e outros.

As teorias de Flory (Flory, 1942) e Huggins (Huggins, 1942), sobre estabilidade de fases e parâmetros de solubilidade de polímeros, respectivamente, são grandes contribuições para o estudo de propriedades termodinâmicas das blendas poliméricas. Estas podem ser exploradas com maior profundidade e entendimento com bases nessas teorias e noutras subseqüentes, além de terem disponíveis para seu estudo e caracterização metodologias, técnicas e aparelhagens mais aprimoradas e precisas, sendo algumas altamente sofisticadas e assistidas por programas computacionais de última geração.

1.4.1. Blendas de Polímeros Naturais e Sintéticos

Blendas de polímeros naturais e sintéticos representam uma nova classe de materiais e têm atraído muita atenção, especialmente em aplicações como biomateriais.

O sucesso de polímeros sintéticos como biomaterial reside principalmente no fato de sua faixa ampla de propriedades mecânicas, processos de transformação, que permitem uma variedade de formas diferentes a serem obtidas, e baixo custo de produção (Cascone, 1997). Entretanto tais polímeros, em sua maioria, não são biocompatíveis e biodegradáveis.

Polímeros naturais, por sua vez, possuem geralmente boa biocompatibilidade e biodegradabilidade. Entretanto, suas propriedades mecânicas

são quase sempre limitadas. A necessidade de preservar as propriedades biológicas complica sua processabilidade, e seus custos de produção tornam-se elevados (Ratto et al., 1996, Mucha et al., 1999). Surge, portanto, um grande interesse de explorar misturas/blendas de polímeros naturais com polímeros sintéticos, destinadas às mais diversas aplicações, principalmente para usos como biomateriais.

1.4.1.1. Blendas de polissacarídeos e polímeros hidrofílicos naturais ou sintéticos

Quase todos os polímeros naturais são hidrofílicos, em menor ou maior extensão, desde que contenham na sua estrutura hidroxila ou grupos polares (Yu et al., 2006), porém somente alguns são solúveis em água (amilopectina, por exemplo).

Blendas de polissacarídeos e polímeros hidrofílicos naturais ou sintéticos têm sido utilizadas em engenharia de tecidos (Ciardelli et al.), como membranas para as mais diversas aplicações (pervaporação de solventes; Lee et al., 1992), plásticos biodegradáveis (Schilling et al., 2005), biomateriais baseados em hidrogéis. Dentre os polissacarídeos, nos últimos trinta anos, quitosana e quitosana modificada têm despertado grande interesse em desenvolvimento de novos biomateriais, principalmente nas áreas médica e farmacêutica (Torres et al., 2005) tanto sozinha como em blendas.

1.4.2. Métodos de obtenção de blendas poliméricas

Blendas poliméricas podem ser obtidas por três métodos: (i) por mistura mecânica dos polímeros no estado amolecido ou fundido, (ii) por co-dissolução seguida de evaporação do solvente e (iii) através da formação de reticulados poliméricos interpenetrantes (IPN).

O método mais comumente utilizado para obter blendas é aquecer conjuntamente os componentes poliméricos até atingirem um estado amolecido ou fundido, acoplado a uma operação de mistura do fundido. A mistura mecânica envolve aquecimento e alto cisalhamento. É o método mais utilizado industrialmente,

pois permite obter blendas em grande escala e com vantagens econômicas (Passador & Pessan, 2006).

Outro método de obter blendas de polímeros é dissolvê-los individualmente num solvente comum e misturar depois as soluções poliméricas nas proporções desejadas. Normalmente é exigida uma grande quantidade de solvente, pois há limites de concentração e viscosidade trabalháveis no sistema. A blenda é obtida após a evaporação do solvente, a etapa mais importante. O processo em escala industrial pode tornar-se oneroso, devido à necessidade de evaporar ou recuperar o solvente, além de eventuais impasses com problemas ambientais e legais. Esse método é mais comumente usado em escala laboratorial.

Um terceiro método de obter blendas é através de reticulados poliméricos interpenetrantes ou rede polimérica interpenetrante (IPN). Os polímeros constituintes estão na forma de reticulados que se interpenetram e formam um único reticulado, sem que haja entre si qualquer reação química. Quando apenas um dos polímeros está na forma de reticulados, a blenda é classificada como uma rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN).

1.4.3. Miscibilidade de blendas

1.4.3.1. Blendas Miscíveis e Blendas Imiscíveis

As blendas miscíveis formam sistemas monofásicos. Um exemplo típico é a blenda de poliestireno (PS), polímero rígido e quebradiço e poli(óxido de fenileno) (PPO), polímero bastante flexível. O produto resultante da mistura de ambos em determinadas proporções é de alta resistência ao impacto.

As blendas imiscíveis formam sistemas bi- ou polifásicos, susceptíveis de separação, devido a tensões interfaciais entre as fases. Na sua obtenção, aditivos especiais, denominados agentes compatibilizantes, são adicionados à mistura dos polímeros para minimizar tais efeitos de tensão. O poli(butadieno) (PB), por exemplo, é um polímero muito mole, flexível, porém imiscível com PS. Todavia, ambos formam *blendas imiscíveis* com alta resistência ao impacto, valendo-se de algum agente compatibilizante.

1.4.4.2. Miscibilidade e Compatibilidade

Na classificação de miscibilidade de blendas, é comum o uso dos termos *miscível* e *imiscível* nas muitas publicações a respeito. Todavia, muitos autores usam indiscriminadamente os termos *compatível* e *miscível* como sinônimos em blendas de polímeros, o que pode gerar muita polêmica. Na indústria de polímeros, um par de polímeros compatíveis é aquele que simplesmente tem propriedades desejáveis, depois de os polímeros terem sido misturados, seja como sólidos seja como solução (com subsequente evaporação do solvente). Frequentemente, em tais amostras, estão presentes várias fases amorfas de diferentes composições. Tais polímeros não são miscíveis, mas, podem ser relacionados como compatíveis, desde que haja uma boa adesão entre as fases (Sonja Krause, 1986).

1.4.4.3. Parâmetros termodinâmicos e correlatos em miscibilidade de blendas

Sabe-se que a maioria dos polímeros é termodinamicamente imiscível (Folkes & Hopes, 1993). A miscibilidade de dois polímeros é determinada pela energia livre de Gibbs de mistura, que inclui ambos os termos entálpico e entrópico, de acordo com a Equação 1,

$$\Delta G_{mix} = \Delta H_{mix} - T\Delta S_{mix}$$

Equação 1

sendo ΔG_{mix} a energia livre de mistura, T a temperatura em K, ΔH_{mix} e ΔS_{mix} os termos entálpico e entrópico de mistura, respectivamente.

Uma blenda de dois componentes é considerada, termodinamicamente, miscível, se a energia livre de mistura de Gibbs for <0 ou se a derivada segunda da energia livre de Gibbs de mistura for igual a zero ou > 0 . Se $\Delta G_{mix} > 0$, a blenda é imiscível.

Uma mudança, denominada Δ (delta), nas funções de estado G , H e S é o valor de uma variável para uma solução ou uma mistura menos os valores para os componentes puros considerados separadamente. O objetivo é encontrar fórmulas explícitas para ΔH_{mix} e ΔS_{mix} , os incrementos da entalpia e da entropia associados

com o processo de mistura, respectivamente. O resultado obtido por Flory (1942) e por Huggins (1942) é expresso na Equação 2.

$$\Delta G_{mix} = RT[n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 + n_1 \phi_2 \chi_{12}]$$

Equação 2

O lado direito da equação é uma função do número de moles n_1 e da fração ϕ_1 do volume do solvente (o componente 1), do número de moles n_2 e da fração do volume ϕ_2 do polímero (componente 2), com a introdução de um parâmetro χ_{12} (chi), o qual está relacionado com a energia moléculas do polímero e do solvente interdispersantes; R é a constante dos gases e T , a temperatura em K. A fração de volume é análoga à fração molar, mas é importante para considerar os tamanhos relativos das moléculas. Para um soluto pequeno, as frações molares apareceriam preferivelmente, e esta modificação é a inovação devida a Flory e a Huggins.

O valor do parâmetro de interação pode ser calculado a partir dos parâmetros de solubilidade de Hildebrand, δ_a e δ_b , segundo a Equação 3.

$$\chi_{12} = \frac{(\delta_a - \delta_b)^2}{RT}$$

Equação 3

1.4.4.4. Interação de ligação de hidrogênio em blendas miscíveis

A entropia de misturas de polímeros é geralmente muito baixa, causada principalmente pelas cadeias moleculares muito longas e contribui pouco na miscibilidade de blendas. Conseqüentemente, a entalpia de mistura dos polímeros deverá ter uma contribuição relevante na miscibilidade de uma blenda. A contribuição entálpica negativa em blendas origina-se de interações intermoleculares ou de inter-segmentos entre os polímeros componentes das blendas: ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo, complexos de transferência de carga, interações iônicas entre ionômeros (Coleman *et al.*, 1991).

Dentre as interações supracitadas, a mais favorável para a miscibilidade de polímeros é a ligação de hidrogênio, que tem sido relatada para muitas blendas poliméricas (Feldstein *et al.*, 2003). Através da espectroscopia vibracional no infravermelho de blendas, é possível detectar interações de ligação de hidrogênio que causam deslocamentos de bandas de absorção para frequências menores ou maiores. Por exemplo, a banda de 1742 cm^{-1} é característica de grupos livres de C=O; a de 1632 cm^{-1} pode ser atribuída às vibrações de estiramento dos grupos de amida I, em que está também presente a carbonila, disponível para participar de uma ligação de hidrogênio. Assim, ocorre o deslocamento para uma frequência menor. No caso de deslocamento para frequências maiores, pode-se exemplificar grupos NH passando de 3300 cm^{-1} para 3330 cm^{-1} (Tsebrenko and Pakharenko, 1999). A ligação de hidrogênio é, portanto, um parâmetro importante para caracterizar a miscibilidade de blendas.

1.4.4.5. Temperatura de transição vítrea (T_g)

Outro parâmetro importante para caracterizar a miscibilidade de blendas poliméricas é a temperatura de transição vítrea. A temperatura de transição vítrea (T_g) é a temperatura em que a fase amorfa de um material polimérico muda de seu estado vítreo a uma temperatura mais baixa para um estado borrachoso a uma temperatura mais alta. A T_g de um polímero é uma propriedade muito importante para determinar sua aplicação.

Uma das evidências experimentais de avaliar a miscibilidade de uma blenda é medir a sua T_g , temperatura de transição vítrea. A medida é feita por vários métodos (dilatometria, elipsometria, DSC, DMA, outros), dentre os quais o de calorimetria exploratória diferencial (DSC) é amplamente utilizado.

Uma blenda miscível tem uma T_g única, cujo valor é normalmente intermediário aos valores das T_g 's dos polímeros componentes puros. Mas podem existir também blendas miscíveis cujas T_g 's são menores ou maiores que as T_g 's dos polímeros componentes puros. Os desvios são causados por interações específicas muito fortes, em nível molecular (Painter *et al.*, 1991).

Na caracterização de miscibilidade de uma blenda por medição de sua T_g além das interações específicas já mencionadas, deve-se também levar em conta o processo de preparação, que pode influenciar os resultados de T_g .

Num experimento com blendas de poli(DL-ácido láctico) (PDLLA) e polivinilfenol (PVPh), as blendas obtidas por evaporação do solvente são imiscíveis; as obtidas por co-precipitação apresentaram separação de fases na primeira varredura de DSC. Mas, depois de aquecidas a uma temperatura bem acima das temperaturas de transição vítrea dos polímeros, obtiveram-se blendas miscíveis na segunda varredura de DSC (Meaurio *et al.*, 2005). Em DSC de um polímero ou blenda polimérica, normalmente a primeira varredura é para eliminação de sua história térmica, proveniente de processos de preparação, condições de estocagem, outras. A segunda varredura é considerada mais segura para avaliar a sua T_g ou T_g s efetiva(s). Mas existem casos em que a primeira varredura já é considerada suficiente para estimar a T_g do sistema polimérico em teste (Nohara *et al.*, 2006).

1.4.4.6. Considerações sobre blendas imiscíveis

A baixa entropia de misturas de polímeros, causada pelas cadeias moleculares muito longas, leva à separação de fases nas blendas. A maioria de blendas comerciais de polímeros possui uma morfologia multifásica, e, na maioria de casos, as propriedades físicas e mecânicas satisfatórias desses materiais são relacionadas à presença de uma fase de compatibilizante dispersa nas blendas (Shariatpanahi *et al.*, 2003). Por outro lado, um conjunto de propriedades finais desejáveis para uso pode ser conseguido por vários métodos. Um dos melhores métodos está em misturar e ligar de dois ou mais polímeros. As misturas e as ligas podem apresentar o sinergismo em uma variedade das propriedades em comparação às dos componentes individuais. No passado, presumiu-se que a miscibilidade entre os constituintes da blenda levaria somente à melhoria nas propriedades técnicas. Este conceito foi superado pela miscibilidade técnica, ou seja, a formação da compatibilidade e da liga, que leva a uma melhoria nas propriedades técnicas do sistema, entretanto não pode fazê-lo na miscibilidade termodinâmica (incompatível) (Jana & Nando, 2002).

A incompatibilidade em misturas de polímeros pode surgir devido a várias razões:

1. A incompatibilidade termodinâmica surge devido às diferenças estruturais dos dois polímeros, o que os impede de se misturarem ao nível molecular (Paul, 1978).
2. A incompatibilidade é devida à má combinação de viscosidades. Estas originam-se de diferenças de distribuição de pesos moleculares e ramificações, o que impede ou retarda a formação de uma intimidade dos componentes na mistura (Yehia *et al.*, 1993; Roland, 1988).
3. A incompatibilidade de taxa da cura origina-se da diferença de grau de insaturação, de estrutura química e de polaridade (Roland, 1988; Amiya *et al.*, 1993).

Para superar estas limitações, usa-se um compatibilizante, que é um copolímero em bloco ou enxerto ou simplesmente um polímero que tenha dois sítios, e cada sítio tenha similaridade com ambos os polímeros (Roland, 1988; Amiya *et al.*, 1993).

A miscibilidade/compatibilidade de blendas pode ser caracterizada com o auxílio de vários métodos, sendo os mais utilizados a microscopia eletrônica de varredura e a calorimetria exploratória diferencial.

No caso de blendas de polímeros imiscíveis, quase sempre se usa no sistema algum compatibilizante ou se faz alguma modificação na cadeia de um dos polímeros (por exemplo, enxertia naquela mediante grupos polares ou apolares) para melhorar a interação dos mesmos em nível molecular.

Hidrogéis derivados de polímeros reticulados e blendas do tipo redes semi-interpenetrantes (SIPNs) vêm despertando interesse cada vez maior, sob o ponto de vista científico e comercial, especialmente no desenvolvimento de biomateriais (Malmonge *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2003).

1.5. Definições de IPN e SIPN

Uma rede polimérica interpenetrante (IPN) é uma combinação de dois polímeros, ambos em forma de rede, sendo, no mínimo, um deles sintetizado ou reticulado em presença imediata do outro (D. Chakrabarty, 1998) (Figura 13).

Figura 13. Redes poliméricas interpenetrantes com a linha preta da malha representando a rede I e com a linha cinza da malha representando a rede II.

Uma rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN) é uma combinação de dois polímeros, sendo um deles em forma de rede sintetizado ou reticulado em presença imediata do outro (Figura 14) (Berger *et al.*, 2004).

Figura 14. Modelo de uma rede polimérica semi-interpenetrante (SIPN) de estrutura porosa.

2. OBJETIVOS E ASPECTOS RELEVANTES DO TRABALHO

Nas duas últimas décadas, hidrogéis de quitosana, na sua forma pura ou de mistura com outros polímeros naturais ou sintéticos, vêm despertando interesse crescente para as mais diversas aplicações, principalmente como biomateriais. Para uso neste campo, quitosana possui algumas propriedades relevantes e vantajosas, tais como biocompatibilidade e biodegradabilidade. Por ser um polímero obtido industrialmente através da desacetilação alcalina da quitina (esta, depois da celulose, é o segundo polímero natural mais abundante no planeta) vem, portanto, de uma fonte de matéria-prima de fonte renovável, de baixo preço, potencialmente promissora em uso medicinal.

Assim como outros materiais poliméricos, os polímeros naturais nem sempre apresentam propriedades químicas e físicas compatíveis com uma determinada aplicação. Daí o interesse na inclusão de outros polímeros, dependendo da aplicação a que se destinam. Estas misturas passam a ter, de modo geral, características mecânicas mais interessantes do que as dos polímeros componentes isolados.

Este trabalho tem como objetivo central o uso de quitosana como componente de hidrogéis destinados à produção de dispositivos de uso em medicina. Em especial, visamos à produção de novos materiais para uso em curativos de uso tópico. Para tanto, as propriedades hidrofílicas da quitosana devem ser melhoradas. Além disso, suas limitações físicas (mecânicas e de dissolução) foram avaliadas e otimizadas.

Com base em recentes resultados que descrevem tecnologias alternativas de reticulação da poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (PVP) (Lopérgolo et al., 2002; Lilian et al, 2003; Fechine et al., 2006; Barros et al., 2006), optamos pelo uso deste polímero como co-participante de um hidrogel à base de quitosana. Deu-se preferência à PVP por ser um material biocompatível, não-tóxico, facilmente solúvel em água e que pode ser reticulado por uma gama de processos, entre eles via irradiação com luz UV. Na concepção do projeto previu-se: (i) aumento da hidrofilicidade da quitosana com a inserção de um polímero hidrofílico; (ii) estabilização da estrutura tridimensional, através de reticulação da PVP, com produção de uma IPN ou SIPN; (iii) descarte do uso de agentes usuais de reticulação de quitosana, tipicamente citotóxicos, tais como glutaraldeído e

epicloridrina; (iv) e utilização de tecnologias simples, de forma a manter o baixo custo do produto.

Para atingir tais objetivos, definiram-se duas estratégias básicas: (i) produção de blendas PVP-quitosana “secas”, seguida de sua reticulação e (ii) reticulação de co-soluções aquosas de PVP e quitosana. O intumescimento adequado de ambos os produtos deverá gerar hidrogéis comparáveis. Note que no caso (ii) o hidrogel já é produzido em um estado pré-intumescido. A comparação adequada de ambos os produtos em termos de suas propriedades deverá indicar qual estratégia é a mais satisfatória.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

A Tabela 4 contém os principais reagentes utilizados e sua procedência.

Tabela 4. Relação dos principais reagentes utilizados neste trabalho.

Nome	Fórmula	Procedência
Poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) - PVP (Luviskol® K90-D)	$(C_6H_9NO)_n$	BASF
Quitosana de massa molar alta, viscosidade Brookfield de 800.000 mPas	$*(C_6H_{11}NO_4)_n$	Aldrich
Quitosana de massa molar média, viscosidade Brookfield de 200.000 mPas.	$*(C_6H_{11}NO_4)_n$	Aldrich
Ácido acético glacial	CH_3COOH	Quimex
Acetato de sódio anidro	CH_3COONa	Sigma
Éter etílico	$H_5C_2OC_2H_5$	Sigma
Etanol absoluto	C_2H_5OH	Mallinckrodt
Metanol	CH_3OH	Synth
Hidróxido de sódio	$NaOH$	Mallinckrodt
Cloreto de sódio	$NaCl$	Synth
Água deuterada	D_2O	Aldrich
Cloreto de deutério a 30% (m/m) em D_2O com 99% de D	DCl	Aldrich
Soluções tampão de pH 4; 7,4 e 10	-	Synth

*Fórmula para quitosana 100% desacetilada

3.2. Equipamentos e Técnicas

Na Central Analítica do Instituto de Química da USP (IQ-USP), foram obtidos: (i) os espectros de RMN- 1H no espectrômetro Bruker DRX 500; (ii) espectroscopia no IV, no espectrômetro FT-IR Bomem MB 100 (faixa de operação de 350 – 4000 cm^{-1} , resolução de 2 cm^{-1}); (iii) difração de raio-X (DRX), no difratômetro Rigaku D/ MAX - 2 A/C; (iv) análise elementar, no analisador Perkin

Elmer CHN; (v) micrografias eletrônica de varredura no microscópio JEOL-FEG 7401F.

As medições de viscosidade intrínseca das quitosanas foram realizadas no viscosímetro Ubbelohde 531-10, capilar N^o.1c -Schott-Geräte GmbH, no laboratório do Prof. Dr. Omar El Seoud.

As micrografias de criofraturas das blendas foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura Philips XL 30, no Laboratório de MEV da Escola Politécnica de São Paulo.

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) das blendas, em quase sua totalidade, foram feitas no aparelho Shimazu DSC-50, no laboratório do Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos e algumas no DSC-30 TA 4000, no laboratório do Prof. Dr. Yoshio Kawano

A análise termogravimétrica (TG) das blendas foi determinada no TGA Shimazu 51H, no laboratório do Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos.

Medições de pH das soluções de quitosana e o acompanhamento de processos de purificação ou desacetilação dos polissacarídeos foram feitas no pH meter 430 (Corning).

As irradiações UV sobre os filmes das blendas e soluções poliméricas foram processadas numa câmara de UV Luzchem (Photoreactor ICH-2, Canadá).

Liofilizações de materiais foram realizadas no liofilizador Thermo Savant, modelo MICROMODULYO 115.

As medições de transmissão de vapor de água das blendas foram feitas em um sistema de aparelhagem constando de um dessecador monitorado por um medidor digital de temperatura e umidade.

3.3. Metodologias

3.3.1. Preparação das soluções de quitosana e PVP

A solução de quitosana foi feita segundo o procedimento: preparou-se primeiramente 1L de solução aquosa de ácido acético a 2% (v/v) em água deionizada (MilliQ), para ser utilizada como solvente da quitosana. Em um béquer de 250 mL, foram colocados 196 mL da solução acética, que foi posta em agitação com o auxílio de um agitador magnético. A seguir, foram adicionados vagarosamente 4,0

g de quitosana (previamente seca a 70°C por 48 h, para remoção de umidade, que varia de 6 a 11%) à solução acética sob agitação, para evitar formação excessiva de grumos – estes retardam em muito a solubilização da quitosana. Em seguida, cobriu-se o béquer com filme de PVC. Manteve-se o sistema quitosana-solução acética sob agitação por 24 h, à temperatura ambiente, para garantir a mais completa dissolução possível do polímero. Devido à alta viscosidade, a solução polimérica resultante foi filtrada num funil de Büchner com auxílio uma tela fina de náilon (poros de 0,8 µm) e duas camadas de uma malha de náilon sobrepostas a ele. A determinação do teor de sólidos (TS) foi feita a partir de amostras (em triplicata) de 0,5 a 1 g da solução polimérica vertida em forminhas de alumínio ou em placas de Petri. As amostras foram pesadas em balança analítica de precisão de 0,1 mg e postas para secar em estufa a 70°C, durante 48 h, tempo suficiente para atingirem um peso constante. Depois de removidas da estufa, foram acondicionadas em dessecador para esfriar até a temperatura ambiente e procedimento das novas pesagens. O cálculo do TS se fez através da Equação 4,

$$TS(\%) = \frac{m_s}{m_u} \times 100$$

Equação 4

sendo TS o teor de sólidos, m_s a massa da amostra seca e m_u , a massa da amostra úmida. O resultado do TS considerado foi a média das três pesagens dos resíduos secos¹.

A preparação da solução de PVP se fez similarmente ao descrito para a da solução de quitosana, todavia com técnica mais simples no que diz respeito à filtração.

Num béquer de 250 mL foram colocados 196 mL de solução acética a 2% (v/v). Foi adicionado vagarosamente 4,0 g de PVP (Luviskol® K90-D) à solução sob agitação, com o auxílio de um agitador magnético e cobriu-se o béquer com filme de PVC. A seguir, o sistema foi mantido sob agitação durante 3 h, à temperatura ambiente, após que se obteve uma solução polimérica transparente, límpida e pouco viscosa. A determinação do teor de sólidos foi como a descrita acima para a

¹ TS determinado para se poder trabalhar com a concentração da solução de quitosana mais exata possível.

quitosana para se trabalhar com a concentração da solução de PVP mais mais exta possível.

3.3.2. Preparação de filmes de blendas de quitosana - PVP

As soluções acéticas de quitosana a 2% (m/v) e PVP a 2% (m/v), preparadas separadamente, e, a seguir, misturadas em proporções de 5/95, 30/70, 50/50, 70/30 e 95/5 (m/m) de quitosana e PVP, respectivamente e homogeneizadas mecanicamente por aproximadamente 5 min com o auxílio de um agitador magnético ou bastão de vidro. Depois de cerca de três horas de repouso, para eliminação de bolhas de ar incorporado nas soluções ao longo do processo da mistura, foram vertidas em superfícies planas de moldes de PE – 2,0 g de solução/molde – e em placas de Petri de PS–10 e 15 g de solução/placa para a evaporação do solvente (*casting process*). A seguir, foram postas para secar ao ar livre, às condições ambientes (20-25°C; umidade relativa de 65-73%) por um período de 72 h. Depois foram destacados dos moldes e placas, identificados como QH e QM, seguidos de um número correspondente à parcela em massa de quitosana em cada blenda: QH5, QH30, QH50, QH70, QH95 e QM5, QM30, QM50, QM70, QM95. Todos os filmes apresentaram boa transparência. Para eliminação de ácido acético residual, foram imersos rapidamente em éter dietílico e postos para liofilizar durante 4 h.

