Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos

NÍZIA SOPHIA MAYER DENARI

Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico

São Carlos

2014

Nízia Sophia Mayer Denari

Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química Analítica e Inorgânica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Maria de Guzzi Plepis

São Carlos

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Exemplar revisado

**O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do
IQSC-USP**

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Denari, Nízia Sophia Mayer

Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico. / Nízia Sophia Mayer Denari. – São Carlos, 2014.
137 f.

Dissertação (Mestrado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Carlos, 2014.
Edição revisada

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria De Guzzi Plepis

1. Quitosana. 2. Gelatina. 3. Amido. 4. Beta-quitina. 5. Reologia. I. Título.

*Referências Bibliográficas
conferidas pelo SBI/IQSC*

Aos meus Pais, à minha Mãe e ao Gabriel.

Agradecimentos

Sou profundamente agradecida,

primeiramente à Deus, que me deu forças para conquistar o que Ele trilhou para mim;

à Universidade de São Paulo por ter-me dado a oportunidade de cursar mestrado;

à Prof^a. Dr^a. Ana Maria de Guzzi Plepis, pela amizade, orientação e compreensão que foi de fundamental importância para eu conseguir conciliar o mestrado com o emprego;

à Virgínia da Conceição Amaro Martins, pela amizade, incentivo e pela ajuda na elaboração deste estudo;

ao meu pai Manoel e minha mãe Maria Aparecida pelo amor incondicional e por acreditarem que eu conseguiria estudar e trabalhar ao mesmo tempo, sempre ajudando a superar os obstáculos e se desdobrando para oferecer possibilidades de eu realizar meus objetivos;

à minha irmã Nathalia pelo amor, amizade e torcida verdadeira, ao meu cunhado Fernando e aos meus sobrinhos queridos;

ao Gabriel, pelo amor, amizade, atenção, companheirismo, paciência, apoio, incentivo e carinho, que se tornou indispensável e insubstituível;

aos meus queridos avós;

à minha tia Márcia (in memoriam) que ficaria feliz por mim, ao meu primo Léo e ao meu tio Carlos;

à Rachel Passos de Oliveira Santos pela amizade fraternal, companheirismo na UFSCar e na USP e por todos os bons momentos;

à querida prima Gabriela Bueno Denari pela amizade e acolhimento na USP;

aos amigos do Grupo de Bioquímica e Biomateriais do IQSC, em especial ao Mateus, Juba, Eduardo, Yasmin, Marcelo, Danilo e Lucas;

aos colegas e amigos que fiz durante a jornada do mestrado, em especial à Daniella Souza, Erika Almeida, Cristina Gomes, Bruno Manzolli e ao Fernando de Oliveira.

aos meus familiares que torceram por mim e à família do Gabriel;

aos bons amigos da UFSCar (Mayra, Denise, Mari, Juliana, Érica, Zeh, Diogo, Thiaguinho, Gustavo...) que estão distantes e os do Colégio (Tammy, Marina, Raphael, Renato, Bruno, Diego e Paulo) que fizeram parte da caminhada para minha formação pessoal;

aos professores Dockal e Massami do DQ-UFSCar por todas as conversas e momentos divertidos e por todo incentivo durante minha graduação.

à Prof^a. Dr^a. Elisabete Frollini por ceder o equipamento de DMA para os ensaios de tração e ao técnico Luis Antonio Ramos pelo auxílio nos ensaios;

à empresa Miami Pescados de Cananéia que forneceu os gládios de lula;

à Capes pela concessão da bolsa de estudo;

À Silvia, Andreia e ao Gustavo do Serviço de Pós-Graduação;

à Eliana do SBI do IQSC, pela compreensão e auxílio;

por fim, à todos que contribuíram de alguma forma para esse trabalho.

“Então Deus disse a Salomão: Porquanto houve isto no teu coração, e não pediste riquezas, bens ou honra, nem a morte dos que te odeiam, nem tampouco pediste muitos dias de vida, mas pediste para ti sabedoria e conhecimento (...)”