3.3.3. Irradiação dos filmes com luz UV _{254 nm}

Os filmes poliméricos, preparados de acordo com o procedimento descrito no item 3.3.2, foram fixados sobre placa-suporte giratória e irradiados em câmara de UV Luzchem - Photoreactor ICH-2 durante 1,5 h a 30°C, sob atmosfera de N₂ a uma distância de 16 cm das lâmpadas. Foram utilizadas 6 lâmpadas de xenônio com emissão UV em 254 nm (~ 0,3 mW/cm² por lâmpada).

3.3.4. Fração gel e índice de intumescimento de filmes irradiados

A partir da determinação da massa inicial, m , o filme é imerso num recipiente com água deionizada, onde permanece sem agitação por 48 h, à

temperatura ambiente. Depois é retirado e a água em excesso nas superfícies é removida cuidadosa e rapidamente com o auxílio de um papel absorvente ou de filtro. Pesa-se, a seguir, o filme intumescido, cuja massa é m_i . Subseqüentemente, o filme é posto para secar em estufa ventilada a 70 °C, durante 48 h, até peso constante; tem-se, assim, a massa m_s , correspondente à da fração gel. No cálculo da fração gel e do índice de intumescimento, utilizaram-se as equações 5 e 6, respectivamente.

3.3.5. Preparação dos hidrogéis a partir de soluções irradiadas por luz UV 254 nm

Para cada amostra de solução de PVP ou co-solução de quitosana-PVP foi utilizado um tubo de quartzo de 8 mm de diâmetro. Uma de suas extremidades foi vedada por fita de Teflon. Depois, colocaram-se no tubo ca. 8 g da solução por amostra, e vedou-se a outra extremidade com Teflon. O tubo de amostra foi exposto em posição vertical no carrossel da câmara de UV Luzchem - Photoreactor ICH-2 durante 4 h a 30°C a uma distância de 10 cm das lâmpadas por 6 lâmpadas de emissão UV em 254 nm.(3 em cada lateral da câmara) As amostras para os testes foram feitas em triplicatas: PVP neutra, PVPác, co-soluções de quitosana QH-PVP e quitosana QM-PVP.

3.3.6. Fração gel e índice intumescimento

Foram utilizados pedaços de malhas de náilon como suportes dos hidrogéis nos testes. Os tamanhos dos tecidos variaram de acordo com as quantidades de hidrogéis neles acondicionados. As pesagens dos suportes e hidrogéis foram realizadas numa balança analítica Mettler, de precisão de 0,1 mg. Pesou-se o tecido conjuntamente com um pedaço de fio de algodão ou náilon e um identificador da amostra. A seguir, colocou-se uma determinada quantidade do hidrogel sobre o tecido, que foi amarrado com o fio e o identificador, assumindo o conjunto a forma de uma pequena bolsa.

Amostras em triplicatas dos hidrogéis acondicionados nas pequenas bolsas mencionadas acima foram colocadas num extrator Soxhlet para extração com água deionizada durante 24 h.

Nessas condições, presume-se que todo o material solúvel (fração sol) tenha sido extraído pela água. O material residual insolúvel (parte reticulada) na água ou em qualquer outro solvente é a fração gel. Para se determinar a fração gel, as amostras das membranas (hidrogéis), após a extração da fração de sol (FS) foram pesadas. A seguir, foram postas para secar em estufa ventilada a 70°C durante 48 h. Depois de secas até peso constante, foram estimadas suas massas. No cálculo da fração gel, utilizou-se a Equação 5,

$$(\%)FG = \frac{m_s}{m} \times 100$$

Equação 5

sendo FG a fração gel, m_s a massa do hidrogel seco e m a massa de polímero inicial no hidrogel antes da extração.

Para determinação do intumescimento máximo, as amostras dos hidrogéis foram imersas em água deionizada, onde permaneceram por 48 h à temperatura ambiente e sem agitação, condições consideradas ideais para atingirem o equilíbrio total do intumescimento. A água superficial das amostras intumescidas foi removida cuidadosamente com papel de filtro. Em seguida, foram pesadas e postas para secar em estufa ventilada a 70°C, durante 48 h ou mergulhadas em N₂ líquido por alguns minutos e liofilizadas, a seguir, durante 12 h. O índice de intumescimento foi calculado utilizando a Equação 6,

$$\acute{I}i = \frac{m_i - m_s}{m_s}$$

Equação 6

sendo $\bar{I}$ o índice de intumescimento, m_i a massa do gel intumescido, m_s a massa do gel seco¹.

3.3.7. Determinação da massa molar

3.3.7.1. Osmometria

A determinação da massa molar de polímeros é de considerável importância, porque o tamanho da cadeia é um fator controlador na evolução da solubilidade, elasticidade, formação de fibra e as propriedades de resistência mecânica. Métodos usados para determinar a massa molar são ou relativos ou absolutos. Métodos relativos necessitam de calibração com amostras de massa molar conhecida, enquanto que métodos absolutos não necessitam de tal calibração.

A osmometria de membrana é uma técnica absoluta para determinar a massa molar média numérica ($\overline{M}_n$) e baseia-se na mudança da pressão osmótica (π) entre o solvente e câmara de solução do polímero (Lehmann and Köhler, 1996). Este método é aplicável a polímeros com uma faixa de pesos moleculares ampla, com o limite inferior sendo governado pela permeabilidade da membrana e o superior determinado pela menor pressão osmótica que pode ser medida.

Neste método, faz-se normalmente uma solução estoque do polímero, da qual se tiram alíquotas para diluições com o solvente utilizado. A massa molar é obtida a partir da pressão osmótica reduzida (π/c_2) de, pelo menos, quatro soluções de concentrações diferentes (c_2). Para cada concentração determina-se o valor de π/c_2 . Os valores de π/c_2 são graficados *versus* c_2 , gerando uma curva (no caso, uma reta), que é extrapolada à concentração zero (à diluição infinita). O coeficiente da reta fornece o valor de A_2 e o seu intercepto no eixo das coordenadas, o de $\overline{M}_n$ (Figura 15).

¹ Para amostras de hidrogéis após a extração em sistema Soxhlet e levadas a intumescerem em água deionizada, m_s é a massa correspondente à da fração de gel.

Figura 15. Determinação da massa molar média numérica por extrapolação da curva de pressão reduzida da solução do polímero à concentração zero.

A pressão osmótica é dada pela Equação 7,

$$\frac{\pi}{c_2} = RT \left(\frac{1}{M_n} + A_2 c_2 \right)$$

Equação 7

sendo R a constante dos gases, T a temperatura em K e A_2 o segundo coeficiente virial.

Na preparação das soluções de quitosana, utilizou-se como solvente solução de HAc 0,02 M / NaCl 0,1 M, pH 4,5. As pressões osmóticas reduzidas das quatro soluções de diferentes concentrações foram medidas em um osmômetro OSMOMAT, modelo 090, da GONOTEC, com membranas de acetato de celulose de corte em 5kDa e 10kDa.

3.3.7.2. Viscosimetria

As medidas viscosimétricas das quitosanas QH e QM foram feitas num viscosímetro capilar Ubbelohde Schott 531-10, a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Primeiramente, preparou-se uma solução estoque de cada quitosana contendo ca. 1% (m/v) de polímero dissolvido em solução tampão 0,3 M de ácido acético-0,2 M de acetato de sódio anidro. As soluções poliméricas resultantes foram filtradas através de membranas de acetato de celulose com tamanho de poro de 0,45 μm . Para as

medições, alíquotas de cada solução estoque foram diluídas com a solução tampão a quatro diferentes concentrações.

A viscosidade intrínseca $[\eta]$ foi determinada pela extrapolação dos dados de viscosidade à diluição infinita, de acordo com a Equação de Huggins (Equação 8):

$$\eta = \eta_s (1 + [\eta]c + k_H [\eta]^2 c^2 + \dots)$$

Equação 8

sendo η a viscosidade da solução, η_s a viscosidade do solvente, c a concentração (g/100 mL), K_H o coeficiente de Huggins. Assim, o termo que é linear com a concentração inclui o da viscosidade intrínseca $[\eta]$; o termo quadrático inclui o coeficiente de Huggins, k_H .

A massa molar viscosimétrica média, $\overline{M}_v$, foi determinada através da Equação de Mark-Houwink-Sakurada, $[\eta] = K \overline{M}_v^a$, sendo as constantes referentes ao solvente utilizado $K = 0,076$ e $a = 0,76$.

3.3.8. Determinação do grau de acetilação/desacetilação

3.3.8.1. Análise elementar

Aproximadamente 20 mg de cada amostra de quitosana previamente liofilizada foram utilizados em cada teste. O teor porcentual de C, H e N de cada amostra foi obtido no analisador Perkin Elmer CHN na Central Analítica do IQ-USP.

3.3.8.2. Espectroscopia vibracional no infravermelho (IV)

Foram feitas amostras de filmes de quitosana de ca. 20 μm pelo processo já descrito em 3.3.2. Também foram prensadas pastilhas do polímero disperso em KBr (ca. 2 mg de quitosana/100 mg de KBr). Os espectros de transmitância (%) *versus* número de onda (cm^{-1}) foram obtidos através do espectrômetro FT-IR Bomem MB 100, na faixa de operação de 350 – 4000 cm^{-1} , resolução de 2 cm^{-1} , 32

varreduras. As duas bandas de absorção consideradas para os cálculos de DA / DD foram da amida I (1655 cm^{-1}) e da hidroxila (3450 cm^{-1}).

3.3.8.3. Ressonância magnética nuclear de H (RMN- ^1H)

Os espectros de RMN- ^1H foram obtidos num espectrômetro Bruker DRX 500, de acordo com o procedimento de Lavertu (Lavertu *et al.*, 2003), com pequenas modificações baseadas no procedimento de Signini e Campana Filho (Signini e Campana Filho, 1998).

As soluções de quitosana foram preparadas agitando magneticamente, à temperatura ambiente, aproximadamente 10 mg de quitosana suspensos em uma solução composta de 1,96 mL de D_2O e de 0,04 mL de DCl e esperando por ca. 24 horas para assegurar a dissolução completa do polímero. Nestas soluções, DCl está em excesso, comparado com os grupos amina de quitosana, de modo que o polímero seja dissolvido facilmente. Alíquotas das soluções poliméricas foram colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro para análise a 70°C , tendo como referência externa ácido 3-(metilsilil)-1-propanossulfônico- d_4 (TSPA, Aldrich).

3.3.9. Difração de raios X (XRD)

Os espectros de difração de raios X foram obtidos num difratômetro Rigaku, modelo MiniFlex com radiação $\text{CuK}\alpha$ monocromatizada, raios X de $\lambda = 1,5416\text{ \AA}$; voltagem = 40 kV; corrente = 40 mA; intervalos: $3^\circ < 2\theta < 50^\circ$; varredura = $0,02^\circ$; velocidade de varredura = $1^\circ / \text{min}$ – dados empregados por Signini e Campana-Filho em caracterização de quitosana neutra, acetato e cloridrato de quitosônio por difração de raios X (Signini e Campana Filho, 2001). Utilizaram-se amostras de filmes de quitosana QH, PVP e blenda QH50 liofilizados.

3.3.10. Transmissão de vapor de água (WVT)

A transmissão do vapor de água é uma medida de quanto de vapor de água passará através de um material por área unitária e por tempo unitário. O teste é realizado selando um espécime à boca aberta de um recipiente do teste que contém o dessecativo ou a água e colocando o conjunto em uma atmosfera controlada. A unidade de teste é pesada periodicamente, e a massa é traçada em função do tempo. A taxa de transmissão do vapor de água é feita a partir da inclinação da curva (na região linear) dividida pela área da abertura do recipiente (ASTM-E96)

A transmissão de vapor de água foi feita segundo a técnica utilizada no trabalho de Parra *et al.* (2004), o qual, por sua vez, se baseou no método ASTM E96-80 (ASTM, 1989) modificado por Gontard *et al.* (1993). Um recipiente contendo sílica gel foi selado com uma amostra de filme do material polimérico (PVP, quitosana e blendas de quitosana-PVP) firmemente fixado no seu topo (boca). A seguir, foi colocado num dessecador contendo água destilada a uma temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa $73 \pm 2\%$, monitoradas internamente por um dispositivo munido de termômetro-higrômetro digital. O filme e o conjunto filme-recipiente foram pesados diariamente numa balança analítica Mettler durante cinco dias. A WVT foi calculada de acordo com a Equação 9:

$$WVT = \frac{w \times x}{A}$$

Equação 9

na qual WVT é a transmissão de vapor de água (g de H₂O mmcm⁻²), sendo w a massa de água em g; x a espessura média do filme ($0,028 \pm 0,006$ mm) e A a área de permeação (12,57 cm²).

A taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) foi calculada de acordo com a Equação 10:

$$WVTR = \frac{w \times x}{t \times A}$$

Equação 10

sendo WVTR a taxa de transmissão de vapor de água ($\text{g de H}_2\text{O mmh}^{-1}\text{cm}^{-2}$), t o tempo em hora e os demais termos (w, x, A) os mesmos da Equação 9. Os testes foram realizados em triplicata de cada amostra. Foram testadas amostras de filmes não-irradiados e irradiados por luz UV. As medições de espessura dos filmes foram feitas com um micrômetro manual Mitutoyo, com precisão de 0,01mm, sobre 5 pontos aleatórios da superfície do filme e considerando a espessura média dos valores para cada filme¹.

3.3.11. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG)

As técnicas de DSC e TG são métodos térmicos empregados como ferramentas termoanalíticas poderosas para monitorar mudanças físicas e químicas de polímeros naturais e sintéticos. Através destes métodos, obtêm-se curvas únicas para uma composição particular da matéria e de algumas mudanças na composição e na estrutura químicas; a arquitetura molecular pode acarretar em variações discretas e reproduzíveis nas curvas de DSC e TG. Além do mais, algumas destas mudanças envolvem a perda de material na volatilização, que pode quantitativamente ser medida por TG (Neto *et al.*, 2005).

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) é a técnica de análise térmica pela qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material tecnicamente inerte, em função da temperatura, enquanto a substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura. Inúmeras propriedades térmicas e termodinâmicas de polímeros podem ser exploradas

¹ Na preparação das amostras, fizeram-se algumas adaptações para a montagem do sistema de teste no laboratório. Como recipientes, foram utilizados potes plásticos de 200 mL, com gargalos e tampas rosqueados para fechamento. Nas tampas, foram feitas cavidades circulares bem centralizadas e de diâmetro de 4,0 cm. A vedação da cavidade se fez com o filme intercalado entre duas arruelas plásticas e fixado na parte interna da tampa. Foram colocados, em cada pote, 30 g de sílica gel previamente dessecada em estufa a 105°C, por 48 h. A seguir, os potes foram fechados com as tampas de cavidades vedadas pelos filmes e postos no dessecador com água destilada no fundo e fechado hermeticamente. A área de permeação do filme considerada foi a área da cavidade (12,57 cm²).

através desta técnica: temperatura de transição vítrea, entalpia de fusão, temperaturas de fusão, outras.

Termogravimetria (TG) é uma técnica analítica usada par determinar a estabilidade térmica de um material e a sua fração de componentes voláteis, monitorando a mudança de peso que ocorre enquanto um espécime é aquecido. A medida é realizada normalmente ao ar ou em uma atmosfera de gás inerte, tal como He ou Ar, e o peso é registrado em função da temperatura crescente. Às vezes, a medida é feita em uma atmosfera de N₂ para retardar a oxidação.

Os testes de DSC das blendas de quitosana-PVP foram realizados num aparelho de marca Shimazu DSC-50, acoplado a um termoanalisador munido de um programa computacional para registrar as curvas. Como referência, usou-se um cadinho de alumínio parcialmente fechado. O primeiro aquecimento foi processado de 25°C a 200°C; o segundo, de 25°C a 250°C. Ambos foram processados a uma taxa constante de aquecimento de 10°C /min e sob atmosfera dinâmica de N₂ (vazão de 100 mL/min). A quantidade de amostra foi 3 a 7 mg.

A análise termogravimétrica foi realizada num aparelho TGA Shimazu 51H. Nas análises, foram utilizados de 3 a 6 mg de amostra colocada em cadinho de platina. Os experimentos foram efetuados entre 25°C e 600°C, sob atmosfera dinâmica de N₂ (vazão de 100 mL/min), a uma taxa constante de aquecimento de 10°C /min.

3.3.12. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O princípio da microscopia eletrônica de varredura se baseia resumidamente nisto: um feixe de elétrons finamente focalizado varre a superfície da amostra, gera elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios X característicos. Estes sinais são coletados por detectores que geram imagens da amostra indicada em uma tela do tubo de raio catódico. As características vistas na imagem de MEV podem então ser analisadas imediatamente para determinar composições elementares – quando ao microscópio pode ser acoplado o sistema de EDS (*Energy Dispersive System*), o qual possibilita a determinação da composição qualitativa e semiquantitativa das amostras, a partir da emissão de raios X característicos (Duarte et al., 2003) – ou determinar morfologias dos mais diversos tipos de material (metálicos, poliméricos, cerâmicos, outros).

3.3.12.1. Preparação das amostras

O filme de cada amostra foi imerso em N₂ líquido por aprox. 2 min. A seguir, foi retirado e fraturado com o auxílio de duas pinças, cada uma segurando uma das extremidades do filme. O material criofraturado foi imediatamente colocado em placas de Petri e acondicionado num dessecador. As superfícies de criofraturas foram fixadas em suportes de cobre e recobertas com ouro, em uma câmara de metalizador a vácuo (*sputtering system*), antes dos testes de MEV. Estes foram realizados num microscópio eletrônico de varredura Philips XL-30, utilizando voltagens de 5kV a 15kV e ampliação de imagens de 1000X a 20000X.

Para a realização dos testes de MEV dos hidrogéis, estes foram tratados criogenicamente em N₂ líquido por aprox. 5 min e imediatamente levados para um liofilizador, onde permaneceram de 6 a 8 horas para a remoção da água e manutenção da morfologia porosa do hidrogel. A seguir, foram fraturados e fixados sobre fita condutora para o recobrimento com ouro, em câmara metalizadora a vácuo, antes dos testes de MEV. Estes foram realizados num microscópio eletrônico de varredura JEOL-FEG 7401F.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção de resultados e discussão foi dividida em três partes distintas, para um melhor acompanhamento dos resultados dos experimentos realizados. (i) A primeira (4.1- 4.1.2) engloba os resultados dos testes de caracterização das quitosanas e da PVP, que são os polímeros componentes das blendas e hidrogéis. O conhecimento de suas propriedades químicas e físicas foram imprescindíveis para a realização dos experimentos. (ii) A segunda parte (4.2 - 4.7) trata dos resultados dos testes de caracterização dos filmes das blendas não-irradiados e irradiados bem como de hidrogéis obtidos a partir das blendas irradiadas. (iii) A terceira parte (4.8) abrange os resultados dos testes de caracterização dos hidrogéis obtidos das soluções poliméricas irradiadas.

4.1. Caracterização dos polímeros componentes das blendas

4.1.1. Quitosanas

4.1.1.1. Grau de acetilação médio de quitosana

O grau de *N*-acetilação (DA) juntamente com a massa molecular são os parâmetros mais importantes para a caracterização da quitosana. O DA influencia não só as características físico-químicas tais como densidade de carga, cristalinidade e solubilidade, como também a propensão à degradação enzimática (Barbosa et al., 2005).

Existem várias técnicas propostas para determinação do grau de acetilação médio (DA) de quitosana (Khan et al. 2002): análise elementar, espectroscopia no infravermelho (IV) (Domszy and Roberts, 1985; Moore and Roberts, 1980), espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (Le Dung et al., 1994; Rinaudo et al., 1992), titulação condutimétrica (Broussignac, 1968; Raymond et al., 1993), hidrólise ácida e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Niola et al., 1993), espectrofotometria no UV (Tan et al., 1998) dentre muitas outras. Dentre as técnicas aqui citadas para determinação do DA de quitosanas, foram utilizadas análise elementar, espectroscopia no infravermelho e espectroscopia de RMN-¹H, com o objetivo de confrontar os resultados, que são mostrados e discutidos a seguir.

4.1.1.1.1. Grau de acetilação de quitosana por análise elementar

Os testes de análise elementar foram feitos em duplicata. Foram determinadas as percentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio, que se encontram na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados de análise elementar (C, H, N), DA e DD médios de quitosanas QH e QM sem purificação.

Amostra	%C	%H	%N	DA médio (%)	DD médio (%)
QH	43,61 ± 0,04	7,16 ± 0,08	7,99 ± 0,04	39 ± 2	61 ± 2
QM	41,80 ± 0,04	6,6 ± 0,1	7,7 ± 0,1	54 ± 2	46 ± 2

Através da percentagem de nitrogênio, foram determinados os graus de acetilação das quitosanas originais (sem purificação), cognominadas no laboratório como quitosana QM (a de massa molar média) e quitosana QH (a de massa molar alta). O DA foi calculado a partir da equação 11:

$$DA(\%) = \left(\frac{8,695 - \%N}{1,799} \right) \times 100$$

Equação 11

sendo 8,695 %N na quitosana totalmente desacetilada e 1,799 a diferença entre 8,695 e 6,896, que é %N na quitina totalmente acetilada (Roberts, 1992).

O grau de desacetilação (DD), por sua vez, determinou-se utilizando a equação 12:

$$DD(\%) = 100 - DA(\%)$$

Equação 12

Os valores de DA baseados em resultados de análise elementar das quitosanas originais QM e QH foram muito altos. Apesar de ser um método simples e preciso para quitosanas puras, a análise elementar pode apresentar valores

distorcidos, devido a resíduos protéicos do processo de desacetilação da quitina e excesso de água nas amostras, além de impurezas inorgânicas (Brugnerotto et al. 2001). Além disso, outros pesquisadores apresentaram equações distintas para calcular os valores de DA e DD de quitosanas, baseando-se na razão das percentagens de C e N (Dong et al, 2001; Kaasai et al., 2000) em análise elementar.

4.1.1.1.2. Desacetilação de quitosanas para novos ensaios de análise elementar e infravermelho

Tendo em vista os altos valores de grau de acetilação determinados para as amostras originais, decidimos por proceder a desacetilação daquelas para a continuidade do trabalho. As quitosanas foram desacetiladas segundo o método de Takanori e colaboradores (Takanori et al, 1976) com algumas modificações/adaptações. Além disso, borbulhou-se N_2 na suspensão alcalina durante todo o processo, para eliminar ou minimizar possível ação de O_2 na oxidação e degradação do polissacarídeo. Manteve-se a suspensão em agitação magnética e sob refluxo durante 8 h, a 80 °C. As quitosanas desacetiladas foram denominadas QuitH e QuitM, originadas de QH e QM, respectivamente. Os resultados de análise elementar bem como os graus de acetilação (DA) e desacetilação (DD) médios dos referidos polímeros estão na Tabela 6.

Tabela 6. Análise elementar (C, H, N); graus de acetilação (DA) e de desacetilação (DD) médios de quitosanas QuitH e QuitM.

Amostra	%C	%H	%N	DA médio (%)	DD médio (%)
QuitH	43,80 ± 0,08	6,69 ± 0,08	8,24 ± 0,04	26 ± 2	74 ± 2
QuitM	43,6 ± 0,1	6,61 ± 0,02	8,27 ± 0,04	24 ± 2	76 ± 2

Levando-se em conta os graus de desacetilação das quitosanas originais, houve um aumento expressivo daqueles: de 61% (QH, Tabela 5) para 74% (QuitH, Tabela 6); de 46% (QM, Tabela 5) para 76% (QuitM, Tabela 6).

4.1.1.1.3. Grau de acetilação/desacetilação por espectroscopia vibracional no infravermelho

Os graus de acetilação das quitosanas originais e desacetiladas foram obtidos através dos resultados de absorção no infravermelho e utilizando como ferramenta de cálculo a equação 13, proposta por Domszy e Roberts (Domszy and Roberts, 1985),

$$DD = 100 - \left[\left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) \times \frac{100}{1,33} \right]$$

Equação 13

sendo A_{1655} a absorbância da banda da amida I em 1655 cm^{-1} e A_{3450} a absorbância da hidroxila em 3450 cm^{-1} ; o fator 1,33 é o valor da razão A_{1655}/A_{3450} para a quitosana totalmente acetilada (quitina); DD, o grau de desacetilação em percentagem. Os termos dentro dos colchetes estimam o valor de DA. Os resultados de absorbâncias e os de DA e DD estão listados na Tabela 7.

Tabela 7. Grau de acetilação de quitosana por espectroscopia no infravermelho.

Amostra	$A_{1655 \text{ cm}^{-1}}$	$A_{3450 \text{ cm}^{-1}}$	DA %	DD %
QH	0,033	0,066	38	62
QM	0,044	0,114	29	71
QuitQH	0,017	0,060	21	79
QuitQM	0,028	0,095	22	78

Os valores de DA e DD, baseados em resultados de espectroscopia no IV (Tabela 7) são muito distintos dos obtidos da quitosana original QM, através de análise elementar. Por outro lado, para as quitosanas QH e as mais desacetiladas, ou seja, QuitH e QuitM, os DDs obtidos pelos dois métodos têm valores próximos aos correspondentes da análise elementar (Tabela 5 e Tabela 6, respectivamente).

4.1.1.1.4. Grau de acetilação de quitosana por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H)

A espectroscopia RMN-¹H foi feita segundo o método de Lavertu (Lavertu et al., 2003). Os espectros de RMN-¹H foram obtidos no espectrômetro Bruker DRX 500 a 70°C, sendo o polímero dissolvido em D₂O – DCl (2% DCl, v/v), ca. 10 mg/mL. A partir desses espectros das quitosanas, foram calculados os valores percentuais de DA e DD mostrados na Tabela 8.

Tabela 8. Graus de acetilação e desacetilação de quitosanas por RMN-¹H.

Amostra	DA %	DD %
QH	37	63
QM	29	71
QuitH	9	91
QuitM	5	95

Os cálculos de DA foram feitos a partir da relação de áreas de picos de acordo com a equação 14:

$$DA(\%) = \left(\frac{A_{CH_3}}{3A_{H2}} \right) \times 100$$

Equação 14

Subtraindo de 100 o valor de DA, obtém-se o valor de DD, ou seja, DD (%) = 100 - DA (%), sendo:

A_{CH_3} = área do pico na região de 2 ppm, atribuídos aos núcleos de hidrogênios do grupo metil;

A_{H2} = área do pico em 3,2 ppm, atribuído ao núcleo do hidrogênio na posição 2 do anel glicosamina.

A Tabela 9 resume os resultados de DA/DD obtidos pelos três métodos utilizados no trabalho.

Tabela 9. Graus de acetilação / desacetilação de quitosanas obtidos por análise elementar (AnEl), espectroscopia no infravermelho (IV) e RMN-¹H.

Quitosana	Grau de acetilação / Desacetilação (%)		
	AnEl	IV	RMN- ¹ H
QH	39 / 61	38 / 62	37 / 63

QM	54 / 46	29 / 71	29 / 71
QuitH	26 / 74	21 / 79	9 / 91
QuitM	24 / 76	22 / 78	5 / 95

Dos três métodos utilizados na determinação de DA/DD das quitosanas, o que se apresentou maior desvio foi o de análise elementar da QM original (sem purificação), devido provavelmente a resíduos de proteína e presença de água nas amostras. A espectroscopia no infravermelho apresentou resultados de DA/DD muito próximos aos de RMN-¹H para as amostras originais. Após uma análise de algoritmos significativos dos resultados, observou-se uma completa concordância dos resultados de IV e RMN-¹H para as quitosanas originais. Apesar de esta concordância de 100% ser um mero acaso, ela reflete uma grande segurança sobre estes números. RMN-¹H é considerado o método mais confiável para determinação do DA/DD de quitosanas (Lavertu et al., 2003). Quanto às amostras das quitosanas mais desacetiladas (QuitH e QuitM), houve uma grande diferença entre os resultados de DAs/DDs obtidos por IV e RMN-¹H, possivelmente por influência de hidrólise ácida das quitosanas.

Em estudos de diversos métodos analíticos para a determinação de DA/DD de quitosana por Kahn et al (2001), a utilização da técnica IV apresentou valores de DD diferentes quando computados utilizando linhas de base diferentes para amostras preparadas em forma de pastilhas de KBr. Nesses estudos, eles observaram que os valores calculados usando a linha de base de Baxter et al. (Baxter et al., 1992) (Equação 16) foram, em geral, mais altos do que os calculados usando a linha de base de Domszy e Roberts (Domszy e Roberts, 1985) (Equação 15):

$$DD = 100 - [(A_{1655} / A_{3450}) \times 100 / 1,33]$$

Equação 15

$$DD = 100 - [(A_{1655} / A_{3450}) \times 115]$$

Equação 16

Por outro lado, para as amostras preparadas em forma de filmes, os valores calculados utilizando as duas linhas de base não apresentaram

discrepâncias significativas. Nos nossos estudos, foi sempre utilizada a linha de base de Domszy e Roberts para os cálculos de DAs/DDs de quitosana, e os resultados obtidos a partir de pastilhas e filmes foram sempre muito próximos.

A espectroscopia vibracional no IV é primeiramente um método para o estado sólido que utiliza a linha de base para o cálculo do DD. O emprego da linha de base diferente contribuiria inevitavelmente para as variações nos valores do DD (Baxter et al., 1992; Sannan et al, 1978). Além disso, a preparação da amostra, o tipo de instrumento usado e as circunstâncias podem influenciar a análise da amostra (Sannan et al, 1978; Sabnis et al., 1997). Quitosana é higroscópica por natureza e a potencialidade de adsorção da umidade de quitosana é diminuída com um aumento no grau de desacetilação (Blair et al., 1987). Isto sugere que as amostras que têm um DD mais elevado podem absorver menos umidade do que aquelas com DD mais baixo. Além disso, os erros experimentais podem ocorrer durante a pesagem das amostras. Também é essencial que as amostras devam estar completamente secas (Blair et al., 1987).

A determinação de DA de quitosana por RMN- ^1H é considerado o método mais seguro dentre os diversos apresentados na literatura, porém pode apresentar resultados distorcidos no cálculo da área do pico na região de 2 ppm, atribuídos aos hidrogênios do grupo metil da acetamida. No caso do uso de $\text{DCl-D}_2\text{O}$, ao longo dos testes a 70–80 °C, efeitos de hidrólise ácida da quitosana deverão ser considerados (Hirai et al., 1991). As amostras de QuitM e QuitH desacetiladas a partir das respectivas originais, QM e QH, devem ter sofrido alguma hidrólise ácida no período de preparação (24 h de dissolução prévia somadas ao tempo de realização dos testes de RMN- ^1H a 70 °C) para apresentar uma grande discrepância de valores de DAs/DDs relativos aos obtidos por IV. As áreas dos picos nas regiões de ca. 2,0 ppm estão muito pequenas, indicando alta desacetilação do polímero. Assim, nenhum dos métodos para a determinação do DA da quitosana aqui discorrido é totalmente seguro, uma vez que os resultados são influenciados pela preparação de amostra e a técnica analítica usada.

4.1.1.2. Massa molar

Os dois parâmetros mais importantes na caracterização da quitosana são o grau de acetilação (DA) e a massa molar. Eles definem as propriedades físico-

químicas do polissacarídeo: facilidade de dissolução em ácidos orgânicos diluídos, viscosidade, reatividade com dialdeídos para reticulação e formação de hidrogéis, propriedades mecânicas, atividade antimicrobiana, outros. Em se tratando de determinação da massa molar, vários são os métodos indicados na literatura (Berth et al., 1998): viscosimetria capilar, osmometria, espalhamento de luz, cromatografia por exclusão de tamanho (SEC), outros.

4.1.1.2.1. Massa molar viscosimétrica média

A viscosidade é uma medida da resistência de um líquido à deformação sob tensão de cisalhamento. Descreve a resistência interna de um líquido ao fluxo e é uma medida da fricção fluida. Os polímeros aumentam a viscosidade de um líquido em que estão dissolvidos, porque possuem cadeias muito longas. Este aumento é devido ao fluxo das macromoléculas junto com o solvente. O valor do aumento na viscosidade depende do tamanho e da forma do polímero. Na solução, os polímeros ou biomoléculas existem como partículas pseudo-ordenadas, permitindo que se movam através da solução e permanecendo ainda aproximadamente esféricas. A esfericidade de uma molécula depende da estrutura da própria molécula bem como do solvente em que é dissolvida.

A viscosimetria capilar é um dos métodos mais utilizados para determinar massas molares de polímeros em soluções diluídas. Não exige uma aparelhagem muito complexa e de alto custo. Através dos resultados das medições, é possível estimar a massa molecular viscosimétrica média ($\overline{M}_v$) do polímero em estudo.

Na literatura, sistemas de solvente $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ou $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaCl}$ têm sido utilizados comumente para determinar a massa molar viscosimétrica média de quitosana (Tsaih and Chen, 1999). O uso dessas soluções salinas equilibra a força iônica do meio. Para a obtenção da massa molar viscosimétrica média ($\overline{M}_v$) de cada quitosana, utilizou-se a solução-estoque de cada polímero a 1% (m/v), dissolvido em solução-tampão 0,3 M de ácido acético–0,2 M de acetato de sódio, pH. ca. 4,5. Alíquotas das soluções poliméricas foram posteriormente diluídas com a solução-tampão para medições de viscosidade em viscosímetro capilar Ubbelohde Schott 531-10, a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Os coeficientes de Mark-Houwink utilizados foram: $K = 0,076$; $a = 0,76$ (Canella and Garcia, 2001). “ K ” e “ a ” são constantes para um dado sistema soluto-solvente a uma determinada temperatura. Para quitosana, esses coeficientes são influenciados pelo grau de desacetilação, o pH e a força iônica do solvente (Kasaai et al., 2000; Wang et al., 1991). Por exemplo, com o aumento do DD, “ a ” diminui e “ K ” aumenta. Isto é devido a uma redução de rigidez da cadeia molecular e um aumento da força de repulsão eletrostática dos grupos iônicos ao longo da cadeia do polieletrólito na solução de quitosana, quando o DD da quitosana cresce gradualmente. Daí serem variados seus valores em trabalhos envolvendo a determinação de massa molar de quitosana

(Knauth et al, 1998; Ottøy et al., 1996; Yomota et al., 1993; Anthonsen et al., 1993; Rinaudo et al., 1993).

Os resultados de viscosidade intrínseca e massas molares viscosimétricas médias dos polissacarídeos estão na Tabela 10. Os valores das massas molares viscosimétricas médias foram calculados a partir da equação de Mark-Houwink: $[\eta] = K \overline{M}_v^a$.

Tabela 10. Viscosidade intrínseca $[\eta]$ a $25,0 \pm 0,1$ °C, massa molar viscosimétrica média ($\overline{M}_v$) para quitosana dissolvida em CH_3COOH 0,3 mol/dm³/ CH_3COONa 0,2 mol/dm³.

Quitosana	$[\eta]$ (mL/g)	$\overline{M}_v$ (g/mol)
QH	591 ± 3	$1,32 \times 10^5$
QM	664 ± 2	$1,53 \times 10^5$

A viscosidade intrínseca $[\eta]$ é o coeficiente linear em um gráfico da viscosidade relativa η_r ($\eta_r = \eta/\eta_s$) em função da concentração do polímero. Como a viscosidade relativa é adimensional, a unidade da viscosidade intrínseca é a da concentração recíproca. Na prática, utiliza-se a equação de Huggins (Equação 17) para determinar a viscosidade intrínseca de soluções de polímeros:

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + K_H [\eta]^2$$

Equação 17

Nesta equação, η_{sp} é a viscosidade específica, que é igual a $(\eta - \eta_s)/\eta_s$; c é a concentração do polímero (g/ mL); η_{sp}/c é a viscosidade reduzida. Quando η_{sp}/c é graficada vs c , obtém-se uma reta. Extrapolando-a para diluição infinita, obtém-se o coeficiente linear da reta, o qual é a viscosidade intrínseca $[\eta]$ da amostra usada em diluição infinita, ou seja, $\lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{sp}}{c} \right)$. Pode-se também obter $[\eta]$ graficando a viscosidade inerente, η_{inh} , que é igual $\ln \eta_r / c$, sendo η_r a viscosidade relativa e c a concentração. A viscosidade inerente é obtida conforme a Equação 18:

$$\eta_{inh} = k''[\eta]^2 c + [\eta]$$

Equação 18

Quando $c = 0$, o termo $k''[\eta]^2 c$ iguala-se a zero, e a viscosidade inerente é igual à viscosidade intrínseca.

Figura 16. Determinação da viscosidade intrínseca de quitosana QH.

Figura 17. Determinação da viscosidade intrínseca de quitosana QM.

As Figuras 16 e 17 mostram as curvas das viscosidades reduzida e inerente das soluções de quitosana QH e QM, respectivamente. Os valores das viscosidades intrínsecas dos polímeros contidos na Tabela 10 foram inferidos pelo programa Origin 6 utilizado na produção dos gráficos e ajustes das retas por regressão linear simples. Os interceptos estão mostrados com o auxílio de linhas pontilhadas, extrapoladas até o ponto correspondente à concentração zero, no qual a viscosidade reduzida ou a inerente iguala-se à viscosidade intrínseca. Pelos interceptos nos gráficos, surgiram distorções de valores de ambas as viscosidades à diluição infinita, pois não se conseguiu uma perfeita linearidade das curvas¹. Num trabalho de Mutalik e colaboradores (Mutalik et al., 2006) ocorreu também esse tipo de distorção, porém sem nenhum comentário a respeito. Essa linearidade em soluções de polieletrólitos depende do aumento da força iônica do solvente de A A A polaridade deve ser suficientemente alta para eliminar os efeitos de interação

¹ Em dois experimentos de medição de viscosidade das referidas quitosanas para obtenção de suas massas molares, confirmou-se que, ao contrário do esperado, a quitosana, denominada pela Aldrich de massa molar média, apresentou maior massa molar que a denominada de massa molar alta pelo fornecedor. No preparo das soluções de ambos os polímeros a 2% (m/v) em ácido acético diluído a 2% com água (v/v), observa-se, já na etapa de filtração, uma maior viscosidade para a quitosana QH, de escoamento mais lento. As diferenças de grau de acetilação de quitosanas poderiam influenciar nos resultados da viscosidade. Para a quitosana é importante avaliar como a extensão da cadeia, e conseqüentemente as propriedades de solução, varia com o grau de acetilação, DA. Há dois efeitos diferentes que devem ser levados em conta. Um é o efeito causado pelo grupo volumoso N-acetil, por exemplo, que poderia ser de origem estérica devido à ligação hidrogênio intramolecular. Este efeito sugere que quitosanas com o mais alto DA deveriam manter a conformação mais expandida da cadeia e tornar esta mais rígida. Um outro efeito é devido à carga positiva do grupo amina livre em soluções ácidas. Se um efeito de polieletrólito repulsivo for determinante, quitosanas com o mais baixo DA e, conseqüentemente, com os efeitos de carga mais altos, apresentariam a conformação mais expandida (sob forças iônicas mais baixas, em que o efeito eletrostático é predominante). (Anthonsen et al., 1994). Entretanto, se aceitarmos os valores de DA como corretos (36% para QH e 29% para QM), obtidos pelo método de espectroscopia no infravermelho, que é o mais utilizado na literatura, o efeito de carga poderá ser uma justificativa para as discrepâncias dos resultados de massas molares viscosimétricas médias das quitosanas QH e QM.

entre as cadeias do polímero (Canella & Garcia, 2001; von Harpe et. al., 2000). As distorções da linearidade podem advir de variações da salinidade da solução polimérica (Pavlov et al., 2006).

4.1.1.2.2. Massa molar de quitosana por osmometria de membrana

Esta técnica baseia-se no princípio da osmose, ou seja, da tendência natural das moléculas de um dado solvente de passarem, através de uma membrana semipermeável, de uma solução diluída para uma solução concentrada, até atingir o equilíbrio. Esta técnica é bastante utilizada na determinação de massa molar de polímeros, com vantagens de ser absoluta, dispensando, portanto, o uso de padrões de referência. Através desta técnica, foram determinadas as massas molares numéricas médias das quitosanas QM (de média viscosidade) e QH (de alta viscosidade).

Da solução-estoque a 1% (m/v) de cada quitosana dissolvida em solução de HAc 0,02 M / NaCl 0,1 M, pH 4,5, foram retiradas alíquotas para diluições com a solução tampão, originando assim amostras com as concentrações 1,0 g/100 mL, 0,5 g/100 mL e 0,25 g/100 mL para os testes no OSMOMAT 090, a 30°C. O valor da pressão reduzida (π / c_2) foi determinado para cada concentração e graficado versus c_2 . $\overline{M}_n$ de cada quitosana foi calculada através da equação

$$\frac{\pi}{c_2} = RT \left(\frac{1}{\overline{M}_n} + A_2 c_2 \right)$$

Equação 19

sendo R a constante universal dos gases; T , a temperatura em K e A_2 , o segundo coeficiente virial. Os resultados das pressões osmóticas reduzidas das quitosanas QH e QM estão na Tabela 11.

Tabela 11. Pressões osmóticas reduzidas de quitosanas QH e QM para determinação de suas massas molares numéricas médias ($\overline{M}_n$).

	Concentração (g/100 mL*)	Pressão osmótica reduzida ($\frac{P_i}{C} = \frac{\pi}{c_2}$)
		(dina.L.g ⁻¹ .cm ⁻¹)
Quitosana QH	0,2	2,16 ± 0,01
	0,4	2,44 ± 0,02
	1	3,09 ± 0,01
Quitosana QM	0,1	2,80 ± 0,05
	0,4	3,30 ± 0,07
	1	4,08 ± 0,03

*Solvente: Solução de 0,02M HAc/0,1M NaCl, pH 4,5 a 30°C.

Por extrapolação da reta obtida à concentração zero (Figuras 18 e 19), o coeficiente da reta fornece o valor de A_2 e o seu intercepto no eixo das coordenadas, o de $\overline{M}_n$

Figura 18. Determinação da massa molar numérica média, $\overline{M}_n$, de quitosana QH por osmometria.

Figura 19. Determinação da massa molar numérica média, $\overline{M}_n$, de quitosana QH por osmometria.

Os valores das massas molares numéricas médias encontrados para as quitosanas QM e QH foram, respectivamente, $\overline{M}_n = 97.000 \text{ g mol}^{-1}$ e $\overline{M}_n = 128.000 \text{ g mol}^{-1}$. Tentativas de determinação das massas molares destas quitosanas por espalhamento de luz estático – normalmente o método mais confiável em determinação de massa molar de polímeros – foram feitas. Os resultados obtidos de $\overline{M}_w$ foram muito próximos aos de $\overline{M}_n$ aqui reportados. Entretanto, a qualidade do gráfico de Zimm obtido foi muito ruim, o que nos levou a descartar os resultados do espalhamento de luz. Se os novos resultados tivessem sido considerados, estaríamos trabalhando com quitosanas de índices de polidispersidade (IP) muito próximos de 1, o que não é comum nesses polissacarídeos. Quitosanas possuem normalmente uma faixa de distribuição de massas molares mais ampla, com $IP > 2,00$ (Kasaai et al., 2000; Canella et al, 2001) devido ao processo de desacetilação da quitina para sua obtenção. Nesse processo, no qual as condições são, de certa forma, drásticas (solução de KOH ou NaOH a 50% e temperaturas de 80 °C a 150 °C) e tempos de hidrólise longos (de 1 até mais de 12 h) levam a uma degradação das cadeias poliméricas mais intensa. Além disso, a fonte da quitina influencia também na sua massa molar e polidispersidade (Knaul et al., 1998).

4.1.2. Caracterização da Poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (PVP)

Poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)/PVP é um homopolímero linear sintético, obtido a partir da polimerização radicalar de *N*-vinil-2-pirrolidona em solução aquosa utilizando H_2O_2 como iniciador (Esquema 3).

Esquema 3. Obtenção de poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) por polimerização radicalar em solução aquosa.

Durante a Segunda Grande Guerra, PVP solúvel em água foi utilizada como substituinte de plasma sanguíneo (Robinson, 1990). Por ser um polímero biocompatível e não-tóxico, sua aplicação é ampla como biomaterial, em produtos alimentícios e cosméticos. Encontra inúmeras aplicações em outros ramos, tais como adesivos, tintas, papel, etc.

Como se trata de um polímero sintético muito estável e regular, bastante explorado como hidrogel pelo nosso grupo de pesquisa, já foi caracterizado em vários trabalhos publicados pelo grupo, nos últimos cinco anos. Neste trabalho, foram feitas algumas caracterizações de propriedades de da PVP, úteis para o projeto. Estão resumidas na Tabela 12 e complementadas com dados do fornecedor (BASF)*, sinalizados com um asterisco:

Tabela 12. Caracterização de PVP (Luviskol K90D).

Propriedade	Resultados/Valores
Aparência	Pó branco
Teor de umidade	$6 \pm 1\%$ (48 h a 70°C)
Temperatura de transição vítrea (T_g)	177°C (DSC)
Temperatura de transição vítrea (T_g)	180°C*
Análise elementar (C,H,N)	C = 61,34%; H = 9,54%; N = 12,00%; N 11,5-12,8%*
Espectroscopia no IV (PVP dispersa em KBr ou diretamente de filmes)	Bandas características: ca. 1660 cm^{-1} (forte, vibração de estiramento axial de C=O); 670-730 cm^{-1} (C-H do anel, vibrações de deformação angular assimétrica no plano)
Solubilidade em água	Solúvel
Solubilidade em solução aquosa de ácido acético a 2% (pH ca. 4)	Solúvel
pH (solução aquosa a 10%)	5,0-9,0*
Massa molar ponderal média ($\overline{M}_w$)	$1,2 \times 10^3$ - $2,0 \times 10^3$ kDa*
Massa molar numérica média ($\overline{M}_n$)	300-500 kDa*
Temperatura máxima de estabilidade	210°C*
Parâmetro de solubilidade (δ)	12,6 (Jcm^{-3}) ^{1/2} *
Tamanho médio das partículas	200 μm *
Densidade	0,4-0,6 g mL^{-1} *

* Dados do fabricante

4.2. Filmes de Blendas de Quitosana-PVP

Nesta parte, vamos abordar a produção de filmes de blendas de quitosana-PVP obtidos por evaporação do solvente e submetidos à extração em água deionizada durante 48 h, às condições ambientes. Foram avaliados dois parâmetros importantes em estudos de filmes/membranas para possível emprego como biomaterial: fração gel e índice de intumescimento.

4.2.1. Fração gel e índice de intumescimento

A parte insolúvel seca de um sistema polimérico reticulado é denominada fração gel. Assim, o percentual de resíduo seco, em relação a uma membrana seca polimérica submetida a uma extração num solvente qualquer, é denominada fração gel. A parte extraída pelo solvente da mesma membrana é, então, a fração sol.

O índice de intumescimento é a relação entre a massa do polímero ou sistema polimérico intumescido após imersão num dado solvente até o equilíbrio e a massa do polímero seco antes da imersão.

4.2.1.1. Filmes não-irradiados

Os filmes das blendas de quitosana-PVP não-irradiados, amostras em triplicata, apresentaram os valores de fração de polímero insolúvel média mostrados na Tabela 13. Os resultados foram obtidos após ficarem imersos em água destilada durante 48 h, à temperatura ambiente.

Tabela 13. Fração de polímero insolúvel de filmes de blendas de quitosana QM-PVP e QH-PVP não-irradiados, após extração em água destilada durante 48 h, à temperatura ambiente.

Amostra de filme de blenda de quitosana-PVP	Fração gel (%)*	Índice de intumescimento
QM	90,8 ± 0,2	6,4 ± 0,8
QM95	93,6 ± 0,2	2,2 ± 0,2
QM70	84,6 ± 0,6	3,0 ± 0,8
QM50	51,7 ± 0,4	37 ± 2
QM30	39,8 ± 0,9	40,1 ± 0,4
QM5	37 ± 1	70 ± 3
QH	99,1 ± 0,5	2,5 ± 0,5
QH95	96,4 ± 0,6	3,1 ± 0,2
QH70	91,1 ± 0,4	5,1 ± 0,4
QH50	82 ± 2	28,5 ± 0,7
QH30	70,7 ± 0,8	61 ± 1
QH5	44 ± 5	32 ± 12
PVP	2,5 ± 0,8	0

* após extração em H₂O deionizada durante 48 h, a 23 ± 2°C.

Figura 20. Fração de polímero insolúvel de blendas de quitosana-PVP. Extração a partir de filmes das blendas não-irradiados e imersos em água deionizada durante 48 h, à temperatura ambiente.

Pelos resultados apresentados na Tabela 13 e o perfil da Figura 20, a fração de polímero insolúvel dos filmes das blendas de quitosana QM-PVP e QH-PVP aumenta com o aumento da quantidade de quitosana. QH é menos solúvel do que QM, e isso reflete em melhores resultados de fração de polímero residual nas blendas QH70, QH50 e QH30.