2 Crônicas 1: 7-11

RESUMO

DENARI, N. S. M. **Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico**. 2014. 134 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

Derivada da quitina, a quitosana apresenta aplicações que variam desde a liberação controlada de fármacos, a filmes de revestimento comestível, biomaterial, lentes de contato. A utilização da beta-quitina para obter a quitosana é vantajosa, pois apresenta-se menos alergênica e mais reativa que a alfa-quitina. A combinação da quitosana com outros materiais pode proporcionar materiais com diferentes propriedades e neste trabalho foram estudadas as misturas de quitosana/gelatina e quitosana/amido, solubilizadas em L-ácido láctico. Técnicas como FT-IR, termogravimetria, absorção de água, ensaios de DMA no modo tração e análises reológicas foram usadas em ambas as misturas nas proporções 2:1, 1:1 e 1:2. Os espectros FT-IR mostraram que nos géis e filmes ocorreu interação eletrostática entre os componentes. A termogravimetria mostrou que há diminuição da estabilidade térmica dos componentes quitosana e gelatina quando em presença do L-ácido láctico, mas o amido pouco foi afetado pela presença do L-ácido láctico. Para os filmes, tanto no caso de quitosana/gelatina quanto no caso quitosana/amido, as misturas mais estáveis termicamente são as que contêm maior quantidade de gelatina ou amido. Isso mostra que é favorável a adição de gelatina ou amido à quitosana quando se deseja maior resistência à temperatura. O aumento da concentração de gelatina ou amido nos filmes de quitosana em L-ácido láctico aumentou a absorção de água, o que possibilita a aplicação como suporte na liberação controlada de fármacos. Os ensaios de DMA no modo tração mostraram que o aumento da quantidade de gelatina ou amido nos filmes torna estes mais frágeis. A mistura dos polímeros em diferentes proporções na formação dos géis mostrou que os géis de quitosana/amido adquiriram características de gel em menores frequências que os géis de quitosana/gelatina. O aumento da concentração de gelatina aumenta a temperatura de gelificação, mas para os géis de quitosana/amido nenhum efeito foi observado. Em relação à viscosidade, a gelatina mostrou comportamento newtoniano e as amostras de quitosana e as misturas apresentaram comportamento pseudoplástico, tanto em L-ácido láctico como em ácido acético. Os valores de energia de ativação (E_a) de fluxo calculados para quitosana/gelatina e quitosana/amido aumentaram com o conteúdo de quitosana. Os géis de quitosana/amido apresentaram menor E_a que os géis de quitosana/gelatina, apresentando, portanto, maior facilidade para fluir. Os valores de E_a de fluxo para os géis em L-ácido láctico são menores que os obtidos para géis em ácido acético. O ácido láctico melhorou as propriedades dos géis em relação ao ácido acético, proporcionando filmes mais flexíveis para a liberação controlada de fármacos e géis mais fáceis de deslizar na pele.

Palavras-chave: Quitosana. Beta-quitina. Gelatina. Amido. Reologia.

ABSTRACT

DENARI, N. S. M. **Chitosan/starch and chitosan/gelatin binary biomaterials solubilized in L-lactic acid**. 2014. 134 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

Derived from chitin, chitosan has applications ranging from drug delivery system, edible films, biomaterials, contact lenses. The use of beta-chitin for chitosan preparation is advantageous because it is less allergenic and more reactive than alpha-chitin. The association of chitosan with other materials can provide materials with different properties. In this work, mixtures of chitosan/gelatin and chitosan/starch solubilized L-lactic acid were studied. Techniques such as FT-IR, thermogravimetry, water absorption, DMA in traction mode and rheology were studied in both mixtures with proportions of 2:1, 1:1 and 1:2. FT-IR spectra showed that both, gels and films, presents electrostatic interaction between the components. The thermogravimetric analysis has shown that there is a decrease in thermal stability of gelatin and chitosan in the presence of L-lactic acid. Thermal stability of starch was little affected by the presence of L-lactic acid. The most thermally stable films are those containing higher amounts of gelatin or starch. This shows that the addition of gelatin or starch to chitosan is favorable. Increasing the gelatin or starch concentration in the films provoked an increase in water absorption, which enables the application to drug delivery system. DMA tests in traction mode showed that increasing the gelatin or starch amount turns films more fragile. Chitosan/starch biomaterial presents gel characteristics at lower frequencies than chitosan/gelatin biomaterial. Increasing the gelatin concentration, an increasing in gelation temperature was observed, however for chitosan/starch gels, no effect was observed. Regarding the viscosity, gelatin showed Newtonian behavior while chitosan samples and the mixtures exhibited pseudoplastic behavior both in L-lactic and acetic acid. The values of flow activation energy calculated for chitosan/gelatin and chitosan/starch increased with chitosan amount. The chitosan/starch gels showed lower energy when compared to chitosan/gelatin gels, thus presenting facility to flow. The values of E_a to chitosan/gelatin and chitosan/starch solubilized in L-lactic acid are smaller than those obtained in acetic acid. L- lactic acid improved the properties of gels with respect to acetic acid, resulting in more flexible films for drug delivery system and gels easier to slide in the skin.