É importante salientar que PVP é uma amida terciária solúvel em água e uma base de Lewis forte. Por causa de seus grupos polares, é um forte aceptor de próton e pode facilmente apresentar interações de ligação de hidrogênio com outros polímeros ou moléculas não-poliméricas, desde que estes compostos sejam doadores de próton. A boa miscibilidade dos componentes resultante das interações de grupos funcionais específicos (hidroxila, amida), presentes em macromoléculas de quitosana e PVP, causa um aumento de empacotamento estrutural do sistema (Mucha *et al.*, 2005). Isso dificulta a interação de PVP com a água para sua solubilização. Daí a vantagem de maior retenção de PVP na blenda e, conseqüentemente, elevação da fração residual de polímero após extração em água deionizada. Sendo assim, as blendas QM5 e QH5, nas quais a participação de quitosana é de apenas 5% (m/m), são as que melhor refletem essa interação nos resultados de fração de polímero insolúvel: 37,1% e 44%, respectivamente.

Quanto ao índice de intumescimento das referidas blendas, os resultados estão na Tabela 13, e a Figura 21 mostra o seu perfil.

Figura 21. Índice de intumescimento de filmes de blendas de quitosana-PVP (QH-PVP e QM-PVP). Filmes não-irradiados por luz UV. Extração em H₂O deionizada durante 48 h, à temperatura ambiente.

A Figura 21 mostra os índices de intumescimento das blendas de quitosana-PVP em água deionizada, à temperatura ambiente. As blendas de QH-PVP apresentaram certa regularidade de aumento de índice de intumescimento com o aumento da parcela de PVP, exceto a QH5, cujo índice teve uma queda brusca na série de concentrações testadas e com uma margem de erro relativamente alta. No caso das blendas de QM-PVP, estas apresentaram também um comportamento similar ao das QH-PVP no índice de intumescimento, salvo a QM95 a QM70, cujos índices são inferiores ao da quitosana QM pura. Esta, ao longo dos experimentos, sempre demonstrou um caráter hidrofílico mais elevado que o da quitosana QH.

4.2.1.2. Filmes irradiados por luz uv

Os filmes das blendas de quitosana-PVP, amostras em triplicata, após irradiação com luz UV_{254 nm}, durante 1,5 h a 22°C e em atmosfera dinâmica de N₂, foram imersos em água destilada por 48 h, às condições ambientes. Os respectivos índices de intumescimento e frações gel obtidos estão listados na Tabela 14.

Tabela 14. Índice de intumescimento e fração gel de filmes de blendas de quitosanas-PVP (QM-PVP e QH-PVP) irradiados por luz $uv_{254\text{ nm}}$.

Amostra	Índice de intumescimento	Fração gel (%)
PVP-UV	97 ± 21	64 ± 6
QM5-UV	45 ± 8	74 ± 16
QM30-UV	23 ± 5	85 ± 2
QM50-UV	27 ± 5	79 ± 2
QM70-UV	33 ± 13	88 ± 11
QM95-UV	28 ± 8	93 ± 7
QM-UV	57 ± 27	53 ± 9
QH5-UV	79 ± 4	80 ± 16
QH30-UV	63 ± 15	86 ± 3
QH50-UV	30 ± 3	88 ± 2
QH70-UV	46 ± 11	93 ± 7
QH95-UV	30 ± 2	94 ± 5
QH-UV	55 ± 18	73 ± 2

* Índice de intumescimento = massa de água absorvida / massa de gel ou filme seco, após extração.

Figura 22. Fração gel e índice de intumescimento de filmes de blendas de quitosana QH-PVP irradiados por luz $uv_{254\text{ nm}}$.

Figura 23. Fração gel e índice de intumescimento de filmes de blendas de quitosana QM-PVP irradiados por luz $uv_{254\text{ nm}}$.

Uma comparação da Figura 20 com as Figuras 22 e 23 demonstra claramente a inclusão da PVP na fração insolúvel. Os valores de fração gel das blendas aqui observados são o resultado da somatória das contribuições de (i) quitosana (insolúvel ou pouco solúvel em água) e (ii) PVP insolúvel, produzida a partir de reticulações induzidas pela radiação UV. Assim, a fração gel aumenta, de modo geral, com o aumento da parcela de quitosana e de PVP reticulada (Figura 20). O arranjo assim formado deverá ser uma IPN real, caso a quitosana tenha sofrido reticulação pela ação da radiação, ou uma SIPN, caso somente a PVP tenha reticulado.

O índice de intumescimento de materiais poliméricos reticulados depende da densidade de reticulação do sistema (Burkert et al., 2007) numa relação inversa. O índice de intumescimento dos filmes das blendas de QH-PVP irradiados tende a crescer, quase de forma regular, com o aumento da parcela de PVP. Na blenda QH50 (Figura 20), seu valor médio é muito próximo ao de QH95 (Figura 20), apresentando, portanto, um “desvio aparente” na tendência de aumento, sem uma explicação convincente.

O índice de intumescimento das blendas de quitosana QM-PVP (Figura 23) tende a crescer com o aumento da parcela de PVP na seqüência QM95, QM70 e QM5. As blendas QM50 e QM30 apresentaram os menores índices de intumescimento, entretanto de valores muito próximos (ca. 23,0 e ca. 27,0, respectivamente; Tabela 14).

Goustouridis *et. al.* (Goustouridis *et al.*, 2004), em estudos de irradiação UV sobre filmes de poli(metacrilato de hidroxietila) (PHEMA), verificaram que, para doses baixas de irradiação, o intumescimento do polímero é favorecido, enquanto para doses mais altas, em que a cisão da cadeia é dominante, ele diminui. Altas doses de irradiação UV resultam numa maior densidade de empacotamento, impedindo o intumescimento.

No presente trabalho, todos os filmes das blendas de quitosana-PVP e referências (QH, QM e PVP) receberam a mesma dose de irradiação UV. Os índices de intumescimento são também influenciados por outros fatores não considerados nos testes, por exemplo, espessura do filme, que é difícil de ser controlada nas diferentes blendas, e porosidade.

4.2.2. Espectroscopia vibracional no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho permite-nos caracterizar bandas de absorção importantes de qualquer composto, através de seu espectro. Sua utilidade estende-se também a polímeros e suas blendas, especialmente na elucidação da miscibilidade destas. Para que dois polímeros formem uma blenda miscível, é necessário que haja uma interação, em nível molecular, entre suas cadeias. Isto se consegue a partir de similaridade de estruturas químicas e conformacionais das cadeias ou através de formação de ligação de hidrogênio, que é uma das interações mais importantes na formação de blendas miscíveis.

No caso de blendas de quitosana e PVP, os grupos carbonila da amida de PVP são capazes de interagir com os grupos hidroxila e amina da quitosana através das interações de ligação de hidrogênio, levando à miscibilidade (Fang and Goh, 2000). As mudanças da banda de absorção da amida podem ser observadas nos espectros IV das blendas.

Como referência, são mostrados os espectros no IV de quitosana QH (Figura 24) e de PVP (Figura 25).

Figura 24. Espectro IV de filme de quitosana QH.

Figura 25. Espectro IV de filme de PVP

O grupo amina de QH na Figura 24 apresenta uma absorção característica na região de $3400\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$, resultado da mistura de bandas de estiramento N-H e O-H. A banda da amida I aparece a 1653 cm^{-1} - ν -estiramento da carbonila. A Figura 25 mostra o espectro IV de PVP com várias bandas características, dentre as quais a de 3436 cm^{-1} (overtone, $2\times\text{C=O}$; OH de água presente no polímero) e a de 1718 cm^{-1} (ν -estiramento da carbonila da **amida I**).

Outras bandas de absorção relevantes dos espectros no IV encontram-se nas tabelas IR-QH (Tabela 15) e IR-PVP (Tabela 16). Suas atribuições com alguns

ajustes foram baseadas na literatura em geral, principalmente na publicação recente de Borodko e colaboradores (Borodko et al., 2006).

Tabela 15. Identificação de grupos funcionais no espectro FT-IR de quitosana QH

Banda (cm^{-1})	Grupo	Característica
3450	-OH	ν -estiramento
3360	-NH	ν -estiramento simétrico
2880	-CH ₂ -	Vibração de estiramento simétrico ou assimétrico
1428-1309	-CH ₂ -	Atribuída ao anel piranose
1653	-C=O	Grupo acetila na banda da amida I (ν -C=O)
1382	-CH ₃	No grupo amida
1154-1020	-C-O-C-	Na ligação glicosídica

Tabela 16. Identificação de grupos funcionais no espectro FT-IR de PVP

Banda (cm^{-1})	Grupo	Característica
3439	2x C=O; OH	Overtone; OH de água presente no polímero
2955	CH ₂	Estiramento assimétrico, anel
1666	C=O da amida I, C-N	Estiramento de C-N
1495	C-N	Deformação axial
1463, 1440, 1424	CH ₂	Deformação angular simétrica no plano
1374	C-H	Deformação angular
1318, 1291	CH ₂ ; C-N	Deformação angular simétrica de CH ₂ no plano; estiramento de C-N
1230, 1171		Deformação angular assimétrica no plano
924	C-C	C-C, anel

A Tabela 16 mostra algumas bandas de absorção no IV de PVP e suas atribuições em termos de grupos funcionais e frequências. Os valores das frequências foram obtidos a partir dos espectros FT-IR supracitados.

A Figura 26 apresenta o espectro no IV das blendas de diferentes proporções de quitosana QH e PVP. Foi avaliado especialmente na região de 1800–1500 cm^{-1} , na qual se podem detectar possíveis deslocamentos da banda de absorção da carbonila de PVP nas blendas.

Figura 26. Espectros IV de filmes de blendas de quitosana QH-PVP na região de 1800–1500 cm^{-1}

Nas blendas, quando o teor de PVP aumenta, a banda de estiramento da carbonila da PVP desloca-se, de modo geral, para frequências mais baixas, até sobrepor-se, finalmente, com a banda da amida I ($1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$) da quitosana (Figura 21). Essas mudanças de frequências sugerem que a carbonila da PVP participa da ligação de hidrogênio com a hidroxila ou com o grupo amina da quitosana, ou seja, que existe uma interação entre os dois polímeros em nível molecular, pelo menos em algumas regiões. A formação de ligação de hidrogênio a um grupo carbonila aumenta o comprimento da ligação C=O e diminui a constante de força de estiramento K , resultando num abaixamento da frequência de absorção (Pavia et al., 1996). Vários pesquisadores têm constatado esse tipo de interação em blendas de PVP e polímeros contendo grupos hidroxila na cadeia (Ilarduya et al., 1995; Cao et al., 1998; Lu et al., 2003; Marsano et al., 2004). Os valores das frequências da carbonila de PVP nas blendas estão registrados na Tabela 17, a seguir.

Tabela 17. Freqüências da carbonila de PVP em blendas de quitosana QH.

Blenda	Freqüência (cm⁻¹)	Deslocamentos (cm⁻¹)
QH (referência)	1653	-
QH95	1658	17
QH70	1673	2
QH50	1661	14
QH30	1668	7
QH5	1666	11
PVPác (referência)	1675	-

Pelos resultados apresentados na Tabela 17, os deslocamentos de freqüências da carbonila de PVP mais apreciáveis ($> 10 \text{ cm}^{-1}$) foram nas blendas QH5, QH50 e QH95. Presume-se, então, que a interação de ligação de hidrogênio nelas foi mais acentuada que nas demais.

Em solução polimérica diluída, a probabilidade de uma molécula interagir com outra molécula enovelada na solução é baixa e, portanto, formam-se principalmente os associados intramoleculares (Krayukhina et al., 2007). No caso de misturas de soluções de poliméricas aquosas diluídas de quitosana e PVP, a interação de ligação de hidrogênio entre os polímeros é desfavorecida pela maior distância entre as cadeias e pela afinidade de ambos pelo co-solvente (água acidificada), que compete com os polímeros na formação de ligação de hidrogênio intermolecular de polímero-água. Assim o efeito de ligação de hidrogênio entre a carbonila de PVP e grupos OH e NH₂ da quitosana torna-se irrelevante.

Com relação aos espectros no IV de quitosana QM e de suas blendas com PVP, não se achou necessário apresentá-los, uma vez que são muito similares aos de QH e respectivas blendas.

4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

4.3.1. Filmes de blendas de quitosana e PVP não-irradiados por luz uv

Figura 27. Fotomicrografias de superfícies de criofraturas de filmes de (a) PVP, (b) quitosana QM e (c) quitosana QH não- irradiados por luz uv, obtidas em MEV.

As fotomicrografias da Figura 27 são imagens de superfícies de criofraturas de filmes de quitosana QM, quitosana QH e PVP, feitas por microscopia eletrônica de varredura. PVP apresenta uma superfície mais suave que as das referidas quitosanas. A da quitosana QH é mais áspera, com aspecto um pouco fibroso. Já as Figuras 28 e 29 mostram as microfotografias de superfícies de criofraturas de filmes de blendas de quitosana-PVP, também obtidas pela mesma técnica.

Figura 28. Fotomicrografias de superfícies de criofraturas de filmes de blendas de quitosana-PVP não-irradiados por luz uv, obtidas em MEV. (a) QM 5; (b) QH 5; (c) QM 30 e (d) QH 30.

Figura 29. Fotomicrografias de superfícies de criofratura dos filmes de blendas de quitosana-PVP não-irradiados por luz uv, obtidas em MEV. (a) QM 50; (b) QH 50; (c) QM 70; (d) QH 70; (e) QM 95 e (f) QH 95.

As fotomicrografias foram obtidas com ampliações de 10000x em sua maioria. As superfícies de criofraturas de PVP apresentam um aspecto suave, enquanto que as das quitosanas têm uma aparência rugosa (Figura 27). A rugosidade superficial das criofraturas diminui com o aumento da parcela de PVP nas blendas (Figuras 28 e 29). A suavidade-rugosidade de filmes poliméricos depende de vários fatores, tais como processo de secagem, espessura, porosidade, natureza intrínseca do polímero em termos de estrutura química e outras.

Normalmente os filmes de quitosana apresentam certa aspereza superficial que pode ser observado a olho nu.

Com base nas fotomicrografias obtidas em MEV, não se notou separação/domínio de fases em nenhuma das blendas testadas. Isso é um forte indicativo de formação de blendas miscíveis das referidas quitosanas com PVP. Resultados similares foram obtidos por outros pesquisadores com blendas de ambos os polímeros (Yeh et al., 2006).

4.4. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos Filmes de blendas de quitosana-PVP

A técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) é amplamente usada para avaliar várias propriedades térmicas de materiais poliméricos: temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização, fusão. Em estudo de miscibilidade de uma blenda binária, por exemplo, se a curva de DSC apresentar apenas uma T_g , classifica-se a blenda como miscível; se apresentar duas T_g 's, a blenda é classificada como imiscível. As curvas de DSC apresentadas, a seguir, foram obtidas através dos aparelhos de marca Shimadzu DSC-50 e DSC-30 TA 4000. Foi considerado o segundo aquecimento (da temperatura ambiente a 250°C) para cada curva, sob atmosfera dinâmica de N_2 (100 mL min⁻¹), a uma taxa de aquecimento constante de 10°Cmin⁻¹. As quantidades de amostra para os testes variaram de 3 a 8 mg.

Figura 30. Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) de filmes blendas de quitosana QM-PVP não-irradiados por luz uv. 2º aquecimento de 25 °C a 250 °C, a uma taxa constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL/min).

Figura 31. Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) de filmes blendas de quitosana QH-PVP não-irradiados por luz uv. 2º aquecimento de 25 °C a 250 °C, a uma taxa constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL/min).

As Figuras 30 e 31 mostram as curvas de DSC, segundo aquecimento, de blendas de quitosana QM-PVP e QH-PVP, respectivamente, de modo a eliminar a história térmica de cada amostra (por exemplo, condições de armazenamento em termos de temperatura e umidade). Só foi possível inferir resultados de temperatura de transição vítrea (T_g) nas curvas de DSC de PVP e das blendas QM5 e QH5, ou seja, compostas de 5% de quitosana de e 95% de PVP (m/m). Os valores obtidos de T_g foram 179 °C para a PVP(valor próximo ao do fornecido pelo fabricante, ou seja,

176 °C) ; para as blendas QM5 e QH5, 183 °C e 180 °C, respectivamente. Nas demais curvas de DSC das blendas testadas, não se inferiram valores de T_g .

Existem poucos resultados de T_g de quitosana publicados na literatura, cujos valores são de 150 °C, 161 °C e 203 °C. Utilizando a técnica de DSC, Sakurai e colaboradores (Sakurai et al. 2000) determinaram a T_g de 203 °C de quitosana em testes de blendas de quitosana-PVP, apesar de o estágio da transição endotérmica na curva de DSC obtida ter sido pequeno, o que dificulta inferir valores de T_g confiáveis. Um de seus argumentos é que a mudança da capacidade calorífica correspondente à do volume específico poderia ser pequena na temperatura de transição vítrea, em virtude de as moléculas de quitosana consistirem dos resíduos rígidos de 2-amino-2-deoxi-glicopiranosose (ou resíduos de glicosamina). Segundo Dong. (Dong et al., 2004), estudos de temperatura de transição vítrea (T_g) de quitosana são difíceis de realizar, devido à dificuldade de preparação das amostras e à sua higroscopicidade. Além disso, medições por método de DSC parecem não ser suficientemente sensíveis para detectar a temperatura de relaxação de polissacarídeos. Outros autores citam também não terem conseguido detectar T_g de quitina e quitosana (Kittur et al., 2002).

Temperaturas de eventos de outra natureza, tais como cristalização e fusão, não foram encontradas. Isso pode ser um indicativo da forte predominância de estruturas amorfas nos polímeros (Cervera et al., 2004). PVP é um polímero totalmente amorfo (Nikonovich et al., 2000; Buckton et al., 2006). Todavia é bom ressaltar que quitosanas comerciais brutas ou purificadas, de diferentes origens, contêm uma boa parcela de estrutura cristalina (até ca.70%), conforme dados da literatura registrados em difratogramas de raios X com sinal mais intenso em $2\theta = 20^\circ$ (Signini e Campana Filho, 2001; Jaworska et al., 2003). Quitosana, mesmo sendo um polímero semicristalino, não se funde devido à estrutura muito rígida da cadeia (Risbud & Bhat, 2001) em consequência de muitas ligações de hidrogênio inter- e intramoleculares. Assim, decompõe-se antes de atingir a fusão.

Se partirmos do valor de T_g da PVP nas blendas miscíveis aqui propostas e utilizarmos a equação de Fox para estimar a T_g de cada uma das quitosanas, os valores serão ca. 204 °C para QM e ca.192 °C para QH, com base nas T_g 's das respectivas blendas com 5% de quitosana, registradas a partir das curvas de DSC. Todavia a equação de Fox não prevê interações do tipo ligação de hidrogênio entre os diferentes polímeros nas blendas ou outros fatores que poderiam influenciar a T_g :

pequenas diferenças de DAs das quitosanas, no caso; diferentes índices de polidispersidade, presença de água (Ratto et al., 1995).

Deve-se registrar que neste estudo não foi possível observar a T_g das quitosanas puras, um indicativo de que em blendas imiscíveis ou de alta predominância deste polímero, esta transição também não seria observada. Em blendas ricas de PVP, com 5% de quitosana, entretanto, observou-se uma tendência de aumento de T_g . Além disso, mesmo não se conseguindo obter as T_g 's das demais blendas por DSC, em nenhuma delas se registraram duas T_g 's, o que sugere que são miscíveis.

4.5. Análise termogravimétrica dos filmes de blendas de quitosana-PVP

Termogravimetria (TG) é a técnica de análise térmica em que a variação de massa da amostra (perda ou ganho) é determinada como uma função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. Pode ser usada para estudar um processo físico (por exemplo, a evaporação) ou químico (tal como a degradação térmica), que leva um material a perder massa com eliminação de substâncias voláteis. Os processos que não resultam em uma mudança na massa da amostra não são detectados por TG.

Os polímeros têm estabilidades térmicas diferentes, que podem ser avaliadas por TG, em termos de cinética de decomposição e perdas de massa, utilizando miligramas de amostra (1 a 100 mg). No estudo de blendas poliméricas, a análise termogravimétrica é também uma ferramenta importante para definir sua estabilidade térmica.

Tabela 18. Porcentagem de perda de massa das blendas de quitosana-PVP em diversos estágios, conforme análise termogravimétrica.

		1º estágio		2º estágio		3º estágio	
Tipo	% de	M ^P (%)*	T ^d (°C)**	M ^P (%)	T ^d (°C)	M ^P (%)	T ^d (°C)
	Quitosana na Blenda						
***	0	16,2	25-105	59,5	377-525	-	-
QM	5	17	25-105	66,5	438-519	-	-
	30	15,5	25-105	10,8	268-360	41,7	360-519
	50	12	25-105	15	290-372	29,5	473-525
	70	18,5	25-105	20,7	266-361	19,4	361-512
	95	17	25-105	25	270-372	-	-
	100	18	25-105	31	238-343	-	-
QH	5	18,5	25-105	8,8	298-356	27	443-508
	30	19,9	25-105	10,7	311-404	36,8	421-522
	50	16,3	25-105	15,4	277-358	21	384-501
	70	17,5	25-105	21	268-358	19,7	358-522
	95	16,2	25-105	27	262-370	-	-
	100	16,3	25-105	28	270-361	-	-

* M^P (%): Percentagem de perda de massa

** T^d (°C): Intervalo de temperatura do evento.

*** 100% de PVP.

As Figuras 32 e 33 mostram as curvas de TG de filmes de quitosanas (QM e QH) e PVP não-irradiados, respectivamente. Para maior clareza na marcação das temperaturas de início (onset) e fim da decomposição, estão apresentadas também as curvas das derivadas primeiras de cada TG (DrTG, % de perda/min).

Figura 32. Curvas de TG/DrTG de filmes de quitosanas QM e QH não-irradiados por luz uv (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL/min).

Figura 33. Curvas de TG/DrTG de filme de PVP não-irradiado com luz UV (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL/min).

Os resultados mostram que as quitosanas QM e QH iniciam a decomposição bem antes de PVP, sendo este polímero termicamente mais resistente que ambos os polissacarídeos.

O primeiro estágio de 25 °C – 105 °C foi fixado para evaporação de água e solvente (ácido acético) residuais nas blendas. Entretanto, esse estágio pode ter intervalos de temperaturas mais extensos, ou seja, da ambiente a 200 °C em polímeros hidrofílicos, uma vez que estes podem conter água adsorvida e estrutural (Ping et al., 2001; Tonhi and Plepis, 2002).

PVP começa a degradar-se fortemente aos 377 °C e tem uma perda de massa de 59,5% ao atingir 525 °C. Já quitosana QM comporta-se bem diferentemente de PVP. Seu processo de degradação térmica acentuada inicia-se a 238 °C e, ao atingir 343 °C, apresenta uma perda de massa de 31%. Quitosana QH inicia a degradação a 270 °C e tem perda de massa de 28% aos 361 °C. As diferenças de temperaturas iniciais de decomposição das quitosanas QM e QH devem-se mais provavelmente às diferenças de seus graus de acetilação, pois um DA (QH, 37%; QM, 29% – RMN-¹H) maior implica numa maior estabilidade térmica da quitosana (Cardenas & Miranda, 2004; Nieto et al., 1991).

As Figuras 34 e 35 mostram as curvas de TG de blendas de filmes de quitosana QM-PVP e quitosana QH-PVP não-irradiados, respectivamente. Na Figura 34 as curvas de TGA de PVP, blendas QM5, QM95 e quitosana QM apresentaram dois estágios de perda de massa, sendo um de evaporação de água (processo endotérmico) e outro de decomposição (processo exotérmico). Por outro lado, as curvas de TG das blendas QM30, QM50 e QM70 apresentaram três estágios de perda de massa, sendo um de evaporação de água e dois de decomposição térmica.

Figura 34. Curvas de análise termogravimétrica de filmes de blendas de quitosana QM-PVP não-irradiados (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min), em atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL/min).

Figura 35. Curvas de análise termogravimétrica de filmes de blendas de quitosana **QH-PVP** não-irradiados (aquecimento de 25 °C a 600 °C, a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C /min, em atmosfera dinâmica de N₂ de 100 mL/min).

Com relação à Figura 35 os perfis das curvas de TG das blendas de quitosana QH-PVP são muito similares aos das de quitosana QM-PVP de proporções equivalentes (Figura 34). A blenda QH5, diferentemente da QM5, apresentou três estágios de perda de massa: um de evaporação de água e dois de decomposição. Todos os intervalos de temperaturas dos estágios de perda de massa das blendas e os valores percentuais das perdas estão listados na Tabela 18.

Os perfis das curvas de TG mostram que PVP é termicamente mais estável do que as quitosanas. A estabilidade térmica destas é favorecida com o aumento da parcela de PVP nas blendas. Quanto à identificação de produtos oriundos da decomposição térmica de quitosana e PVP, pouco se sabe a respeito do mecanismo de sua formação. No caso da quitosana, estudos de pirólise por Bengisu & Yilmaz (Bengisu & Yilmaz, 2002) para produção de fibra de carbono confirmam a decomposição do anel piranosídico por desidratação e desaminação parciais. No estágio de oxidação, ocorre alguma formação de éster e aromáticos. Mattai e Hayes (Mattai and Hayes, 1982), numa publicação sobre pirólise de quitina e quitosana, acompanhada de espectrometria de massas (MS), relatam a formação de monômeros *N*-D-glicosamina e *N*-acetil-D-glicosamina com o rompimento das ligações glicosídicas dos políssacarídeos. Sobre produtos de degradação térmica de PVP devidamente identificados, poucas informações foram obtidas da literatura. Num trabalho de Schmiere e colaboradores (Schmiere et al., 1999) sobre a pirólise

de polímeros N-heterocíclicos, PVP inicia a decomposição por desidratação a temperaturas abaixo de 300°C, segundo a reação:

Esquema 4. Reação de desidratação de PVP.

Outros produtos de degradação de PVP até 600 °C não foram mencionados.

4.6. Permeação de Água através de Filmes de Blendas de Quitosana-PVP

Testes de transmissão de vapor de água de filmes poliméricos são importantes para avaliar seu desempenho em ambientes de alta umidade relativa ou que sofrem variações bruscas de umidade e temperatura. Os polímeros que apresentam baixa permeabilidade são denominados polímeros de barreira. Sua principal aplicação é na indústria de embalagem, especialmente de alimentos e bebidas. Dependendo da taxa de transmissão de vapor de água, seu uso estende-se também a revestimentos de fármacos e curativos de ferimentos.

A Tabela 19 mostra os resultados dos testes de WVT de filmes de PVP, quitosana e blendas de quitosana não-irradiados e irradiados por luz UV. Com base nesses resultados foram feitos gráficos apresentados nas Figuras 37 e 38.

Tabela 19. Transmissão de vapor de água de filmes de PVP, quitosana e blendas de quitosana-PVP não-irradiados e irradiados por luz UV, controlada a cada 24 h, no período de 120 h.

	Transmissão de vapor de água média (mg _{H2O} ×mm×cm ⁻²)*				
	24h	48h	72h	96h	120h
PVP	1,9 ± 0,2	3,5 ± 0,4	4,9 ± 0,4	6,2 ± 0,3	7,5 ± 0,2
PVP _{uv}	2,0 ± 0,1	3,9 ± 0,5	5,1 ± 0,4	6,4 ± 0,2	7,6 ± 0,1
QM5	1,9 ± 0,9	3,5 ± 0,2	5,4 ± 0,8	6,3 ± 0,2	7,5 ± 0,1
QM5 _{uv}	2,0 ± 0,4	3,9 ± 0,4	5,2 ± 0,9	6,5 ± 0,1	7,7 ± 0,6
QH5	1,9 ± 0,4	3,6 ± 0,5	4,9 ± 0,3	6,2 ± 0,2	7,4 ± 0,4
QH5 _{uv}	2,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1	4,6 ± 0,2	5,9 ± 0,4	7,2 ± 0,6
QM30	1,8 ± 0,6	3,8 ± 0,6	4,7 ± 0,2	5,9 ± 0,1	7,1 ± 0,1
QM30 _{uv}	1,8 ± 0,2	3,5 ± 0,2	4,8 ± 0,9	6,1 ± 0,8	7,3 ± 0,2
QH30	1,7 ± 0,2	3,3 ± 0,1	4,7 ± 0,2	6,1 ± 0,2	7,5 ± 0,3
QH30 _{uv}	1,8 ± 0,9	4,2 ± 1,3	5,0 ± 0,7	6,3 ± 0,4	7,0 ± 1,3
QM50	1,7 ± 0,1	4,2 ± 1,8	4,5 ± 0,3	5,8 ± 0,3	7,1 ± 0,4
QM50 _{uv}	1,8 ± 0,1	3,3 ± 0,1	4,6 ± 0,2	6,0 ± 0,2	7,4 ± 0,3
QH50	1,8 ± 0,1	3,4 ± 0,1	4,8 ± 0,1	6,2 ± 0,1	7,7 ± 1,2
QH50 _{uv}	1,9 ± 0,1	3,4 ± 0,0	4,7 ± 0,1	6,2 ± 0,2	7,6 ± 0,2
QM	1,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	3,9 ± 0,6	4,7 ± 0,2	5,9 ± 0,2
QM _{uv}	1,6 ± 0,0	2,3 ± 1,2	4,3 ± 0,1	5,7 ± 0,1	7,0 ± 0,1
QH	1,3 ± 0,0	2,5 ± 0,1	4,3 ± 1,3	4,8 ± 0,1	6,7 ± 1,2
QH _{uv}	1,2 ± 0,1	4,0 ± 2,4	3,8 ± 0,1	4,7 ± 0,1	6,0 ± 0,1

* Ensaios realizados a temperatura de 23 ± 2 °C e umidade relativa de 73 ± 2 %,

Figura 36. Transmissão de vapor de água de filmes de quitosana e de blendas de quitosana-PVP não-irradiados e irradiados por luz UV.

Figura 37. Transmissão de vapor de água de filmes de quitosana e de blendas de quitosana-PVP não-irradiados e irradiados por luz UV.

Os gráficos (Figuras 36 e 37) foram feitos a partir dos dados contidos na Tabela 19. A transmissão de vapor de água mostra, de modo geral, uma tendência de aumento linear em todos os filmes, ao longo de 120 h de exposição ao vapor de água. Eventos de dessorção de água são, também, possíveis ao longo do processo.

Tabela 20. Taxa de transmissão de vapor de água de filmes de blendas de quitosana –PVP não-irradiados e irradiados por luz uv (amostras com índice uv)

Amostra	Espessura média (mm)	B (g/d)	WVTR1 (g H ₂ O m ⁻² d ⁻¹)	WVTR2 (g.H ₂ O x mm x m ⁻² d ⁻¹)	R	p
PVP	0,024 ± 0,003	0,6230	496	12	0,9994	<0,0001
PVPuv	0,021 ± 0,002	0,6287	500	11	0,9993	<0,0001
QM5	0,030 ± 0,003	0,6318	503	15	0,9993	<0,0001
QM5uv	0,032 ± 0,004	0,5744	457	15	0,9954	<0,0001
QH5	0,034 ± 0,004	0,6647	529	18	0,9990	<0,0001
QH5uv	0,024 ± 0,003	0,6308	502	12	0,9996	<0,0001
QM30	0,028 ± 0,003	0,6007	478	13	0,9993	<0,0001
QM30uv	0,028 ± 0,005	0,6486	516	14	0,9995	<0,0001
QH30	0,028 ± 0,004	0,6542	520	15	0,9998	<0,0001
QH30uv	0,026 ± 0,006	0,6678	531	14	0,9997	<0,0001
QM50	0,024 ± 0,002	0,6124	487	12	0,9994	<0,0001
QM50uv	0,028 ± 0,003	0,6311	502	14	0,9996	<0,0001
QH50	0,024 ± 0,003	0,6419	511	12	0,9997	<0,0001
QH50uv	0,028 ± 0,003	0,6340	504	13	0,9993	<0,0001
QM	0,024 ± 0,003	0,5139	409	10	0,9998	<0,0001
QMuv	0,025 ± 0,003	0,6083	483	12	0,9999	<0,0001
QH	0,028 ± 0,002	0,5229	416	12	0,9997	<0,0001
QHuv	0,026 ± 0,003	0,5638	449	12	0,9999	<0,0001

WVTR1: sem incorporar espessura média do filme no cálculo; WVTR2 : com incorporação da espessura média do filme no cálculo; B: inclinação da linha, em g/d; R: coeficiente de regressão; p : significância estatística.

A permeabilidade de um filme é uma constante que deveria ser independente da pressão da transmissão de vapor de água. Todavia não é uma constante para filmes hidrofílicos (Miranda *et al.*, 2004). Quitosana e PVP são polímeros hidrofílicos. Quando seus filmes são expostos em ambientes de umidade crescente, intumescem em alguma extensão. O intumescimento causa mudanças de microestrutura conformacional da película com conseqüente aumento de sorção da umidade e criação de canaletas na estrutura polimérica. Isso permite o aumento no fluxo de permeação (Miranda *et al.*, 2004). O intumescimento resulta também em

desvios da lei de Fick. Uma consequência do intumescimento são as mudanças que ocorrem na estrutura do polímero, em resposta às tensões geradas dentro do filme durante a sorção. Esse aumento da solubilidade do vapor de água leva a um aumento na sua permeabilidade. O vapor de água comporta-se como um plastificante dentro das matrizes dos filmes (Wiles *et al.*, 2000) de quitosana, PVP e das respectivas blends.

A taxa de transmissão de vapor (WVTR) foi calculada a partir da regressão linear da inclinação do peso ganho no recipiente de teste *versus* o tempo e dividindo a inclinação pela área dos filmes exposta ($12,57 \text{ cm}^2$).

O mecanismo para transporte de água através de filmes hidrofílicos como filmes de quitosana é extremamente complexo. A complexidade é devida às isotermas de sorção de água não-lineares e às difusividades dependentes do conteúdo de água (Schwartzberg, 1986). A transmissão de vapor de água de filmes hidrofílicos varia não-linearmente com a pressão parcial do vapor de água. Se os filmes forem catiônicos e fortemente hidrofílicos, a água interage com a matriz do polímero e aumenta a permeação do vapor de água. (Pascat, 1986). Muzzarelli (Muzzarelli *et al.*, 1974) reportou uma WVTR de $1200 \text{ g/m}^2/\text{d}$ a ca. 38°C e 90% umidade relativa (RH), em testes de membranas de quitosana de espessura de $0,020 \text{ mm}$. No nosso trabalho, o acompanhamento da transmissão de vapor foi feito por medição gravimétrica da água adsorvida pela sílica gel a cada 24 h, com o aumento do peso do conjunto copo (frasco plástico) – sílica gel, num período de 120 h, a $23 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $73 \pm 2\%$. A fórmula utilizada para os cálculos não relaciona a pressão parcial (mmHg) do vapor de água a uma dada temperatura e umidade relativa. A espessura do filme está incorporada na fórmula (Equação.9).

O comportamento dos filmes na transmissão de vapor de água (WVT) apresentou características muito lineares. A taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) foi calculada por regressão linear, utilizando o programa Origin 6. Um gráfico de peso ganho *versus* o tempo foi utilizado para determinar a WVTR. A inclinação da parte linear do gráfico representa a quantidade de vapor de água em estado estacionário que difunde através do filme por unidade de tempo (g/h ou $\text{g/dia} = \text{g/d}$). As curvas (linhas) obtidas sinalizam muito bem essa linearidade, com coeficientes de regressão $> 0,99$ e $p < 0,0001$, sendo que $p < 0,05$ foi utilizado como nível de significância.

Nos nossos experimentos, verificou-se que a radiação UV aumenta a hidrofiliidade dos filmes de quitosana e, conseqüentemente, sua WVTR (Tabela

20). Isso é devido, em parte, à ocorrência de reações de fotólise, fotooxidação dos filmes, com formação de produtos mais solúveis ou intumescíveis em água. Na quitosana QM, este efeito é mais pronunciado. Os filmes de PVP não-irradiados e irradiados por luz UV apresentaram WVTRs muito próximas. Nas blendas de quitosana-PVP irradiadas com luz UV, as respectivas WVTRs podem aumentar ou diminuir em relação às das blendas não-irradiadas. Aqui se devem também levar em conta os fatores espessura e reticulação parcial dos filmes irradiados (reticulação mais provável da PVP).

As taxas de transmissão de vapor obtidas em nossos experimentos mostram que os filmes de quitosana e das blendas de quitosana e PVP podem ter aplicação como filmes comestíveis ou matrizes poliméricas para liberação controlada de fármacos. Poderiam ter também alguma aplicação como curativos de ferimentos mais simples, com base em valores de hidrogéis usados nessa aplicação. Segundo Pal (Pal et al., 2007), a taxa da transmissão do vapor de água (WVTR) em um curativo de ferida úmida tem um papel importante no processo de cura e cicatrização. A literatura sugere que os materiais para curativo de ferida úmida devem ser retentores de umidade, ou seja, devem ter uma WVTR $< 37 \text{ g/m}^2/\text{h}$. Para ferimentos e queimaduras mais graves, onde ocorre formação de muito exsudado, o hidrogel, além de ter uma capacidade de absorção do exsudado, deve ter uma WVTR de $2000 - 2500 \text{ g/m}^2/\text{d}$ (Yoo and Kim, 2007), o suficiente para não desidratar o ferimento.

4.7. Testes de Difração de Raios X

As Figuras 39, 40 e 41 mostram os difratogramas de raios X de PVP, blenda QH50 e quitosana QH, respectivamente. Os resultados obtidos de índices de cristalinidade das três amostras estão registrados na Tabela 21. Foram calculados a partir de intensidades de picos a ângulos $2\theta \approx 20^\circ$ e $2\theta \approx 12^\circ$ para as regiões cristalinas e amorfas, respectivamente. Nos cálculos, utilizou-se a equação (Focher et al, 1990):

$$\%I_{cr} = \left(\frac{I_c - I_{am}}{I_c} \right) \times 100$$

Equação 20

em que % I_{cr} é o índice de cristalinidade; I_c e I_{am} são as intensidades difratadas relativas às regiões cristalinas ($2\theta \approx 20^\circ$) e amorfas ($2\theta \approx 12^\circ$), respectivamente.

Tabela 21. Índices de cristalinidade (I_{cr}) de quitosana QH, PVP e blenda QH50.

Amostra	I_{cr} (%)
PVP	12,0
Quitosana QH50	23,0
Quitosana QH	28,0

Figura 38. Difratograma de PVP. **Figura 39.** Difratograma da blenda QH50.

Figura 40. Difratoograma de quitosana QH.

Segundo Nikonovich *et al.* (2000), PVP é um polímero amorfo. Em seu trabalho de blendas de quitosana sintetizada da quitina de caranguejo industrial e de PVP em soluções de ácido acético, o estudo de raios X mostrou que todas as amostras testadas, não obstante a composição, produzem padrões com alargamentos de picos na escala $2\theta = 19-20^\circ$ da região cristalina, que são devidos à influência de PVP, que tem um máximo nesta escala. Isto indica que as misturas de quitosana-PVP são amorfas. PVP nas blendas com quitosana influencia substancialmente a capacidade da última de cristalizar-se. Mesmo com um pouco de quitosana, os máximos de difração característicos de quitosana não são evidentes em nenhuma razão de componentes na blenda.

Os resultados de I_{cr} na tabela 21 e os perfis dos difratogramas de PVP (Figura 38) da blenda QM50 (Figura 39) concordam, em parte, com o relato de Nikonovich e colaboradores. Surpreendentemente, a PVP apresentou um índice de cristalinidade baixo (12,0%), calculado por intensidade de pico. Sakurai (Sakurai *et al.*, 2000) reporta a presença de cristalinidade em PVP e quitosana sem quantificá-la. O índice de cristalinidade da quitosana QH encontrado foi também baixo, se comparado ao que é reportado na literatura em geral (Jaworska *et al.*, 2003; Campana-Filho *et al.*, 2001); o da blenda QH50 mostrou que PVP interfere, sim, na cristalização da quitosana, de acordo com o resultado apresentado na Tabela 21.

A cristalinidade da quitosana depende de vários parâmetros, tais como: origem, grau de acetilação, processo de dissolução e outros (Jaworska *et al.*, 2003). Quanto mais alto for o grau de acetilação da quitosana, mais alta será sua cristalinidade. Os resultados dos testes de XRD das três amostras (PVP, blenda QH50 e quitosana QH) apontam mais para materiais poliméricos com características

amorfas. Em geral, os resultados de I_{cr} obtidos com base na Equação 20 são superiores aos calculados por área (Jaworska *et al.*, 2003), que também apresentam divergências. A nossa idéia aqui era mais fazer uma avaliação qualitativa dos difratogramas de raios X das três amostras e observar a influência de PVP (considerada amorfa) na cristalinidade da quitosana QH presente na blenda de ambos os polímeros. A tentativa de avaliar os índices de cristalinidade por área foi dificultada, devido à qualidade insatisfatória dos difratogramas.

4.8. Hidrogéis a Partir de Co-Soluções de Quitosana-PVP, Induzidos por Radiação UV

Neste capítulo, discutiremos as tentativas de obtenção de hidrogéis a partir de um processo alternativo ao já apresentado. Diferente da abordagem anterior, a irradiação não será processada a partir de blendas secas, mas de co-soluções de quitosana e PVP, em concentrações relativamente diluídas, isto é, ca. 2-4% (m/v). Como veremos, os resultados podem ser distintos. Além disso, é vital conhecer processos alternativos de preparo destes hidrogéis em vista da variedade de possíveis aplicações destes materiais.

4.8.1. Hidrogéis de soluções de quitosana a 2% (m/v) em ácido acético diluído com água a 2% (v/v)

Mostraremos, a seguir, as tentativas de obtenção de hidrogéis a partir de quitosana pura. Há que se explicar que as concentrações utilizadas refletem aquelas utilizadas nas co-soluções. Em ambos os casos, as baixas concentrações utilizadas são devidas à tendência de elevação da viscosidade da quitosana a concentrações acima de 2% (m/v), mesmo em meio contendo ácido acético, o que dificulta sua aplicação.

Soluções de quitosana QM e QH a 2% (m/v), expostas à irradiação UV_{254 nm} em tempos de 4h, 5h e 6 h, não apresentaram formação de hidrogéis ou um aumento de viscosidade das amostras. Pelo contrário, após os testes, houve diminuição de viscosidade (não foi medida), perceptível no escoamento das soluções, ao serem removidas dos tubos de quartzo em que foram colocadas para

os testes. Isso é um forte indicativo de degradação dos polímeros e não-reticulação (se houve reticulação induzida pela radiação UV, deve ter sido mínima e ainda competindo com a degradação dos polímeros em possíveis oligômeros e outros subprodutos) (Andray et.al., 1998).

Hidrogéis de quitosana, obtidos por indução de radiação UV, já foram mencionados em vários trabalhos a partir de quitosana modificada com grupo fotorreativo. Um exemplo típico é a quitosana denominada na literatura Az-CH-LA (Ifkovits and Burdick, 2007; Ono et al., 1999; Ishihara et al., 1996). Esta contém na cadeia partes azida (do ácido p-azidobenzóico) e lactose (do ácido lactobiônico), respectivamente, Az e LA, introduzidas para fotorreticulação. Esse tipo de quitosana forma hidrogéis para aplicação em cirurgias e liberação controlada de fármacos. A fotorreticulação pode ser realizada em tempos curtos, de poucos segundos ou minutos.

4.8.2. Hidrogéis a partir de soluções de PVP a 2% irradiadas com luz UV_{254 nm}

Assim como no caso da quitosana, testamos a produção de hidrogéis a partir de soluções de PVP nas mesmas condições utilizadas para as co-soluções. Há que se salientar que, ainda que tais processos sejam conhecidos pelo grupo, nunca se utilizaram tais condições. Muito ao contrário, tinha-se uma vaga compreensão de que hidrogéis de PVP não eram possíveis de ser formados nestas concentrações tão baixas.

Amostras de solução de PVP aquosa a 2% (m/v) e de solução de PVPác aquosa a 2% (m/v) foram irradiadas diretamente por luz UV_{254 nm}, durante 4h a 30 °C. Dos hidrogéis obtidos foram feitos testes de fração gel e índice de intumescimento. O termo PVPác foi dado à PVP a 2% (m/v) dissolvida em solução de ácido acético aquosa a 2%(v/v). Esta solução polimérica passou a ser preferencialmente utilizada ao longo do trabalho, devido a um melhor desempenho apresentado no processo de reticulação induzida pela luz UV. Com PVP dissolvida em água destilada ou deionizada a 2% (m/v), os resultados de frações gel têm sido inferiores aos de PVPác (Tabela 22).

Tabela 22. Fração gel e índice de intumescimento de hidrogéis de soluções de PVP a 2% irradiadas com luz UV_{254 nm} a 30 °C, durante 4 h.

Amostra	Índice de intumescimento*	Fração gel (%)**
Solução de PVP neutra	220 ± 50	51 ± 4
Solução de PVP ácida	190 ± 30	59 ± 6

* após 48 de imersão do gel em H₂O Milli-Q, à temperatura ambiente.

** após 24 de extração Soxhlet em H₂O Milli-Q.

A Tabela 22 mostra os índices de intumescimento e as frações gel médios dos hidrogéis obtidos com as duas soluções de PVP, feitas em triplicatas. As frações gel da solução de PVP ácida foram ca. 20 % superior à de PVP neutra, caracterizando assim uma maior densidade de reticulação no sistema e, conseqüentemente, um índice de intumescimento menor.

4.8.3. Hidrogéis a partir de soluções de PVP irradiadas com luz UV_{254 nm}, analisados através de planejamento fatorial

A idéia de fazer um planejamento fatorial surgiu principalmente para avaliar a influência do uso de ácido acético na fração gel do hidrogel induzido pela radiação UV, usando soluções de PVP mais concentradas. O planejamento fatorial é uma ferramenta muito útil em pesquisa básica e tecnológica. É classificado como um método do tipo simultâneo, no qual as variáveis que influenciam significativamente a resposta são avaliadas ao mesmo tempo. É uma metodologia que pode ajudar a direcionar melhor projetos de pesquisa e experimentos que envolvem muitas variáveis e que necessitam de uma resposta preliminar rápida para seu prosseguimento. O planejamento fatorial traz, portanto, economia de tempo.

Para se confirmar a influência do ácido acético na fração gel de PVP escolheram-se três variáveis (3 fatores) com dois níveis diferentes (um inferior e um superior) para o estudo: concentração de PVP, concentração de ácido acético e tempo de exposição à luz UV, o que redundou num planejamento fatorial do tipo 2³, com um número de oito experimentos diferentes. A escolha das concentrações de PVP de 4% (m/v) e 8% (m/v) – correspondentes aos níveis inferior e superior, respectivamente – foi devida ao uso de concentrações 8% ou acima de 8% de PVP já exploradas em trabalhos anteriores do grupo, utilizando somente soluções de PVP aquosas sem adição de ácido acético para obtenção de hidrogéis induzidos pela radiação UV (Lopérgolo et al., 2003; Fachine et al., 2004).

Tabela 23. Fatores de níveis das variáveis independentes

Variáveis Independentes	Legenda	Nível Inferior (-1)	Nível Superior (+1)
[PVP] (g/L)	x	40	80
% Ácido acético	y	1	3
Horas de exposição	z	1	4

Tabela 24. Resultados para fração gel do planejamento fatorial.

Variáveis Limites*			Fração gel (%)
x	y	z	
1	1	1	77,8 ± 2
1	1	-1	40 ± 3
1	-1	1	80 ± 2
1	-1	-1	0 ± 0
-1	1	1	86,4 ± 0,9
-1	1	-1	55 ± 2
-1	-1	1	72 ± 4
-1	-1	-1	0 ± 0

* Observar a tabela anterior para identificar os valores legendados e os valores limites.

A Tabela 24 contém as variáveis limites e os resultados de fração gel. A cada variável foram atribuídos índices -1 e +1, correspondentes ao valor baixo e ao alto, respectivamente. A fração gel (FG) é a razão da massa de polímero reticulado seco após extração em algum solvente e a massa do polímero utilizada antes da reticulação. A FG depende diretamente do grau de reticulação num sistema polimérico.

Tabela 25. Resultados dos principais efeitos para fração gel e suas interações.

Principais Efeitos na Fração gel (%)	
[PVP] (x)	0,06
% de ácido acético (y)	-0,41
Horas de exposição (z)	-0,84
x – y	-0,12
x – z	0,05
y – z	-0,32
x – y – z	0,005

A Tabela 25 contém os principais efeitos das variáveis independentes e de suas combinações respectivas. Foram calculados usando o programa Statistica, versão 6 para *Windows*. Efeitos são "a mudança ocorrida na resposta, quando se move do nível baixo (-) para o nível alto (+)" das variáveis independentes do sistema. Quando aumentado, indica-se pelo sinal positivo (+); quando diminuído, pelo sinal negativo (-). De acordo com os dados apresentados na Tabela 16, o efeito principal mais relevante é a concentração de PVP. Nas combinações de efeitos, o tempo de exposição da solução de PVP à radiação UV é o fator que mais influencia positivamente no resultado da fração gel, seguido pela concentração do ácido acético e, por último, a concentração de PVP.