Keywords: Chitosan. Beta-chitin. Gelatin. Starch. Rheology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da (A) quitina e (B) celulose.....	23
Figura 2. Estrutura da quitosana.	26
Figura 3. Estruturas alfa e beta-quitina.....	24
Figura 4. Formas nas quais as cadeias de quitina se organizam: a) α , b) β e c) γ	25
Figura 5. Reação da desacetilação da quitina.....	28
Figura 6. Desnaturação do colágeno.....	31
Figura 7. Materiais usados na produção de gelatina.	32
Figura 8. Síntese do amido.....	33
Figura 9. Estruturas da: (A) Amilose e (B) Amilopectina.	34
Figura 10. Escoamento de um fluido newtoniano.....	39
Figura 11. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento fluido newtoniano.....	41
Figura 12. Tipo de fluidos: dilatante, pseudoplastico, newtoniano.....	42
Figura 13. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para fluido plástico.....	43
Figura 14. Comparação do comportamento de: fluido de Bingham e fluido newtoniano.....	43
Figura 15. Comportamento dos fenômenos: Tixotrópicos e Reopéticos.	44
Figura 16. Esquema do processo de obtenção da quitosana.....	49
Figura 17. Gládio de lula a ser desmineralizado.....	56
Figura 18. Quitosana obtida.	57
Figura 19. Curva de titulação condutimétrica obtida da amostra de quitosana.	58
Figura 20. Curva de viscosidade reduzida em função da concentração.	60
Figura 21. Filmes de: (a) QL, (b) QG21L, (c) QG11L, (d) QG12L e (e) GL.	62
Figura 22. Filmes de: (a) QL, (b) QA21L, (c) QA11L, (d) QA12L e (e) AL.....	62

Figura 23. Espectro de absorção no infravermelho: quitosana e QL.....	63
Figura 24. Espectro de absorção no infravermelho: gelatina e GL.....	65
Figura 25. Espectro de absorção no infravermelho: amido e AL.....	67
Figura 26. Espectros na região do infravermelho de: QL, QG21L, QG11L, QG12L e GL.	69
Figura 27. Espectros na região do infravermelho de: QL, QA21L, QA11L, QA12L e AL.....	69
Figura 28. Curvas termogravimétricas: quitosana e filmes QL.	71
Figura 29. Curvas termogravimétricas: gelatina e filmes GL.	72
Figura 30. Curvas termogravimétricas: amido e filmes AL.	73
Figura 31. Curvas termogravimétricas dos filmes: QG12L, QG11L e QG21L.	75
Figura 32. Curvas termogravimétricas dos filmes: QA12L, QA11L, e QA21L.	76
Figura 33. Absorção de água para os filmes QL, QG12L, QG11L, QG21L e GL.	79
Figura 34. Absorção de água para os filmes QL, QA12L, QA11L e QA21L.	80
Figura 35. Curvas representativas dos ensaios de DMA no modo tração dos filmes: (A) QG11L, QG12L, QG21L, (B) QA11L, QA12L, QA21L.....	83
Figura 36. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para QL, em 1,0 Hz: G' e G''	85
Figura 37. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para a QG11L, em 1,0 Hz: G' e G''	85
Figura 38. Módulos elástico G' e viscoso G'' , em função da frequência angular a 25°C para os géis: QL, QG21L, QG11L, QG12L e GL.	87
Figura 39. Módulos elástico G' e viscoso (G''), em função da frequência angular a 25°C para os géis: QL, QA21L, QA11L e QA12L.	87

Figura 40. Módulos, elástico G' e viscoso G'' , em função da frequência angular, a 25°C, para os géis: QAc, QG21Ac, QG11Ac, QG12Ac e GAc.	88
Figura 41. Módulos, elástico G' e viscoso G'' , em função da frequência angular, a 25°C, para os géis: QAc, QA21Ac, QA11Ac e QA12Ac.	89
Figura 42. Módulos elástico G' e viscoso, em função da temperatura para os géis de: QL, QG11L, QG12L, QG21L e GL, a frequência de 1,0 Hz.	91
Figura 43. Módulo elástico G' e viscoso, em função da temperatura para os géis de: QL, QA11L, QA12L e QA21L, a frequência de 1,0 Hz.	91
Figura 44. Temperatura de gelificação (°C) por teor de quitosana para os filmes: quitosana/gelatina e quitosana/amido em L-ácido láctico.	92
Figura 45. Módulos, elástico G' e viscoso G'' , em função da temperatura para os géis de: QAc, QG11Ac, QG12Ac, QG21Ac e GAc, à frequência de 1,0 Hz.	93
Figura 46. Módulos elástico G' e viscoso G'' , em função da temperatura para os géis de: QAc, QA11Ac, QA12Ac e QA21Ac, à frequência de 1,0 Hz.	93
Figura 47. Temperatura de gelificação (°C) por composição de quitosana para quitosana/gelatina e quitosana/amido.	94
Figura 48. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para cada composição de quitosana, a 25 °C, para: (A) QL, QG11L, QG12L, QG21L e GL e (B) QL, QA11L, QA12L e QA21L.	97
Figura 49. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para cada composição de quitosana, a 25 °C, para: (A) QAc, QG11Ac, QG12Ac, QG21Ac e GAc e (B) QAc, QA11Ac, QA12Ac e QA21Ac.	97

Figura 50. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG21L 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C e (B) QA21L 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C.....	98
Figura 51. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG21Ac 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C e (B) QA21Ac 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C.....	99
Figura 52. Energia de ativação em função do teor de quitosana, para quitosana/gelatina e quitosana/amido, em L-ácido láctico.	101
Figura 53. Energia de ativação em função do teor de quitosana, para quitosana/gelatina e quitosana/amido, em ácido acético.	102
Figura 54. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para A) GL, B) QG12L e C) QG21L, em 1,0 Hz: G' e G''.	123
Figura 55. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para D) QA11L, E) QA12L e F) QA21-AL, em 1,0 Hz: G' e G''.	124
Figura 56. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para G) QAc, H) GAc, I) QG11Ac, J) QG12Ac e K) QG21-AAc, em 1,0 Hz: G' e G''.	125
Figura 57. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para L) QA11Ac, M) QA12Ac e N) QA21-AAc, em 1,0 Hz: G' e G''.	126
Figura 58. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 35°C: (A) QL, QG11L, QG12L, QG21L e GL e (B) QL, QA11L, QA12L e QA21L.....	127
Figura 59. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 45°C: (A) QL, QG11L, QG12L, QG21L e GL e (B) QL, QA11L, QA12L e QA21L.....	127
Figura 60. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 55°C: (A) QL, QG11L, QG12L, QG21L e GL e (B) QL, QA11L, QA12L e QA21L.....	128

Figura 61. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 65 °C: (A) QL, QG11L, QG12L, QG21L e GL e (B) QL, QA11L, QA12L e QA21L.....	128
Figura 62. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 30 °C: (A) QAc, QG11Ac, G12Ac, QG21Ac e GAc e (B) QAc, QA11Ac, QA12Ac e QA21Ac.....	128
Figura 63. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 35 °C: (A) QAc, QG11Ac, QG12Ac, QG21Ac e GAc e (B) QAc, QA11Ac, QA12Ac e QA21Ac.....	129
Figura 64. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 40°C: (A) QAc, QG11Ac, QG12Ac, QG21Ac e GAc e (B) QAc, QA11Ac, QA12Ac e QA21Ac.....	129
Figura 65. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 45°C: (A) QAc, QG11Ac, QG12Ac, QG21Ac e GAc e (B) QAc, QA11Ac, QA12Ac e QA21Ac.....	129
Figura 66. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para QL 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C.....	130
Figura 67. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG11L 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C e (B) QA11L 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C.....	130
Figura 68. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG12L 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C e (B) QA12L 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C.....	131
Figura 69. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para QAc: 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C.....	131