Tabela 26. F-teste e probabilidade (valor-p) para fração gel.

Variáveis e Combinações	F-teste*	Probabilidade (valor-p)
[PVP] (x)	28	$1,99 \times 10^{-5}$
% Ácido acético (y)	1331,5	0
Horas de exposição (z)	5531,3	0
x – y	107,78	$2,35 \times 10^{-10}$
x – z	21,22	$1,13 \times 10^{-4}$
y – z	792,58	0
x – y – z	0,23	$6,33 \times 10^{-1}$

* F teórico (F_0) = 1116,1 para $\alpha = 0,05$ e grau de liberdade (df) = 31

Na Tabela 26 estão representados os valores de F-teste e probabilidade (valor-p), obtidos através do programa estatístico ANOVA. Uma variável é

considerada estatisticamente significativa quando possui um alto valor de F e um baixo valor de p.

De acordo com os dados na Tabela 5, os valores de F e p corroboram a afirmação sobre a ordem de influência das variáveis na fração gel, na abordagem sobre os dados da Tabela 25 acima. A interação [HAc]-tempo de exposição (H de exp) é o principal efeito na análise da fração gel. O melhor resultado de fração gel do hidrogel obtido foi de $86,4 \pm 0,9$ (Tabela 24): [PVP] = 40 gL^{-1} , [HAc] = 3 % (v/v) e H de exp = 4 h.

Os sinais + e - nas equações nas Figuras 41, 42, 43 e 44 indicam efeitos positivos e negativos da variável sobre as respostas, respectivamente; o primeiro valor (o intercepto) em cada equação representa o valor médio.

$$\% \text{ gel} = 51,4822 - 1,9597 * x + 13,5134 * y$$

Figura 41. Superfície de resposta de fração gel mantendo tempo de exposição (h) (H de exp) em seu valor máximo.

A Figura 42 mostra que, quando o tempo de exposição à radiação UV é mantido no nível alto (4 h), os melhores resultados ocorrem no nível alto (3%) de concentração de ácido acético e no nível baixo (40 g/L) de concentração de PVP.

Figura 42. Superfície de resposta de fração gel mantendo % HAc em seu valor máximo.

Figura 43. Superfície de resposta de fração gel mantendo [PVP] em seu valor mínimo.

A Figura 43 mostra que se consegue a maior fração gel quando o tempo de exposição à radiação UV é mantido no nível alto, a concentração de ácido acético no nível alto e a de PVP no nível baixo.

Os sinais nas equações nas figuras indicam que efeitos positivos e negativos da variável sobre as respostas, respectivamente. O primeiro valor (o intercepto) em cada equação representa o valor médio.

Em se tratando reticulação de soluções aquosas de polímeros a baixas concentrações, a distância entre as cadeias das macromoléculas aumenta, e estas tendem a se enovelar. Então a recombinação de macrorradicais livres ocorrerá preferencialmente por via intramolecular, sem aumento expressivo da massa molecular do sistema reticulado. Em estudos de degradação e reticulação de soluções aquosas de PVP a baixas concentrações, induzida por radiação de alta energia (feixe de elétrons), Rosiak e colaboradores (Rosiak et al., 1990) verificaram que, dentre as cinco posições de abstração de H da PVP pelo radical.OH (originado da radiólise da água) e formação conseqüente de macrorradicais de PVP, duas posições α relativas a N são preferidas (Figura 44).

Figura 44. Macrorradicais mais prováveis de PVP em solução aquosa, formados através de radiação de alta energia (adaptação de Rosiak et al., 1990).

Na fotorreticulação de solução aquosa de PVP induzida por irradiação UV, o Esquema 5 mostra o mecanismo de formação de possíveis macrorradicais livres após clivagem α à carbonila fotoexcitada (intermediários 2C e 3C, respectivamente) ou da sua fotorredução (intermediário 1C; Fachine et al., 2006).

Esquema 5. (A) PVP; (B) PVP excitada pela irradiação UV; 1C, 2C e 3C: possíveis macrorradicais livres (Adaptação do Esquema 1, Fechine et al., 2006).

4.9. Hidrogéis a Partir de Misturas de Co-Soluções de Quitosana a 2% (m/v) e PVP a 2% (m/v)

No início deste capítulo, comentou-se sobre a não-obtenção de hidrogéis irradiando diretamente luz UV_{254nm} nas soluções de quitosana a 2% (m/v), por 4 h a 30°C. A formação de hidrogéis induzidos por radiação UV diretamente sobre soluções de PVP aquosas já foi demonstrada, com base em vários experimentos do grupo. Uma nova alternativa foi, então, tentar a obtenção de hidrogéis a partir de misturas das co-soluções de quitosana e co-solução de PVP, em várias proporções, irradiando-as, a seguir, com luz UV, às mesmas condições de tempo e temperatura utilizadas na obtenção de hidrogéis de PVP.

Os hidrogéis formados após 4 h de irradiação UV_{254 nm} diretamente sobre as misturas de co-soluções dos polímeros a 30°C são transparentes e com muitas bolhas internas. Estas bolhas, que não existem no início da reação, são resultadas de gases formados nas reações de fotólise. Por exemplo, os radicais 2C e 3C (Esquema 5) podem perder monóxido de carbono. Outra explicação seria a diminuição do volume molar total, promovido pela reticulação. Esta diminuição de volume é compensada pela formação de bolhas de vapor do solvente.

Os resultados de fração gel, após extração Soxhlet durante 24 h, e os de índice de intumescimento em água deionizada (48 h de imersão, às condições ambientes) encontram-se na Tabela 27.

Tabela 27. Frações gel e índices de intumescimento médios de hidrogéis obtidos de co-soluções de quitosana-PVP.

Hidrogel*	Fração gel (%)**	Índice de intumescimento***
PVPác	63 ± 8	250 ± 50
QM5	76 ± 4	240 ± 30
QH5	88 ± 3	160 ± 30
QM20	70 ± 5	280 ± 30
QH20	51 ± 7	430 ± 120
QM30	26 ± 8	740 ± 210
QH30	41 ± 7	490 ± 120

* Os números 5, 20 e 30 à direita de QH e QM das amostras dos hidrogéis referem-se à % de quitosana em massa participante no sistema polimérico totalmente seco.

** Extração em Soxhlet por 24 horas.

*** Em água deionizada, imersão por 48 horas a 23°C.

Ao longo dos experimentos, verificou-se que só se consegue obter hidrogéis das misturas de co-soluções a 2% de polímero (m/v), durante 4h de irradiação UV_{254 nm}, até a proporção de 30% de quitosana e 70% de PVP ác.(m/m). Neste caso, o hidrogel formado ainda apresenta uma boa consistência gelatinosa. Em situações onde a proporção de quitosana é maior do que 30%, e mesmo elevando o tempo de irradiação para 5 e 6 h, não se obtiveram hidrogéis consistentes.

Com base nos resultados mostrados na Tabela 27, a Figura 45 apresenta os perfis de frações gel e índices de intumescimento dos hidrogéis obtidos das misturas das soluções poliméricas contendo parcelas 5, 20 e 30% de quitosana.

Figura 45. Frações gel e índices de intumescimento médios de hidrogéis de misturas de co-soluções de quitosana a 2%(m/v) e PVP a 2%(m/v)

Na Figura 45, observa-se que as frações gel aumentam com o aumento da parcela de PVP na blenda, enquanto que ocorre o contrário para o índice de intumescimento. Os resultados são bastante coerentes com o esperado, demonstrando que PVP é prioritariamente o polímero reticulado no sistema. Assim, uma maior parcela de PVP na blenda eleva a probabilidade de reticulação induzida pela irradiação UV e, conseqüentemente, forma um sistema com maior densidade de reticulação e menos intumescível em água. PVPác, usada como referência, apresentou uma maior densidade de reticulação e um menor índice de intumescimento.

É interessante mencionar que Zhao e colaboradores (Zhao et al., 2006), ao prepararem hidrogéis de PVP- CM-quitosana (carboximetilquitosana) utilizando, no processo, irradiação de feixes de elétrons à temperatura ambiente, comentaram que a irradiação não pôde induzir a reticulação da CM-quitosana em soluções aquosas com baixa concentração do polímero (abaixo de 10%). Nesse estudo, verificaram que macrorradicais de PVP facilmente reagem com outras moléculas de PVP para formar uma rede de PVP entrecruzada, enquanto que os macrorradicais de CM-quitosana ficam distantes uns dos outros e separados por moléculas de água e PVP. Entretanto, esses macrorradicais foram capazes de entrar em contato com as cadeias de PVP em volta e enxertar-se, portanto, na rede de PVP.

Com relação à reticulação das co-soluções de quitosana-PVP, deve-se levar em conta que se trata simplesmente de uma mistura de dois polímeros dissolvidos num solvente comum, sem grupos modificadores fotopolimerizáveis/fotorreativos ligados a suas cadeias e algum fotoiniciador ou agente de reticulação na mistura. Todo o processo de reticulação vai depender, portanto, da formação de macrorradicais de PVP e recombinação destes. Não se trata de um mecanismo simples, uma vez que tais macrorradicais poderiam, a princípio, reagir também com a quitosana, gerando, por exemplo, ramificações na sua cadeia ou outros derivados.

A reticulação de PVP induzida pela radiação UV deve originar-se de recombinação de macrorradicais livres deste polímero originados de reações de fotólise conforme o Esquema 5, englobando as reações mais prováveis.

Quanto à quitosana, não foi convincente a sua reticulação induzida por radiação UV. A maior probabilidade é que ocorra a sua degradação quando exposta a esse tipo de radiação. Alguns autores (Sionkowska et al., 2005) propuseram mecanismos de reticulação, degradação e enxertia para filmes de quitosana expostos à radiação UV, utilizando rotas um tanto esdrúxulas. Entretanto, só em parte, concordamos com a proposta de Sionkowska. A nossa proposta sugere reações mais prováveis e com rotas mais simples, conforme Esquemas 6 e 7.

Esquema 6. Formação de radical a partir de quitosana parcialmente desacetilada.

Esquema 7. Formação de radicais de quitosana.

No Esquema 7 temos a formação dos mais prováveis macrorradicais, A, B, C e D. A partir do macrorradical D, pode-se obter produtos de quebra de cadeia, tais como E (lactona) e F (terminação de uma das extremidades da cadeia com grupo glucosamina). Rota semelhante deve seguir o radical A, enquanto os radicais B e C podem-se decompor, gerando produtos de abertura de anel. Há de se salientar que este esquema simplificado não considera os caminhos oxidativos, através da reação destes radicais com O_2 .

Vários estudos fotoquímicos de quitosana têm mostrado que esse polímero é sensível e fotodegradável sob irradiação de luz UV (S. Trzciński, 2006; J.M. Wasikiewicz et al., 2005). A fotodegradação gera oligômeros, dentre os quais muitos são solúveis em água.

Estudos recentes de degradação de quitosana por radiação de alta energia, agente químico oxidante combinado com microonda (Sun et al., 2006), agente químico oxidante combinado com radiação de alta energia (Kang et al., 2007) têm demonstrado a formação de oligômeros nesses processos. No trabalho de Sun e co-autores (Sun et al., 2006), demonstrou-se que oligômeros de quitosana podem agir como antioxidantes ou supressores de radicais livres (*scavengers*) frente ao ânion superóxido e ao radical hidroxila. Quitosana e derivados de quitosana com

atividade antioxidante têm despertado interesse de estudo por muitos pesquisadores do ramo de química de alimentos (No et al., 2007) e outros (Xing et al., 2005).

A limitação de se conseguir hidrogéis de misturas de soluções aquosas diluídas de quitosana e PVP irradiadas por luz UV, com parcela acima de 30% de quitosana, é, portanto, devida a uma reatividade similar ao observado por Zhao e colaboradores (Zhao et al., 2006). Esses polímeros e oligômeros poderiam estar agindo como supressores de radicais livres e dificultando a reticulação da PVP, levando a produtos com reticulação insuficiente para formar hidrogéis.

4.9.1. Microscopia eletrônica de varredura de hidrogéis formados de co-soluções de quitosana-PVP

A microscopia eletrônica de varredura pode informar bastante da morfologia do hidrogel seco, desde que este tenha tido um tratamento prévio adequado, com a finalidade manter sua estrutura porosa após a evaporação da água. Um dos tratamentos mais utilizados é o criogênico (imersão do hidrogel em N₂ líquido, por exemplo), seguido por liofilização.

Amostras de hidrogéis resultantes de misturas de solução de PVP^{ác} e soluções de quitosana foram tratadas criogenicamente em N₂ líquido e, a seguir, liofilizadas para tentar manter sua estrutura porosa depois de desidratadas. Foram recobertas com ouro para os testes de MEV num microscópio eletrônico modelo FEG7401F da Jeol. As Figuras 46 e 47 mostram as morfologias dos hidrogéis liofilizados.

Figura 46. Membranas de hidrogéis de PVP induzidos por radiação $UV_{254\text{ nm}}$ durante 4 horas a 30°C a partir de (a) solução aquosa de PVP a 2% (m/v) em HAc a 2% (v/v) e (b) solução de PVP a 2% (m/v) em água deionizada.

Figura 47. Membranas de hidrogéis de quitosana-PVP (a)QM30 e (b)QH30 induzidos por radiação $UV_{254\text{ nm}}$ durante 4 h a 30°C – 70% de PVP e 30% de quitosana QM (m/m), a partir de mistura das soluções aquosas ácidas – HAc a 2% (v/v) – contendo 2% (m/m) de cada polímero.

As membranas de PVPác (Figura 46a) e PVP neutra (Figura 46b) obtidas dos hidrogéis liofilizados apresentaram morfologias bem distintas em termos de porosidade, sendo a primeira de poros bem mais abertos, da ordem de 5 a 10 μm , com evidências de terem sido influenciadas pela evaporação mais rápida do solvente. A segunda apresenta um sistema muito compacto, com poros possivelmente obstruídos por condensação de vapor de água imediatamente após as criofraturas. A Figura 47, referente aos hidrogéis das co-soluções de QH30 e QM30, respectivamente, mostram dois sistemas com características porosas e com aspecto de malhas, influenciadas pela presença da quitosana em parcela máxima

viável para conseguir a reticulação da PVP induzida pela radiação UV. É interessante observar que a malha de QM30 é mais densa que a de QH30. Essa diferença na estrutura provavelmente é devida à diferença de pesos moleculares das quitosanas nas co-soluções, os quais influenciam na capacidade de absorção de água e na velocidade de evaporação desta (QH tem peso molecular maior que o de QM e é mais hidrofóbica).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mistura de dois ou mais polímeros em um sistema que agregue qualidades inerentes de seus componentes puros ao produto é o racional central da área de blendas poliméricas. Como já mencionado anteriormente, tal abordagem pode ser bastante vantajosa, visto que os materiais selecionados têm suas propriedades pré-estabelecidas e, assim, um planejamento refinado do produto pode ser feito.

Naturalmente nem tudo é vantajoso e vários problemas compõem esta abordagem. Um em especial é a compatibilidade entre os componentes da mistura. Em uma mistura “seca”, polímeros de diferentes energias de superfície podem ser imiscíveis, gerando fases que se mantêm separadas. A adição de compatibilizantes é uma solução para este problema.

Um segundo problema relacionado à mistura de polímeros advém do fato que também as limitações de seus componentes individuais farão parte do novo material e, assim, um estudo adequado do custo / benefício de tal abordagem deve ser realista.

A proposta deste estudo contempla a utilização de dois polímeros relativamente distintos na composição de um novo material com características de hidrogel. Tal como proposto, este hidrogel seria apresentado em duas formas: “seca” (a partir de uma blenda) e pré-intumescida (a partir de uma co-solução). Tais apresentações são clássicas na área de hidrogéis e tem usos distintos.

Os dois componentes da mistura proposta têm características que podem ver vistas como antagônicas: um é biodegradável, outro não; um é de fonte natural, outro não; um é muito hidrofílico, outro pouco hidrofílico; um pode ser reticulado por métodos simples e atóxicos e outro não, etc. Este antagonismo não foi visto aqui como uma desvantagem da proposta de mistura. Ao contrário, a visão adotada foi de que um estado intermediário seria alcançado, e até passível de controle.

As blendas de quitosana e PVP testadas apresentaram miscibilidade em todas as proporções. São, portanto, fisicamente estáveis e não necessitam de compatibilizantes para manter sua estabilidade. A miscibilidade foi comprovada através de vários testes qualitativos, como transparência dos filmes, e quantitativos, como calorimetria exploratória diferencial (DSC). Verificou-se que as blendas QM5 e QH5, nas quais a participação de PVP é de 95% em massa, apresentaram apenas uma T_g , ligeiramente superior indicando presença de quitosana. Nas demais

blendas, não se conseguiram valores seguros de T_g , por dificuldades inerentes à técnica e à natureza dos polímeros, em especial da quitosana, que apresenta em sua estrutura ligações de hidrogênio inter- e intramoleculares. Por outro lado, em nenhuma das blendas houve indícios de duas temperaturas de transição vítrea (T_g).

Uma segunda importante comprovação de miscibilidade foi mostrada através da espectroscopia no infravermelho. De modo geral os espectros apresentaram deslocamentos da banda da carbonila de PVP para frequências menores. Esses deslocamentos são devidos à formação de ligações de hidrogênio da carbonila de PVP com grupos hidroxila e amina da quitosana, estrutura inexistente na PVP pura.

Uma terceira comprovação de miscibilidade foi inferida a partir das microscopias eletrônicas de varredura em superfícies de criofraturas. As fotomicrografias obtidas com ampliações de até 20000 X mostram a inexistência da separação ou domínio de fases em todas as proporções estudadas (5:95, 30:70, 50:50, 70:30 e 95:5 de quitosana-PVP).

A perfeita miscibilidade, neste caso, tem importância primordial na avaliação do processo de reticulação fotoquímica que se segue. A comparação direta das frações gel e intumescimento dos filmes não-irradiados com os valores obtidos para os filmes irradiados demonstram claramente que houve fixação da PVP, através de uma rede reticulada. Isto confirma a tese inicial deste trabalho, demonstrando a possibilidade de produção de hidrogéis da mistura destes dois polímeros.

Sobre a estrutura final do gel formado, algumas inferências podem ser feitas: (i) não há formação de hidrogel na irradiação da quitosana pura, onde processos degradativos devem se sobrepor aos eventuais processos de reticulação; (ii) logo, enquanto a radiação UV provoca a reticulação da PVP, com aumento de sua massa molar, ela provoca a degradação da quitosana; (iii) mesmo assim, as frações gel de misturas diversas de PVP-quitosana revelaram a presença de ambos os polímeros, visto que a massa de gel é superior às massas dos polímeros individuais. Estes argumentos, em conjunto, parecem indicar que uma SIPN foi formada, onde a rede básica é constituída de PVP reticulada, enquanto a quitosana é mantida “presa” nesta rede, sem participar da mesma, mas impedida de ser extraída. Ao mesmo tempo em que não há evidências diretas que corroborem esta premissa, não foi encontrada nenhuma evidência contrária. Quaisquer experimentos

que tentem a separação física destes dois componentes para sua identificação esbarram na eficiência do processo.

O aumento da hidrofiliabilidade do sistema também era uma premissa básica. O índice de intumescimento das quitosanas puras e das blendas ricas em quitosana (até 70%), apresentaram-se com valores entre 2 e 6, só melhorando com frações de PVP acima de 70%. Após a irradiação, estes valores crescem substancialmente, inclusive para quitosana pura. Este aumento se deve, em grande parte, aos processos de fotólise da quitosana, gerando produtos de (foto)oxidação, tipicamente mais polares e hidrofílicos (Matienzo and Winnacker, 2002; Andrady et al., 1996).

A análise térmica das blendas mostrou, também, um aumento da estabilidade térmica relativo à quitosana pura. Esta estabilidade, contudo, em nada altera a processabilidade do material, visto que este só passa a apresentar um comportamento termoplástico com altas concentrações de PVP (>95%).

Os hidrogéis produzidos a partir de co-soluções de PVP / quitosana mostraram um quadro distinto. A baixa solubilidade de quitosana aliada à alta viscosidade de suas soluções induziu a uma busca de condições de baixa percentagem de massa polimérica inicial nos géis. Além disso, coadjuvantes, como ácido acético, revelaram condições bastante diversas das regularmente empregadas para hidrogéis de PVP.

Observou-se um efeito inédito na fotorreticulação de PVP pura: soluções de concentrações extremamente baixas, até 2% (m/m), podem ser reticuladas com produção de hidrogéis estáveis. São condições inéditas e de grande valor para os usuários deste sistema e que mereceu o estudo estatístico sobre os parâmetros envolvidos. A reticulação da poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) em solução, investigada sob as variáveis concentração de PVP, concentração de ácido acético e tempo de irradiação no sistema polimérico, apresentou resultados relevantes, com base nas frações gel após extração Soxhlet. Dentre as três variáveis de estudo, o tempo de irradiação é a que mais influencia diretamente a reticulação, seguida da concentração de ácido acético. A concentração do polímero em si não apresentou uma relação direta com a reticulação. Tudo isso corrobora os resultados de fração gel promissores dos hidrogéis que foram obtidos com concentrações de PVP baixas (2%), bem antes mesmo de se fazer um planejamento fatorial.

Verificou-se uma limitação não observada na reticulação das blendas: em co-soluções, a quantidade máxima de quitosana passível de ser incorporada no

hidrogel foi de 30% (massa de quitosana/massa total de polímero). Para misturas mais ricas em quitosana não se observou formação de gel estável. A razão para tal diferença advém do fato que, em solução, os macrorradicais formados na fotólise da PVP apresentam uma maior mobilidade, podendo ser desativados pela quitosana, através de reações de transferência de hidrogênio. Estas reações competem com as reações de acoplamento radical-radical entre cadeias de PVP, responsáveis pela formação de ligações cruzadas. Esta competição é definida pela concentração relativa de ambos os polímeros. Note que tal situação não existe na reticulação da blenda, pois a proximidade destes macrorradicais e, portanto, a probabilidade de reação, é definida pela estrutura inicial da mistura, apresentando pouca mobilidade.

Em toda a literatura pesquisada até o presente, hidrogéis a partir de misturas de quitosana e PVP foram obtidos por via química ou de alta radiação. Por via química, o agente reticulante é um dialdeído (glutaraldeído, o mais universalizado, apesar de citotóxico), epícloridrina e mais recentemente, genipina (um derivado de iridóide natural, não-citotóxico, extraído da planta *Gardenia jasminoides Ellis*) e outros. Nestes casos, a quitosana reticula-se por ligações covalentes. Por via de alta radiação (radiação gama e feixe de elétrons são as técnicas mais comuns), a reticulação ocorre por recombinação de macrorradicais induzidos pela radiação, com formação de ligações covalentes. Os polímeros participantes passam a ter três eventos competitivos e de difícil controle: degradação, reticulação e enxertia.

Processo similar ocorre também com uso de irradiação UV em polímeros com grupos fotorreativos na cadeia. Deve-se enfatizar que o sistema de reticulação aqui proposto não faz uso de agentes de reticulação, fotoiniciadores nem incorporação de algum grupo fotorreativo nas cadeias dos polímeros. A reticulação das blendas foi feita utilizando PVP de alta massa molar, que é capaz de reticular-se quando exposta à luz UV_{254 nm}. O tempo de exposição à luz UV de 1,5 h (na forma de filme seco) ou de 4 h (em solução aquosa a 2%, m/v) já é suficiente para conseguir um nível de reticulação relativamente alto, com frações gel de 53 a 80%, conforme extrações em água deionizada simples (48-72 h de imersão, às condições ambientes) ou em Soxhlet. As frações gel das blendas de quitosana-PVP apresentaram, portanto, valores promissores seja a partir de filmes não-irradiados e irradiados seja a partir de hidrogéis.

Os testes de transmissão de vapor de água apresentaram resultados promissores para futuro emprego de filmes de blendas de quitosana-PVP, não-

irradiados e irradiados por luz UV, como filmes comestíveis, matrizes poliméricas para liberação controlada de fármacos e curativos para ferimentos mais simples.

Como continuação deste trabalho, será importante estudar as propriedades mecânicas das blendas e dos hidrogéis e uma pesquisa do mecanismo de ação do ácido acético na obtenção dos hidrogéis induzidos pela radiação UV.

6. CONCLUSÕES

Miscibilidade entre quitosana e PVP

As blendas são miscíveis, conforme demonstrado pelas técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia vibracional no infravermelho (IV) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Sua miscibilidade é um parâmetro importante para formação de hidrogéis estáveis.

Insolubilidade das blendas em água

Os resultados mostraram que a forte interação entre PVP e quitosana diminui sua solubilidade na água, mesmo com baixas quantidades de quitosana na blenda de ambos os polímeros. Isso influencia o aumento da fração de polímero insolúvel ou a fração gel, parâmetro importante para aplicação do material em encapsulamento de fármacos ou como membranas de separação.