Figura 70. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG11Ac 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C e (B) QA11Ac 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C..... 132

Figura 71. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG12Ac 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C e (B) QA12Ac 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C..... 132

Figura 72. Gráfico para o cálculo da Ea dos géis: QL, QG11L, QG12L, QG21L, QA11L, QA12L, QA21L..... 133

Figura 73. Gráfico para o cálculo da Ea dos géis: QAc, QG11Ac, QG12Ac, QG21Ac, QA11Ac, QA12Ac, QA21Ac. 133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de quitina e carbonato de cálcio em diferentes organismos. .25	25
Tabela 2. Produtos a base de quitina/quitosana mais comercializados.....30	30
Tabela 3. Amostras, siglas e teores de quitosana correspondentes.....52	52
Tabela 4. Bandas teóricas e bandas obtidas dos espectros da quitosana e QL.....64	64
Tabela 5. Bandas teóricas e bandas obtidas dos espectros da gelatina e GL.....66	66
Tabela 6. Bandas teóricas e bandas obtidas dos espectros do amido e AL.....67	67
Tabela 7. Bandas encontradas nos espectros das misturas quitosana/amido e quitosana/gelatina e suas atribuições.70	70
Tabela 8. Perda de massa (%) para os componentes puros e seus filmes em L-ácido láctico.....74	74
Tabela 9. Valores de T_{onset} e da DTG, em (°C), para os filmes.....75	75
Tabela 10. Perda de massa (%) para os filmes de quitosana, gelatina, amido, quitosana/gelatina e quitosana/amido em ácido láctico.77	77
Tabela 11. Valores de espessura para os filmes.78	78
Tabela 12. Valores médio de tensão e alongação na ruptura para os filmes de quitosana/amido e quitosana/gelatina.82	82
Tabela 13. Valores de frequência angular, em rad s^{-1} , encontrados no cruzamento dos módulos elástico e viscoso para as amostras.90	90
Tabela 14. Valores das temperaturas de gelificação (°C) para as amostras em ácido láctico e em ácido acético.95	95
Tabela 15. Energia de Ativação para cada amostra.100	100
Tabela 16. Equações de reta e valores de r para cada amostra nos gráficos de E_a134	134

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac – Ácido acético

AAc – Amido em ácido acético

AL – Amido em ácido L- láctico

DMA – Dynamic Mechanical Analysis

Ea – Energia de ativação

FT-IR – Fourier transform infrared spectroscopy

GAc – Gelatina em ácido acético

GL – Gelatina em ácido L- láctico

NaAc – Acetato de sódio

QAc – Quitosana em ácido acético

QA21Ac – Quitosana/amido (2:1) em ácido acético

QA11Ac – Quitosana/amido (1:1) em ácido acético

QA12Ac – Quitosana/amido (1:2) em ácido acético

QA21L – Quitosana/amido (2:1) em ácido L- láctico

QA11L – Quitosana/amido (1:1) em ácido L- láctico

QA12 – Quitosana/amido (1:2) em ácido L- láctico

QG21Ac – Quitosana/gelatina (2:1) em ácido acético

QG11Ac – Quitosana/gelatina (1:1) em ácido acético

QG12Ac – Quitosana/gelatina (1:2) em ácido acético

QG21L – Quitosana/gelatina (2:1) em ácido L- láctico

QG11L – Quitosana/gelatina (1:1) em ácido L- láctico

QG12L – Quitosana/gelatina (1:2) em ácido L- láctico

QL – Quitosana em ácido L- láctico

TG – Termogravimetria

Tgel – Temperatura de gelificação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1. Biomateriais.....	21
3.2. Quitina e Quitosana	22
3.3. Gelatina	31
3.4. Amido	33
3.5. Misturas binárias.....	35
3.6. Reologia	38
3.6.1. Viscosidade.....	39
3.6.2. Classificação dos materiais fluidos	40
3.6.2.1 Fluidos Newtonianos.....	40
3.6.2.2 Fluidos não Newtonianos.....	41
3.6.3. Elasticidade.....	45
3.6.4. Viscoelasticidade	45
3.6.5. Reologia dos componentes e misturas	46
4. MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1. Obtenção da Quitosana	48
4.1.1. Determinação do grau de acetilação da quitosana por titulação condutimétrica.....	49
4.1.2. Determinação da massa molecular média da quitosana por viscosimetria capilar.	50
4.2. Preparação dos géis e filmes	50
4.3. Caracterização dos géis e filmes	53
4.3.1. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR).....	53
4.3.2. Estabilidade Térmica.....	53
4.3.3. Espessura dos filmes	54
4.3.4. Absorção de água	54