Irradiação UV de blendas e de misturas de co-soluções aquosas de PVP e quitosanas:

Foram obtidos hidrogéis de filmes das blendas bem como das misturas das co-soluções poliméricas de PVP e quitosanas. Os hidrogéis obtidos diretamente das misturas das co-soluções poliméricas de concentração 2% (m/v) são estáveis, com parcelas de 0 a 30% (m/m) de quitosana.

Taxa de transmissão de vapor de água (WVTR)

Os resultados da WVTR das blendas e prováveis SIPNs mostraram-se permeáveis ao vapor de água, fator importante, com valores compatíveis para possível uso como biomateriais .

7. REFERÊNCIAS

- ALIEV, R., Hydrophilicity and surface energy of polyethylene modified by radiation grafting of acrylamide. *Polymer Bulletin*, 2001; 47:99.
- ALSARRA, I.A., BETIGERI, S.S., ZHANG, H., EVANS, B.A., NEAU, S.H., Molecular Weight And Degree Of Deacetylation Effects On Lipase – Loaded Chitosan Bead Characteristics, *Biomaterials*, 2002; 23: 3637.
- ALVAREZ-LORENZO, C., CONCHEIRO, A., DUBOVİK, A. S., GRINBERG, N. V., BUROVA, T. V., GRINBERG, V. Y., Temperature-Sensitive Chitosan-Poly(N-Isopropylacrylamide) Interpenetrated Networks With Enhanced Loading Capacity And Controlled Release Properties, *Journal of Controlled Release*, 2005; 102: 629.
- AMORIM, R. V. S., SOUZA, W. , FUKUSHIMA, K., CAMPOS-TAKAKI, G. M., Faster Chitosan Production By Mucoralean Strains In Submerged Culture, *Brazilian Journal of Microbiology*, 2001; 32: 20.
- AMIYA, K.K., DE PRAJNA, P., BHATTACHORY, S.A., SEN, A.K.K., Preparation And Characterization Of Heat, Oil And Fire Resistance Cable Sheathing Compounds From Compatibiliser Polychloroprene-Ethylene Propylene-Diene Rubber Blends, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 1993; 204: 19.
- ANDRADY, A.L., TORIKAI, A., KOBATAKE, T., Spectral sensitivity of chitosan photodegradation, *Journal of Applied Polymer Science*, 1996; 62: 1465.
- ANTHONSEN, M. W., VÁRUM, K. M., SMIDSRØD, O., Solution properties of chitosans - conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation, *Carbohydrate Polymers*, 1993; 22: 193.

- BARBOSA, M.A., GRANJA, P.L., BARRIAS, C.C., AMARAL, I.F., Polysaccharides As Scaffolds For Bone Regeneration, *ITBM-RBM*, 2005; 26: 212.
- BARROS, J.A.G., FECHINE, G.J.M., ALCANTARA, M.R., CATALANI, L.H., Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels produced by Fenton reaction, *Polymer*, 2006; 47: 8414.
- BAUTISTA-BAÑO, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Review : Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 2006; 25: 108.
- BAXTER, A.; DILLON, M.; TAYLOR, K. D.; ROBERTS, G A. Improved method for i.r. determination of the degree of N-acetylation of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1992; 14:166.
- BENGISU, M., YILMAZ, E., Oxidation And Pyrolysis Of Chitosan As A Route For Carbon Fiber Derivation, *Carbohydrate Polymers*, 2002; 50: 165.
- BERGER, J., REIST, M., MAYER, J.M., FELT, O., PEPPAS, N.A., GURNY, R., Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2004; 57: 19.
- BERTH, G., DAUTZENBERG, H., PETER, M.G., Physico-Chemical Characterization of Chitosans Varying in Degree of Acetylation, *Carbohydrate Polymers*, 1998; 36: 205.
- BORODKO, Y., HABAS, S.E., KOEBEL, M., YANG, P., FREI, H., SOMORJAI, G.A., Probing the Interaction of Poly (vinylpyrrolidone) with Platinum

Nanocrystals by UV - Raman and FTIR, *Journal of Physical Chemistry B*, 2006; 110: 23052.

BOUCARD, N.; VITON, C.; AGAY, D.; MARI, E.; ROGER, T.; DOMARD Y.; ALAIN, C. The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns. *Biomaterials*, 2007; 28:3478.

BRANNON-PEPPAS L., Polymers in Controlled Drug Delivery, *Medical Plastics and Biomaterials*, 1997; 4: 34.

BROUSSIGNAC, P., Chitosan: A Natural Polymer Not Well Known By The Industry, *Chimistry Industry Genie Chimica*, 1968; 99: 1241.

BRUGNEROTTO, J., LIZARDI, J., GOYCOOLEA, F. M., ARGÜELLES-MONAL, W., DESBRIÈRES, J., RINAUDO, M., An Infrared Investigation In Relation With Chitin And Chitosan Characterization, *Polymer*, 2001; 12: 3569.

BUCKTON, G., ADENIYI, A.A., SAUNDERS, M., AMBARKHANE, A., Hyperdsc Studies Of Amorphous Polyvinylpyrrolidone In A Model Wet Granulation System, *International Journal of Pharmaceutics*, 2006; 312: 61.

BURKERT, S., SCHMIDT, T., GOHS, U., DORSCHNER, H., ARNDT, K.F., Cross-Linking Of Poly(N-Vinyl Pyrrolidone) Films By Electron Beam Irradiation, *Radiation Physics and Chemistry*, 2007; 76: 1324.

CANELLA, K.M.N.C., GARCIA, R.B., Caracterização de Quitosana por Cromatografia de Permeação em Gel – Influência do Método de Preparação e do Solvente, *Quimica Nova*, 2001; 24: 13.

CAO, S., SHI, Y., CHEN, G., Blend Of Chitosan Acetate Salt With Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone): Interaction Between Chain-Chain, *Polymer Bulletin*, 1998; 41, 553.

- CAO, W., JING, D., LI, J., GONG, Y., ZHAO, N., ZHANG, X., Effects Of The Degree Of Deacetylation On The Physicochemical Properties And Schwann Cell Affinity Of Chitosan Films, *Journal of Biomaterials Applications*, 2005; 20: 157.
- CARDENAS, G., MIRANDA, S.P., FTIR And TGA Studies Of Chitosan Composite Films, *Journal of the Chilean Chemical Society*, 2004; 49: 291.
- CASCONE, M.G., Dynamic-Mechanical Properties of Bioartificial Polymeric Materials, *Polymer International*, 1997; 43: 55.
- CATALANI, L.H., FECHINE, G.J.M., BARROS, J.A.G., Process for Production of Hydrogels by Crosslinking of Polymers in Aqueous Solutions, Braz. Pedido PI Patent number BR2004002081, 2006, 10 pp.
- CHAKRABARTY, D., Interpenetrating polymer networks: engineering properties and morphology, *Polymer Gels and Networks*, 1998; 6: 191.
- CHATELET, C., DAMOUR, O., DOMARD, A., Influence Of The Degree Of Acetylation On Some Biological Properties Of Chitosan Films, *Biomaterials*, 2000; 22: 261.
- CHOI, C.Y., KIM, S.B., PAK, P.K., YOO, D.I., CHUNG, I.S., Effect Of N-Acylation On Structure And Properties Of Chitosan Fibers, *Carbohydrate Polymers*, 2007; 68: 122.
- CHUN, M.K., CHO C.-S., CHOI, H.-K., Mucoadhesive drug carrier based on interpolymer complex of poly(vinyl pyrrolidone) and poly(acrylic acid) prepared by template polymerization, *Journal of Controlled Release*, 2002; 81: 327.
- CHUNG, Y.C.; TSAI, C.F.; LI, C.F. Preparation and characterization of water-soluble chitosan produced by Maillard reaction *Fisheries Science*, 2006; 72:1096.

- CIARDELLI, G.V., VOZZI, G., PRACELLA, M., AHLUWALIA, A., BARBANI, N., CRISTALLINI, C., GIUSTI, P., Blends of Poly-(ε-caprolactone) and Polysaccharides in Tissue Engineering Applications, *Biomacromolecules*, 2005; 6: 1961.
- COLEMAN, M.M., PAINTER, P.C., GRAF, J.F., *Specific Interactions and the Miscibility of Polymer Blends*, Technomic Publishing Company, Lancaster, Pennsylvania, 1991.
- COMA, V., DESCHAMPS, A., MARTIAL-GROS, A., Bioactive Packaging Materials from Edible Chitosan Polymer – Antimicrobial Activity Assessment on Dairy-Related Contaminants, *Journal of Food Science*, 2003; 68: 2789.
- CUI, Z. F., GUAN, Y. X., CHEN, J. L., YAO, S. J., Thermosensitive Poly(N-isopropylacrylamide) Hydrogel for Refolding of Recombinant Bovine Prethrombin-2 from *E. coli* Inclusion Bodies, *Journal of Applied Polymer Science*, 2005; 96: 1734.
- D'ALMEIDA, M. L. O. *Celulose e papel*, 2. ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., 1988, v. 1, 841 p.
- DE RUITER, G. A., RUDOLPH, B., Review: Carrageenan Biotechnology, *Trends in Food Science & Technology*, 1997; 8: 389.
- DOGU, Y., OKAY, O., Swelling-Deswelling Kinetics of Poly(N-isopropylacrylamide) Hydrogels Formed in PEG Solutions, *Journal of Applied Polymer Science*, 2006; 99: 37.
- DOLEMAN, B.J., SANNER, R.D., SEVERIN, E.J., GRUBBS, R.H., LEWIS, N.S., Use of Compatible Polymer Blends to Fabricate Arrays of Carbon Black-Polymer Composite Vapor Detectors, *Analytical Chemistry*, 1998; 70: 2560.

- DOMSZY, J.G., ROBERTS, G.A.F., Evaluation of infrared spectroscopic techniques for analyzing chitosan, *Makromolekulare Chemie*, 1985; 186: 1671.
- DONG Y., XU, C., WANG, J., WANG M., WU, Y., and RUAN, Y., Determination of degree of substitution for N-acylated chitosan using IR spectra, *Science in China (Series B-Chemistry)*, 2001; 44: 216.
- DONG, Y., RUAN, Y., WANG, H, ZHAO, Y., BI, D., Studies on Glass Transition Temperature of Chitosan with Four Techniques, *Journal of Applied Polymer Science*, 2004; 93: 1553.
- EISENBERG, A.; HARA, M. A review of miscibility enhancement via ion-dipole interactions. *Polymer Engineering and Science*, 2004; 24:1306.
- EMAMI, S.H., SALOVEY, R., Crosslinked Poly (Ethylene Oxide) Hydrogels, *Journal of Applied Polymer Science*, 2003; 88: 1451.
- ENTRY, J.M.; SOJKA, R.E. Matrix based fertilizers reduce nitrogen and phosphorus leaching in three soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2007; 180: 283.
- FANG, L., GOH, S.H., Miscible Chitosan/Tertiary Amide Polymer Blends, *Journal of Applied Polymer Science*, 2000; 76: 1785.
- FECHINE, G.J.M., BARROS, J.A.G., ALCÂNTARA, M.R., CATALANI, L.H., Fluorescence polarization and rheological studies of the poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels produced by UV radiation, *Polymer*, 2006; 47: 2629.
- FECHINE, G.J.M.; BARROS, J.A.G., CATALANI, L.H., Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) Hydrogel Production by Ultraviolet Radiation: New Methodologies to Accelerate Crosslinking, *Polymer*, 2004; 45: 4705.

- FELDSTEIN, M.M., ROOS, A., CHEVALLIER, C., CRETON, C., DORMIDONTOVA, E.E., Relation Of Glass Transition Temperature To The Hydrogen Bonding Degree And Energy In Poly(*N*-Vinyl Pyrrolidone) Blends With Hydroxyl-Containing Plasticizers: 3. Analysis Of Two Glass Transition Temperatures Featured For PVP Solutions In Liquid Poly(Ethylene Glycol), *Polymer*, 2003; 44: 1819.
- FERNANDEZ, C.M., HEINAEMAEKI, J., KROGARS, K., JOERGENSEN, A.C., KARJALAINEN, M., COLARTE, A.I., YLIRUUSI, J., Solid-State and Mechanical Properties of Aqueous Chitosan-Amylose Starch Films Plasticized with Polyols, *AAPS PharmSciTech*, 2004; 5: E15.
- FLORY, P.J., Thermodynamics of High-Polymer Solutions, *Journal of Chemical Physics*, 1942; 10: 51.
- FLORY, P.J., Thermodynamics of High-Polymer Solutions, *Journal of Chemical Physics*, 1942; 10: 51.
- FOCHER, B., BELTRAME, P.L., NAGGI, A., TORRI, G., Alkaline *N*-deacetylation of chitin enhanced by flash treatments: Reaction kinetics and structure modifications, *Carbohydrate Polymers*, 1990; 12: 405.
- FOLKES, M.J., HOPES, P.S., *Polymer Blends and Alloys*, First edition, Chapman & Hall, London , 1993.
- GILDING, D. K AND REED, A. M., Biodegradable Polymers For Use In Surgery Polyglycolic/Poly(Lactic Acid) Homo- And Copolymers, *Polymer*, 1979; 20: 1459.

- GÓMEZ, M., RONDA, F., CABALLERO, P. A., BLANCO, C. A., ROSELL, C.M.,
Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow
layer cakes, *Food Hydrocolloids*, 2007; 21: 167.
- GOTTLIEB, R., SCHMIDT, T., ARNDT, K.F., Synthesis of Temperature-Sensitive
Hydrogel Blends by High-Energy Irradiation, *Nuclear Instruments & Methods in
Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*,
2005; 236: 371.
- GOUSTOURIDIS, D., CHATZANDROULIS, S., RAPTIS, I., VALAMONTES, E.S.
Modification of polymer swelling by uv irradiation for use in chemical sensing,
Sensors:Proceedings of IEEE, 2004;1:162.
- GÜNER, A., SEVIL, A. U., GÜVEN, O., Complexation of Poly(vinylpyrrolidone) and
Gelatin with Some Transition Metal Chlorides in Aqueous Solution, *Journal of
Applied Polymer Science*, 1998; 68: 891.
- GUPTA, B., REVAGADE, N., HILBORN, J., Poly(Lactic Acid) Fiber: An Overview,
Progress in Polymer Science, 2007,32: 455.
- HEJAZI, R., AMIJI, M. Review: Chitosan-based gastrointestinal delivery systems.
Journal of Controlled Release, 2003; 89:151.
- HERRERA-GÓMEZ, A., VELÁZQUEZ-CRUZ, G., MARTÍN-POLO, M.O., Analysis Of
The Water Bound To A Polymer Matrix By Infrared Spectroscopy, *Journal of
Applied Physics*, 2001; 89: 5431.
- HIRAI, A., ODANI, H., NAKAJIMA, A., Determination Of Degree Of Deacetylation Of
Chitosan By ¹H NMR Spectroscopy, *Polymer Bulletin*, 1991; 26: 87.

- HIRANO, S., SEINO, H., AKIYAMA Y., NONAKA I., In: GEBELEIN, C.G. AND DUNN, R.L. Editors, *Progress in Biomedical Polymers*, Plenum Press, New York, 1990, p. 283.
- HONORATO, T. L., RABELO, M. C., GONÇALVES, L. R. B., PINTO, G. A. S., RODIGUES, S., Estudo da massa molar viscosimétrica de dextrana obtida via processo fermentativo com dextrana-sacarase do *Leuconostoc mesenteroides* B512F, *VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica*, Campinas, 24 a 27 de julho de 2005.
- HUGGINS, M.L., Solutions of Long Chain Compounds, *Journal of Chemical Physics*, 1941; 9: 440.
- HUGGINS, M.L., Theory of Solution of High Polymers, *Journal of the American Chemical Society*, 1942; 64: 1712.
- HUGGINS, M.L., Theory of Solution of High Polymers, *Journal of the American Chemical Society*, 1942; 64: 1712.
- ILARDUYA, A.M., IRUIN, J.J., FERNÁNDEZ-BERRIDI, M.J., Hydrogen Bonding in Blends of Phenoxy Resin and Poly(vinylpyrrolidone), *Macromolecules*, 1995; 28: 3707.
- IFKOVITS, J. L. AND BURDICK, J. A., Review: Photopolymerizable and Degradable Biomaterials for Tissue Engineering Applications, *Tissue Engineering*, 2007; 13: 2369.
- ISHIHARA, M., OBARA, K., NAKAMURA, S., FUJITA, M., MASUOKA, K., KANATANI, Y., TAKASE, B., HATTORI, H., MORIMOTO, Y., ISHIHARA, M., MAEHARA, T., KIKUCHI, M., Chitosan Hydrogel as a Drug Delivery Carrier to Control Angiogenesis, *Journal of Artificial Organs*, 2006; 9: 8.

- ISP TECHNOLOGIES, *PVP-Iodine – Povidone Iodine Antiseptic Agent*, International Specialty Products Technologies, 2004, 31 pp.
- JANA. R. N., NANDO, G. B., Chemorheological Study Of Compatibilized Blends Of Low-Density Polyethylene And Polydimethyl Siloxane Rubber, *Journal of Applied Polymer Science*, 2003; 88: 2810.
- JENKINS, D.W. ;HUDSON, S.M. Review of Vinyl Graft Copolymerization Featuring Recent Advances toward Controlled Radical-Based Reactions and Illustrated with Chitin/Chitosan Trunk Polymers. *Chemical Reviews*, 2001; 101:3245.
- KANG, B., DAI, Y.D., ZHANG, H.G., CHEN, D., Synergetic degradation of chitosan with gamma radiation and hydrogen peroxide, *Polymer Degradation and Stability*, 2007; 92: 359.
- KARAVAS, E., GEORGARAKIS, E., BIKIARIS, D., Adjusting Drug Release By Using Miscible Polymer Blends As Effective Drug Carriers, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2006; 84: 125.
- KASAAI, M R., ARUL, J., CHARLET, G., Intrinsic Viscosity-Molecular Weight Relationship For Chitosan, *Journal of Polymer. Science: Part B: Polymer Physics*, 2000; 38: 2591.
- KHAN, T.A., PEH, K.K., CH'NG, H.S., Reporting Degree Of Deacetylation Values Of Chitosan: The Influence Of Analytical Methods, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2002; 5: 205.
- KIM, S.J., LEE, C.K., LEE, Y.M., LEE, K.B., PARK, Y.D., Thermal Characterizations of Semi-Interpenetrating Polymer Networks Composed of Poly(ethylene oxide) and Poly(*N*-isopropylacrylamide), *Journal of Applied Polymer Science*, 2003; 90: 3922.

- KITTUR, F.S., PRASHANTH, K.V. H, SANKAR, K. U., THARANATHAN, R. N.,
Characrerization Of Chitin, Chitosan And Their Carboximethyl Derivatives By
Differential Scanning Calorimetry, *Carbohydrate Polymers*, 2002; 49: 185.
- KNAUL, J. Z., KASAAI, M. R., BUI, V.T, KATHERINE A.M. CREBER.
Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight,
Revue Cannadienne de Chimique, 1998; 76: 1699.
- KHOR, E., Chitin: a biomaterial in waiting, *Current Opinion in Solid State and
Materials Science*, 2002; 6:313.
- KHOR, E.; LIM, L.Y., Implantable applications of chitin and chitosan, *Biomaterials*,
2003; 24:2339.
- KRAYUKHINA, M.A., KOZYBAKOVA, S.A., SAMOILOVA, N.A., BABAK, V.G.,
KARAEVA, S.Z., YAMSKOV, I.A., Synthesis and Properties of Amphiphilic
Maleic Acid Copolymers, *Russian Journal of Applied Chemistry*, 2007; 80:
1145.
- KUMAR, M. N. V. R., A Review Of Chitin And Chitosan Application, *Reactive &
Functional Polymers*, 2000; 46: 1.
- LAVERTU, M., XIA, Z., SERREQUI, A.N., BERRADA, M., RODRIGUES, A., WANG,
D., BUSCHMANN, M.D., GUPTA, A., A Validated ¹H NMR Method For The
Determination Of The Degree Of Deacetylation Of Chitosan, *Journal of
Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003; 32: 1149.
- LEE, Y. M.; NAM, S. Y.; KIM, J. H. Pervaporation of water-ethanol through poly(vinyl
alcohol)/chitosan blend membrane. *Polymer Bulletin*, 1992; 29:423.

- LEHMANN, U., KÖHLER, W., SEC Absolute Molar Mass Detection by Online Membrane Osmometry, *Macromolecules*, 1996; 29: 3212.
- LI, L., ASTERIOU, T., BERNERT, B., HELDIN, C.I-H., HELDIN, P., Growth factor regulation of hyaluronan synthesis and degradation in human dermal fibroblasts: importance of hyaluronan for the mitogenic response of PDGF-BB, *Biochemical Journal*, 2007; 404: 327.
- LIM, S.T.; MARTIN, G.P.; BERRY, D.J.; BROWN, M.B. Preparation and evaluation of the in vitro drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan. *Journal of Controlled Release*, 2000; 66:281.
- LIO, K., MINOURA, N., NAGURA, M., Swelling Characteristics of a Blend Hydrogel Made of Poly(allylbiguanido-co-allylamine) and Poly(vinyl alcohol), *Polymer*, 1995; 36: 2579.
- LIPORACCI, J. S. N., MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., Efeito do método de extração na composição química e nas propriedades funcionais do amido de inhame (*Dioscorea alata*), *Semina: Ciências Agrárias*, 2005; 26: 345.
- LOPÉRGOLO, L.C., LUGÃO, A.B., CATALANI, L.H., Development of a poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)/poly (ethylene glycol) hydrogel membrane reinforced with methyl methacrylate-grafted polypropylene fibers for possible use as wound dressing, *Journal of Applied Polymer Science*, 2002; 86: 662.
- LOPES, C. M., LOBO, J.M. S., AND COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2005; 41: 2.

LU, J., NGUYEN, Q., ZHOU, L., XU, B., PING, Z., Study Of The Role Of Water In The Transport Of Water And THF Through Hydrophilic Membranes By Pervaporation, *Journal of Membrane Science*, 2003; 226: 135.

McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology, 5th edition, published by The McGraw-Hill Companies, Inc.

MAHLI, D. M., WEGNER, J. M., GLASS, J. E., PHILLIPS, D. G., Waterborne Latex Coatings of Color: II. Surfactant Influences on Color Development And Viscosity, *Journal of Coatings Technology and Research*, 2005; 2: 635.

MALMONGE, S.M., ZAVAGLIA, C.A.C., SANTOS-JR, A.R., WADA, M.L.F., Avaliação da citotoxicidade de hidrogéis de polihema: um estudo *in vitro*, *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*, 1999; 15: 49.

MATIENZO, L.J.; WINNACKER, S.K. Dry processes for surface modification of a biopolymer: chitosan. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2002; 287:871.

MARIT, W. A, KJELL, M., SMIDSRØ, V., SMIDSRØ, O., Solution Properties Of Chitosans: Conformation And Chain Stiffness Of Chitosans With Different Degrees Of N-Acetylation, *Carbohydrate Polymers*, 1993; 22: 193.

MARSANO, E., VICINI, S., SKOPINSKA, J., WISNIEWSKI, M., SIONKOWSKA, A., Chitosan and Poly(vinyl pyrrolidone): Compatibility and Miscibility of Blends, *Macromolecular Symposia*, 2004; 218: 251.

MATTAI, J., HAYES, E.R., Caracterization Of Chitosan By Pyrolysis-Mass Spectrometry, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1982; 3: 327.

- MATHUR, D.; NAUMAN, E.B. Impact strength of bulk PS/PB blends: Compatibilization and fracture studies. *Journal of Applied Polymer Science*, 1999; 72:1151.
- MEAURIO, E., VELADA, J. L., CESTEROS, L. C., KATIME, I., Blends and Complexes of Poly(monomethyl itaconate) with Polybases Poly(*N,N*-dimethylacrylamide) and Poly(ethyloxazoline). Association and Thermal Behavior, *Macromolecules*, 1996; 29: 4598.
- MEAURIO, E., ZUZA, E., SARASU, J.R., Direct Measurement Of The Enthalpy Of Mixing In Miscible Blends Of Poly(DL-Lactide) With Poly(Vinylphenol), *Macromolecules*, 2005; 38: 9221.
- MIRANDA, L. F., LUGÃO, A. B., MACHADO, L. D. B., RAMANATHAN, L.V., Crosslinking and degradation of PVP hydrogels as a function of dose and PVP concentration, *Radiation Physics and Chemistry*, 1999; 55: 709.
- MUZZARELLI, R. A. A., ISOLATI, A., FERRERO, A., Chitosan membranes, *Ion exchange and membranes*, 1974; 1: 193.
- MOHLEBACH, A., MOLLER, B., PHARISA, C., HOFMANN, M., SEIFERLING, B., GUERRY, D., New Water-Soluble Photocrosslinkable Polymers Based on Modified Poly (Vinyl Alcohol), *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 1997; 35: 3603.
- MOSCHOU, E.A., MADOU, M.J., BACHAS, L.G., DAUNERT, S., Voltage-switchable Artificial Muscles Actuating at Near Neutral pH, *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 2006; 115: 379.