4.3.5. Análise DMA no modo tração.....	54
4.3.6. Estudo reológico dos géis	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1. Obtenção da quitosana.....	56
5.2. Caracterização da quitosana obtida	57
5.2.1. Determinação do grau de acetilação.....	58
5.2.2. Determinação da massa molar da quitosana por viscosimetria capilar.....	59
5.3. Géis e filmes	61
5.4. Caracterização dos géis e filmes	63
5.4.1. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR).....	63
5.4.2. Estabilidade térmica.....	71
5.4.3. Espessura dos filmes	77
5.4.4. Absorção de água	79
5.4.5. Análise DMA no modo tração.....	81
5.4.6. Ensaio reológico	84
5.4.6.1. Determinação da região viscoelástica	84
5.4.6.2. Ensaio de frequência	86
5.4.6.3. Ensaio de temperatura.....	90
5.4.6.4. Medidas de fluxo.....	96
6. CONCLUSÕES.....	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
APÊNDICE.....	123
APÊNDICE A – DETERMINAÇÃO DA REGIÃO VISCOELÁSTICA.....	123
APÊNDICE B – MEDIDAS DE FLUXO EM UMA TEMPERATURA.....	127
APÊNDICE C – MEDIDAS DE FLUXO COM VARIAÇÃO DE TEMPERATURA ...	130
APÊNDICE D – GRÁFICOS PARA DETERMINAÇÃO DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO - MODELO DE WILLIANSON	133

1. INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos, como a celulose e quitina são encontrados abundantemente no complexo da biomassa e contribuem para a sustentação renovável da cadeia de energia e matéria prima. Em relação à quitina, o processamento do resíduo da indústria pesqueira é um exemplo rico de disponibilidade deste material, no qual, além da quitina, outros subprodutos podem ser obtidos, cujo aproveitamento, minimiza significativamente o impacto ambiental que provocaria o descarte do resíduo. Um dos principais interesses na extração da quitina é a obtenção do polissacarídeo quitosana.

A quitina pode ser obtida através de processamento relativamente simples a partir das carapaças de insetos, crustáceos, moluscos e de algumas espécies de fungos. A quitina apresenta estruturas polimórficas (α , β e γ -quitina) de acordo com o organismo do qual foi extraída. É possível encontrar vários trabalhos na literatura utilizando a α -quitina, por ser a mais abundante (HAYES, 2012). Entretanto, a β -quitina é mais prontamente disponível no descarte de resíduos do processamento de lulas, além disso, a β -quitina apresenta suas cadeias dispostas paralelamente, o que leva a uma menor densidade de empacotamento, facilitando sua desacetilação (GUNNARSON, 2011) sendo possível obter uma quitosana mais flexível e elástica (VENUGOPAL, 2011), além do que também favorece modificações químicas e enzimáticas (GUNNARSON, 2011).

O polissacarídeo quitosana apresenta propriedades que possibilitam sua utilização como biomaterial, com base em características como: ser bactericida, biocompatível, biodegradável e atóxico (NWE *et al.*, 2009).

Considerando que a quitosana pode fazer interações devido a sua capacidade de aderir às superfícies carregadas negativamente, torna-se possível agregar diversos materiais à ela (YUAN *et al.*, 2013), melhorando as propriedades das misturas resultantes (DENAVI *et al.*, 2009). Exemplos destes materiais são: amido, gelatina, colágeno, xantana, albumina, glúten, seda e substâncias plastificantes (NITTA *et al.*, 2013; DANCZUK, 2007).

Outro fator a ser considerado neste trabalho é o uso do L-ácido láctico nas misturas. É comum encontrar o uso do ácido acético como meio de solubilizar a mistura, no entanto, de acordo com Niamsa e Baimark (2009) uma característica importante do ácido láctico é que, este aumenta a absorção de umidade dos filmes de quitosana. Isto auxilia na liberação controlada de fármacos por difusão, visto que a maior presença de água nos filmes, aumenta a difusão do princípio ativo pelos poros da matriz (LYRA et al., 2007), sendo esta uma das possíveis aplicações resultantes das misturas estudadas.