- MUCHA, M., LUDWICZAK, S., KAWINSKA, M., Kinetics Of Water Sorption By Chitosan And Its Blends With Poly(Vinyl Alcohol), *Carbohydrate Polymers*, 2005; 62: 42.
- MUCHA, M., PIEKIELNA, J., WIECZOREK, A., Characterisation and Morphology of Biodegradable Chitosan/Synthetic Polymer Blends, *Macromolecular Symposia*, 1999; 144: 391.
- MUTALIK, V.; MANJESHWAR, L. S.; WALI, A.; SAIRAM, M.; RAJU, K.V.S.N.; AMINABHAVI, T. M. Thermodynamics/hydrodynamics of aqueous polymer solutions and dynamic mechanical characterization of solid films of chitosan, sodium alginate, guar gum, hydroxylethyl cellulose and hydroxypropyl methylcellulose at different temperatures, *Carbohydrate Polymers*, 2006; 65: 9.
- NAYAK, P.L., Biodegradable Polymers: Opportunities and Challenges, *Polymer Reviews*, 1999; 39: 481.
- NETO, C.G.T., GIACOMETTI, J.A., JOBB, A.E., FERREIRA, F.C., FONSECA, J.L.C., PEREIRA, M.R., Thermal Analysis of Chitosan Based Networks, *Carbohydrate Polymers*, 2005; 62: 97.
- NIETO, J.M., PENICHE, C., PADRÓN, G., Characterization Of Chitosan By Pyrolysis-Mass Spectrometry, Thermal Analysis And Differential Scanning Calorimetry, *Thermochimica Acta*, 1991; 176: 63.
- NIOLA, F., BASORA, N., CHORNET, N., VIDAL, P.F., A Rapid Method For The Determination Of The Degree Of N-Acetylation Of Chitin-Chitosan Samples By Acid Hydrolysis And HPLC, *Carbohydrate Research*, 1993; 238: 1.

- NITSCHKE, M., RODRIGUES, V., SCHINATTO, L. F., Formulação de meios de cultivo à base de soro de leite para a produção de goma xantana por *X. campestris* C₇L¹, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2001; 21: 82.
- NO, H.K., MEYERS, S.P., PRINYAWIWATKUL, W., XU, Z., Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review, *Journal of Food Science*, 2007; 72: 87.
- NOHARA, L.B.; KAWAMOTO, A.P.M., TAKAHASHI, M.F.K.; NOHARA, E.L.; REZENDE, M. C. Síntese do pré-polímero poli(ácido âmico) do tipo PMDA/ODA para aplicação como interfase em compósitos termoplásticos de alto desempenho. 17^o CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 15 a 19 de Novembro de 2006, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.
- NURKEEVA, Z. S., MUN, G. A., KHUTORYANSKIY, V. V., BITEKENOVA, A. B., DUBOLAZOV, A. V., ESIRKEGENOVA, S. Z. H., pH effects in the formation of interpolymer complexes between poly(N-vinylpyrrolidone) and poly(acrylic acid) in aqueous solutions, *European Physical journal E*, 2003; 10: 65.
- ONO, K., SAITO, Y., YURA, H., ISHIKAWA, K., KURITA, A., AKAIKE, T., ISHIHARA, M., Photocrosslinkable chitosan as a biological adhesive, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000; 49: 289.
- ORÉFICE, R.L., VASCONCELOS, W.L., MORAES, M.A.S., Estabilidade De Fases Em Blendas De Policarbonato-Poliestireno Avaliada Por Micro-FTIR, Análise Térmica e Microscopia Eletrônica De Varredura, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2004; 14: 129.

- OTTØEY, M.H., VÅRUM, K.M., CHRISTENSEN, B.E., ANTHONSEN, M.W., SMIDSRØD, O., Preparative And Analytical Size - Exclusion Chromatography Of Chitosans, *Carbohydrate Polymers*, 1997; 31: 253.
- PAAVOLA, A., YLIRUUSIA, J., ROSENBERG, P., Controlled release and dura mater permeability of lidocaine and ibuprofen from injectable poloxamer-based gels, *Journal of Controlled Release*, 1998; 52: 169.
- PAINTER, P.C., GRAF, J.F., COLEMAN, M.M., Effect of Hydrogen Bonding on the Enthalpy of Mixing and the Composition Dependence of the Glass Transition Temperature in Polymer Blends, *Macromolecules*, 1991; 24: 5630.
- PAL, K., BANTHIA, A. K., MAJUMDAR, D. K., Biomedical evaluation of polyvinyl alcohol-gelatin esterified hydrogel for wound dressing, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2007; 18: 1889.
- PARK, C.; KIM, E.Y.; YOO, Y.T.; IM, S.S. Effect of hydrophilicity on the biodegradability of polyesteramides. *Journal of Applied Polymer Science*, 2003; 90:2708
- PASCAT, B., Study of some factors affecting permeability, *Food Packaging and Preservation: Theory and Practice*, 1986; p.7. In Mathlouthi, M., editor. London: Elsevier Applied Science.
- PAVIA, D.L, LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., *Introduction to Spectroscopy*, Second Edition, Saunders College Publishing, USA, 1996.
- PAVLOV, G.M., GUBAREV, A.S., ZAITSEVA, I.I., SIBILEVA, M.A., Determination of Intrinsic Viscosity of Polyelectrolytes in Salt-Free Solutions, *Russian Journal of Applied Chemistry*, 2006; 79: 1407.

- PAWLAK, A. AND MUCHA, M., Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends, *Thermochimica Acta*, 2003; 396: 153.
- PEPPAS, N.A., BURES, P., LEOBANDUNG, W., AND ICHIKAWA, H., Hydrogels in pharmaceutical formulations, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2000; 50: 27.
- PING, Z. H., NGUYEN, Q. T., CHEN, S. M., ZHOU, J. Q. , DING, Y. D., States Of Water In Different Hydrophilic Polymers — DSC And FTIR Studies, *Polymer*, 2001; 42: 8461.
- PINTO, J. F., WUNDER, K. F., OKOLOEKWE, A., Evaluation of the Potential Use of Poly(ethylene oxide) as Tablet- and Extrudate-Forming Material, *AAPS PharmSci*, 2004; 6: A15.
- PRASHANTH, K.V.H., THARANATHAN, R.N., Crosslinked Chitosan – Preparation And Characterization, *Carbohydrate Research*, 2006; 341: 169.
- QUEJI, M. F. D., SCHEMIN, M.H. C., TRINDADE, J. L. F., Propriedades reológicas da massa de farinha de trigo adicionada de alfa-amilase, *Publicatio UEPG. Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias*, 2006; 12, 21.
- RATTO, J.A., CHEN, C.C., BLUMSTEIN, R.B., Phase Behavior Study of Chitosan/Polyamide Blends, *Journal of Applied Polymer Science*, 1996; 59: 1451.
- RATTO, J., HATAKEYAMA, T., BLUMSTEIN, RITA B., Differential scanning calorimetry investigation of phase transitions in water/chitosan systems, *Polymer*, 1995; 36: 2915.

- RAYMOND, L., MORIN, F.G., MARCHESSAULT, R.H., Degree Of Deacetylation Of Chitosan Using Conductometric Titration And Solid-State NMR, *Carbohydrate Research*, 1993; 246: 331.
- RAZZAK, M. T; ZAINUDDIN; ERIZAL; DEWI, S. P.; LELY, H.; TATY, E.; SUKIRNO. "The characterization of dressing component materials and radiation formation of PVA–PVP hydrogel" *Radiation Physics and Chemistry*, 1999; 55: 153.
- RHOADES, J., ROLLER, S., Antimicrobial Actions of Degraded and Native Chitosan against Spoilage Organisms in Laboratory Media and Foods, *Applied and Environmental Microbiology*, 2000; 66: 80.
- RINAUDO, M., DUNG, P.L., GEY, C., MILAS, M., Substituent Distribution On O, N-Carboxymethylchitosans By ^1H And ^{13}C NMR, *International Journal of Biological Macromolecules*, 1992; 14: 122.
- RINAUDO, M., MILAS, M., LE, D.P., Characterization Of Chitosan. Influence Of Ionic Strength And Degree Of Acetylation On Chain Expansion, *International Journal of Biological Macromolecules*, 1993; 15: 281.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications *Progress in Polymer Science*, 2006; 31: 603.
- RISBUD, M.V., BHAT, S.V., Properties Of Polyvinyl Pyrrolidone/ β -Chitosan Hydrogel Membranes And Their Biocompatibility Evaluation By Haemorheological Method, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2001; 12: 75.
- ROBERTS, G. A. F., *Chitin Chemistry*, London: Macmillan Press Ltd. 1992, p.101
- ROBINSON, B.V., *PVP: A Critical Review of the Kinetics and Toxicology of Polyvinylpyrrolidone (Povidone)*, Lewis Publishers, Chelsea MI., 1990, 232 pp.

- ROGERS, C. E., Permeation of gases and vapours in polymers, *Comyn J, editor. Polymer Permeability*, 1985; p. 11-69. New York: Elsevier Science Publishing Co., INC.
- ROLAND, C.M., Rheology of a Miscible Polymer Blend, *Journal of Polymer Science Part B*, 1988; 26: 839.
- ROSIK, J.M., Radiation formation of hydrogels for drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 1994; 31: 9.
- ROSIK, J.M., YOSHII, F., Hydrogels and their Medical Applications, *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 1999; 151: 56.
- SAKURAI, K., MAEGAWA, T., TAKAHASHI, T., Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(N-vinyl pyrrolidone) blends, *Polymer*, 2000; 41: 7051.
- SCHILLING, C.H.; TOMASIK P.; KARPOVICH, D.S.; HART B.; GARCHA, J.; BOETTCHER, P.T. Preliminary Studies on Converting Agricultural Waste into Biodegradable Plastics - Part IV: Polysaccharide Containing Natural Materials. *Journal of Polymers and the Environment*, 2005; 13:203.
- SCHMIERS, H., FRIEBELA, J., STREUBELB, P., HESSEB, R., KÖPSELA, R., Change Of Chemical Bonding Of Nitrogen Of Polymeric N-Heterocyclic Compounds During Pyrolysis, *Carbon*, 1999; 37: 1965.
- ŞEN, M.; AVCI, E. N.; Radiation synthesis of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)-k-carrageenan hydrogels and their use in wound dressing applications. I. Preliminary laboratory tests, *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 2005; 74: 187.

- SENEL, S.; MCCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004; 56:1467.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J.K.V.; JEON, Y.-J. Food applications of chitin and chitosans. Review: Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food, Science & Technology*, 1999;10: 37.
- SHARIATPANAHI, H., NAZOKDAST, H., HEMMATI, M., Dispersed Phase Particle Size in Polymer Blends: Interfacial and Rheology Effects, *Journal of Elastomers and Plastics*, 2003; 35: 115.
- SHARMA, W.P.; SHARMA, C.P. Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review. *Trends in Biomaterials and Artificial. Organs*, 2004; 18:18.
- SHIHARA, M., OBARA, K., NAKAMURA, S., FUJITA, M., MASUOKA, K., KANATANI, Y., TAKASE, B., HATTORI, H., MORIMOTO, Y., ISHIHARA, M., MAEHARA, T., KIKUCHI, M., Chitosan hydrogel as a drug delivery carrier to control angiogenesis, *Journal of Artificial Organs*, 2006; 9: 8.
- SIGNINI, R., CAMPANA FILHO, S.P., Características E Propriedades De Quitosanas Purificadas Nas Formas Neutra, Acetato E Cloridrato, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2001; 11: 58.
- SIGNINI, R., CAMPANA FILHO, S.P., Purificação E Caracterização De Quitosana Comercial, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 1998; 4: 63.
- SIONKOWSKA, A., WISNIEWSKI, M., SKOPINSKA, J., VICINI, S., MARSANO, E., The influence of UV irradiation on the mechanical properties of chitosan/poly(vinyl pyrrolidone) blends, *Polymer Degradation and Stability*, 2005; 88: 261.

- SVETLANA, Z., VIKHOREVA, R. AND VIKHOREVA, G.A., Polysaccharide-based polymer blends: Methods of their production, *Glycoconjugate Journal*, 2006; 23: 611.
- SUN, T., ZHOU, D., XIE, J., MAO, F., Preparation of chitosan oligomers and their antioxidant activity, *European Food Research and Technology*, 2007; 225: 451.
- SWARTZBERG, H. G., Modeling of gas and vapour transport through hydrophilic films. In: Mathlouthi M, editor. *Food Packaging and Preservation: Theory and Practice*, London: Elsevier Applied Science, 1986, p 115-135.
- TAKAGISHI, T., KUROKI, N., Interaction of poly(vinylpyrrolidinone) with methyl orange and its homologs in aqueous solution. Thermodynamics of the binding equilibriums and their temperature dependences, *Journal of Polymer Science, Polymer Chemistry Edition*, 1973; 11: 1889.
- TAN, S.C., KHOR, E., TAN, T.K., WONG, S.M., The Degree Of Deacetylation Of Chitosan: Advocating The First Derivative Uv-Spectrophotometry Method Of Determination, *Talanta*, 1998; 45: 713.
- TANG, Y. T. F., PEH, K.K., AL-HANBALI, O., Investigation of interpolymer complexation between Carbopol and various grades of polyvinylpyrrolidone and effects on adhesion strength and swelling properties, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2001; 4: 7.
- THANOU, M.; VERHOEF, J.C.; JUNGINGER, H.E. Chitosan and its derivatives as intestinal absorption enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001; 50:S91.
- TOLSTOGUZOV, V., Why are polysaccharides necessary?, *Food Hydrocolloids*, 2004; 18: 873.

- TONHI, E., PLEPIS, A. M. G., Obtenção e Caracterização de Blendas Colágeno-Quitosana, *Química Nova*, 2002; 25: 243.
- TORRES, M.A., VIEIRA, R.S., BEPPU, M.M., SANTANA, C.C., Produção e Caracterização de Microesferas de Quitosana Modificadas Quimicamente, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2005; 15: 306.
- TRIMPIN, S., EICHHORN, P., RÄDER, H. J., MÜLLEN, K., KNEPPER, T. P., Recalcitrance Of Poly(Vinylpyrrolidone): Evidence Through Matrix-Assisted Laser Desorption–Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2001; 938: 67.
- TRZCIŃSKI, S., Combined degradation of chitosans, *Polish Chitin Society, Monograph XI*, 2006; p. 103-111.
- TSAIH, M.L., HUEI CHEN, R., Molecular Weight Determination of 83% Degree of Decetylation of Chitosan with Non-Gaussian and Wide Range Distribution by High-Performance Size Exclusion Chromatography and Capillary Viscometry, *Journal of Applied Polymer Science*, 1999; 71: 1905.
- TSEBRENKO, I. A., PAKHARENKO, V. A., Infrared spectroscopic study of the mechanism of interaction in polymer blends, *Fibre Chemistry*, 1999; 31: 197.
- TZIAMPAZIS, E.; KOHN, J., MOGHE, P.V. PEG-variant biomaterials as selectively adhesive protein templates: model surfaces for controlled cell adhesion and migration. *Biomaterials*, 2000; 21:511.
- TURAN, E., CAYKARA, T., Swelling and Network Parameters of pH-sensitive Poly(acrylamide-co-acrylic acid) Hydrogels, *Journal of Applied Polymer Science*, 2007; 106: 2000.

- UTRACKI, L. A., History of Commercial Polymer Alloys and Blends (From a Perspective of the Patent Literature), *Polymer Engineering and Science*, 1995; 35: 2.
- VELÁSQUEZ, C. L. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 2003; 4: 91.
- VENUGOPAL, J., ZHANG, Y. Z., RAMAKRISHNA, S., Electrospun nanofibres: biomedical applications, *Journal of Nanoengineering and Nanosystems*, 2005; 218: 35.
- VLASSOPOULOS, D., HATZIKIRIAKOS, S. G., Rheology of partially miscible polymer blends across the phase boundary, *Phase Separation in Polymer Solutions and Blends*, 2002; 1-12.
- VON HARPE, A., PETERSEN, H., LI, Y., KISSEL, T., Characterization Of Commercially Available And Synthesized Polyethylenimines For Gene Delivery, *Journal of Controlled Release*, 2000; 69: 309.
- WAN, L.S., HUANG, X.J., XU, Z.K., Diffusion and Structure of Water in Polymers Containing N-Vinyl-2-pyrrolidone, *Journal of Physical Chemistry B*, 2007; 111: 922.
- WAN, A.C.A.; KHOR, E.; HASTINGS, G.W. Hydroxyapatite-modified chitin as potential hard tissue substituted material. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1997, 38:235.
- WANG, S.M., HUANG, Q.Z., WANG, Q.S., Study On The Synergetic Degradation Of Chitosan With Ultraviolet Light And Hydrogen Peroxide, *Carbohydrate Research*, 2005; 340: 1143.

- WANG, W., BO, S.Q., LI, S.Q., QIN, W., Determination Of The Mark-Houwink Equation For Chitosans With Different Degrees Of Deacetylation, *International Journal of Biological Macromolecules*, 1991; 13: 281.
- WANG, W., XU, D., Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degrees of deacetylation, *International Journal of Biological Macromolecules*, 1994; 16: 149
- WARZELHAN, V., Trends in Structural Polymer Science in Industry, *Polymers for Advanced Technology*, 1998; 8:210.,
- WASIKIEWICZ, J.M., YOSHII, F., NAGASAWA, N., WACH, R.A., MITOM, H., Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods, *Radiation Physics and Chemistry*, 2005; 73: 287.
- WILES, J.L., VERGANO, P.J., BARRON, F.H., BUNN, J.M., TESTIN, R.F., Water Vapor Transmission Rates And Sorption Behavior Of Chitosan Films, *Journal of Food Science*, 2000; 65: 1175.
- WU, G., SU, B., ZHANG, W., WANG, C., In vitro behaviors of hydroxyapatite reinforced polyvinyl alcohol hydrogel composite, *Materials Chemistry and Physics*, 2008; 107: 364.
- XING, R., LIU, S., GUO, Z., YU, H., WANG, P., LI, C., LI, Z., LI, P., Relevance of Molecular Weight of Chitosan and its Derivatives and Their Antioxidant Activities in vitro, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005; 13: 1573.
- YAMASHITA, Y., ZHANG, N., NOZAKI, Y. Effect of chitin hydrolysate on the denaturation of lizard fish myofibrillar protein and the state of water during frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 2003; 17:569.

- YANG, J., FANG, L., WANG, F., TAN, T., Preparation and Characterization of a Novel pH-, Thermo-, and Ionic Strength-Responsive Hydrogels Based on Xanthan Gum-Poly(aspartic acid), *Journal of Applied Polymer Science*, 2007; 105: 539.
- YEH, J. T., CHEN, C. L., HUANG, K. S., NIEN, Y. H., CHEN, J. L., HUANG, P. Z., Synthesis, Characterization, and Application of PVP/Chitosan Blended Polymers, *Journal of Applied Polymer Science*, 2006; 101: 885.
- YEHIA, A.A., HELALY, F.M., ELSABBAGH, S.H., Studies On Mixing Homogeneity Of Rubber Blends Using Viscosity Measurements, *Advances in Polymer Blends and Alloys Technology*, 1993; 4: 102.
- YOMOTA, C., MIYAZAKI, T., OKADA, S., Determination Of The Viscometric Constants For Chitosan And The Application Of Universal Calibration Procedure In Its Gel Permeation Chromatography, *Colloid and Polymer Science*, 1993; 271: 76.
- YOO, H. J., KIM, H. D., Characteristics of Waterborne Polyurethane / Poly(Nvinylpyrrolidone) Composite Films for Wound-Healing Dressings, *Journal of Applied Polymer Science*, 2007; 107: 331.
- YU. L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. *Progress in Polymer Science*, 2006; 31: 576.
- YUN, Y. H., GOETZ, D.J., CHEN, P. Y. W., Hyaluronan microspheres for sustained gene delivery and site-specific targeting, *Biomaterials*, 2004; 25: 147.
- ZHANG J., PEPPAS N.A., Morphology of Poly(methacrylic acid)/Poly(N-isopropyl acrylamide) Interpenetrating Polymeric Networks, *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition*, 2002; 13: 511.

ZHANG, Y., YANG, G. H., LI , X. X., LUO , W., HUANG , M. Y., JIANG, Y. Y.,
Polycondensation catalyzed by polyvinyl pyrrolidone-supported metal
complexes, *Polymers for Advanced Technologies*, 1999; 10:108.

8. ANEXOS

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Antônio Jedson Caldeira Brant

Local e data de nascimento: Teófilo Otoni (MG), 2 de março de 1946.

EDUCAÇÃO

Bacharel em Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (1973).

Mestrado em Química (Área de concentração: Química Orgânica), “*Flavonóides, cumarinas e benzofuranos como marcadores quimiotaxonômicos em Asteraceae*”
Universidade de São Paulo, São Paulo (2003).

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Inglês, Stevens Institute of Technology, USA

Alemão, Goethe Institute Brasil/Inlingua Sprachschule/Alemanha

OCUPAÇÃO

Estudante de Doutorado em Química (IQ-USP)

Professor de Química na Universidade do Grande ABC (Santo André)

Nota: Aposentado por tempo de serviço desde dezembro de 1997.

PUBLICAÇÕES (Artigos completos e Resumos em Congressos)

Artigos:

FERREIRA, M.J. P.; BRANT, ANTONIO J. C.; RUFINO, A. R.; ALVARENGA, SANDRA A. V.; MAGRI, F. M.M.; EMERENCIANO, V. P. *Phytochemical Analysis*, 2004;15 : 389.

ALVARENGA, S A. V.; GASTMANS, J. P.; FERREIRA, M. J. P.; RODRIGUES, G.V.; BRANT, ANTONIO J. C.; EMERENCIANO, V. P. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2003;14: 369.

MAGRI, F. M.M.; MILITÃO, J. S. L.; FERREIRA, M. J. P.; BRANT, ANTONIO J. C.; EMERENCIANO, V. P. *Spectroscopy*, 2001;15: 99.

FERREIRA, MARCELO J. P.; RODRIGUES, G. V.; BRANT, A. J. C.; EMERENCIANO, V. P. *Spectroscopy*, 2001;15: 65.

EMERENCIANO, V. P.; MILITAO, J. S. L. T.; CAMPOS, C. C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M. A. C.; ZAMBON, M.; BRANT, A. J. C. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2001;29: 947,.

FERREIRA, M. J. P.; BRANT, A. J. C.; RODRIGUES, G. V.; EMERENCIANO, V. P. *Analytica Chimica Acta*, 2001;429: 151.

Congressos:

BRANT, A. J. C.; FECHINE, G. J. M. ; CATALANI, L. H. Obtenção de rede polimérica SIPN a partir da irradiação de blendas de quitosana e PVP. In: 29a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia. Anais da 29a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo, SP: Sociedade Brasileira de Química, 2006. p. 17852.

EMERENCIANO, V.P.; FERREIRA, M.J.P.; ALVARENGA, S.A.V.; BRANT, A.J.C. "Aplicação de redes neurais em quimiotaxonomia. Classificação de grupos vegetais"; XXIII RESEM, QM-19 (2001).

BRANT, A.J.C.; EMERENCIANO, V.P.; RUFINO, A.R.; FERREIRA, M.J.P.; MAGRI, F.M.M.; KAPLAN, M.A.C. "Equilíbrio oxidativo entre nove classes de metabólitos secundários em tribos de Asteraceae"; XXIII RESEM, QM-14, São Paulo, 2001.

BRANT, A.J.C.; EMERENCIANO, V.P.; RUFINO, A.R.; FERREIRA, M.J.P.; KAPLAN, M.A.C. "Uso da estatística multivariada na análise de ocorrências de benzofuranos e de outras classes químicas aromáticas em Asteraceae"; XXIII RESEM, QM-15, São Paulo, 2001.

RUFINO, A.R.; EMERENCIANO, V.P.; FERREIRA, M.J.P., BRANT, A.J.C., "Identificação de esqueletos dos alcalóides benzilisoquinolínicos, quinolínicos, quinolizidínicos e aporfínicos através de dados de RMN ^{13}C "; XXIII RESEM, PN-19, São Paulo, 2001.

RUFINO, A.R.; EMERENCIANO, V.P.; BRANT, A.J.C.; FERREIRA, M.J.P. "Previsão de esqueletos de alcalóides aporfínicos utilizando técnicas de redes neurais e RMN ^1H "; XXIII RESEM, PN-20, São Paulo, 2001.