Neste trabalho foram utilizadas separadamente duas das substâncias citadas, a gelatina e o amido, com o propósito de se estudar as características resultantes da adição de cada uma à quitosana obtida da desacetilação de beta quitina. Assim, a combinação entre os dois polímeros, deve ser estudada para analisar se houve melhora nas propriedades dos materiais resultantes, aumentando, por exemplo, a sua absorção de água, elasticidade e estabilidade térmica (HUANG et al., 2005).

2. OBJETIVOS

Preparação, caracterização e estudo das propriedades físico-químicas e viscoelásticas de compósitos binários de quitosana/gelatina e quitosana/amido preparadas em L-ácido láctico, usando quitosana proveniente de β -quitina extraída de gládios de lula.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomateriais

Williams (2009) definiu biomaterial da seguinte maneira: "substância projetada para assumir uma forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, por controle de interações com os componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico". Assim, os biomateriais não necessariamente atuam como material inerte, mas podem auxiliar em um tratamento, controlando as interações entre parte de um organismo e fatores prejudiciais, como, por exemplo, as bactérias, promovendo atividade antibacteriana (CAMPOCCIA, 2010).

No desenvolvimento de novos biomateriais, áreas como a química, engenharia de materiais, a engenharia de tecidos e a nanotecnologia são de extrema importância. O processo de fabricação engloba a seleção de material, a análise das quantidades e as reações que o material pode causar no organismo. Os biomateriais podem ser metálicos ou ligas metálicas, cerâmicos, compósitos ou poliméricos. Os biomateriais mantêm contato com fluidos corporais e tecidos, assim devem ser meticulosamente analisados para evitar que produzam resposta biológica adversa e que sejam tóxicos. (MORAIS *et al.*, 2007).

Em relação aos biomateriais poliméricos, há alguns materiais que apresentam características importantes como a bioabsortividade e a biodegradabilidade, uma vez que possibilitam a degradação dos polímeros sem causar prejuízos a um organismo ou ao meio ambiente, facilitando o descarte (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SANTOS; WADA, 2007). No caso de biomateriais para o uso em organismos, a biocompatibilidade é outra característica a ser considerada como vantajosa, visto que é importante na regeneração tecidual ou óssea sem apresentar toxicidade (VIANA, 2013).

Um polímero que apresenta as características mostradas é a quitosana, que se diferencia de outros polímeros por ser bactericida, biocompatível, biodegradável e não tóxica (NWE *et al.*, 2009) para o ser humano, propiciando assim, sua utilização como biomaterial.

Lien *et al.* (2009) mostram que o uso da gelatina como biomaterial também é interessante por ser um biocompatível, biodegradável, é solúvel em pH fisiológico a temperatura ambiente e apresenta baixa antigenicidade, características estas que valorizam essa substância para aplicações farmacêuticas.

O amido também apresenta potenciais características de biomaterial, como por exemplo, ser utilizado na liberação controlada de fármacos, como cimento ósseo e na engenharia de tecidos (MARQUES *et al.*, 2002).

Polímeros de gelatina e amido quando utilizados separadamente com a quitosana podem agregar ou não valor ao biomaterial, por isso é fundamental analisar as características resultantes da adição destes à quitosana (BRANT, 2008).

3.2. Quitina e Quitosana

A quitina apresenta estrutura similar à da celulose que é o principal constituinte das paredes celulares das plantas. A celulose é amplamente conhecida e apresenta várias aplicações, tais como: na fabricação de tecidos, de papel, na indústria cosmética e para a geração de etanol (GRANSTROM, 2009). Baseando-se na ampla aplicabilidade da celulose, muito também pode ser investigado sobre a quitina visto que ambas tem semelhanças na estrutura química. O que diferencia a celulose da quitina é que esta apresenta grupo acetamida no lugar do grupo hidroxila do carbono da celulose como é mostrado na Figura 1.

Figura 1. Estrutura da (A) quitina e (B) celulose.

Uma das vantagens no uso da quitina é a sua abundância, não se distanciando da celulose em disponibilidade. No mundo, milhões de toneladas da matéria-prima para a obtenção da quitina podem ser retiradas anualmente nos resíduos da indústria pesqueira e, portanto a quitina além da sua disponibilidade se apresenta como um biopolímero de baixo custo (DASH *et al.*, 2011). Ademais, devido à alta capacidade de reprodução dos organismos citados, a quitina apresenta uma taxa de reposição na biosfera duas vezes maior que a taxa de reposição da celulose (CAMPANA-FILHO *et al.*, 2007).

Entretanto, quando a quitina, como resíduo da indústria pesqueira é descartada nos rios, provoca o aumento da demanda bioquímica de oxigênio devido à presença de compostos orgânicos no meio aquático, sendo assim considerada poluente. Portanto, a redução desse resíduo propicia menor impacto ao meio ambiente (BESSA-JUNIOR *et al.*, 2013) e essa redução pode ser feita utilizando a quitina e outros subprodutos para a fabricação de rações, adubos e na obtenção da quitosana.

A quitina é uma substância natural que pode ser obtida a partir de resíduos de casca de camarões, caranguejos, lagostas e krills gerado pela indústria pesqueira, devido ao fácil acesso (KURITA, 2006). Outras fontes consideradas promissoras para a quitina e conseqüentemente para a produção de quitosana são as ostras, as medusas, as algas, os insetos e fungos (KURITA, 2001).

Geralmente, é encontrada cerca de 15 a 40% de quitina nas carapaças, juntamente com 20 a 40% de proteínas e 20 a 50% de carbonato de cálcio, o restante são pigmentos e sais de metais (KURITA, 2006).

Existem três formas polimórficas de quitina (α , β , γ), porém as mais comuns de se encontrar são a α e a β , que estão representadas na Figura 2.

Figura 2. Estruturas alfa e beta-quitina (PILLAI et al., 2009).

Essas três formas de quitina se diferenciam pela forma na qual suas cadeias se organizam, como representado esquematicamente na Figura 3:

Figura 3. Formas nas quais as cadeias de quitina se organizam: a) α , b) β e c) γ (adaptado de SILVA, 2011).

Estruturas α apresentam cadeias paralelas e antiparalelas alternadamente, as estruturas β apresentam somente cadeias paralelas e as estruturas γ apresentam duas cadeias paralelas seguido de uma antiparalela.

A α -quitina é encontrada em camarões, caranguejos, no exoesqueleto de artrópodes e na parede celular de fungos, como *Mycelia Penicillium*, a β -quitina em moluscos marinhos como a lula e a γ -quitina na carapaça de insetos (HAMÚ, 2007). A Tabela 1 mostra a quantidade de quitina e carbonato de cálcio nos organismos dos quais a quitina é encontrada.

Tabela 1. Quantidade de quitina e carbonato de cálcio em diferentes organismos.

Fonte	Quitina (%)	CaCO ₃ (%)
Caranguejo (cutícula)	15-30	40-50
Camarão (cutícula)	30-40	20-30
Krill (cutícula)	20-30	20-25
Lula (gládios)	20-40	Insignificante
Moluscos (concha)	3-6	85-90
Insetos (cutícula)	5-25	Insignificante
Fungos (parede celular)	10-25	Insignificante

(Adaptado de KURITA, 2006)

Na forma α , a quitina forma ligações de hidrogênio com as cadeias vizinhas pela estrutura se apresentar na forma paralela e antiparalela. Já na forma β , a quitina não apresenta as ligações de hidrogênio observadas na forma α , devido às cadeias estarem dispostas na forma paralela (GUNNARSSON, 2011). Isso faz com que a β -quitina derivada de lula seja mais reativa por ter maior densidade de grupos não ligados, além de ter maior massa molar do que a α -quitina que é mais estável (GUNNARSSON, 2011). Embora menos comum que a α -quitina que está mais agregada a proteínas, lipídeos, carbonato de cálcio e a pigmentos (GONZAGA, 2012), a β -quitina pode ser derivada facilmente para a obtenção da quitosana, onde não há a necessidade de despigmentação (JUNG, 2013).

Comparando com a cutícula do camarão, o gládio de lula também contém alta quantidade de quitina, cerca de 20 a 40%, porém com quantidade mínima de carbonato de cálcio, pigmentos e outros minerais (KURITA, 2006).

A exploração do uso de gládios de lula é uma alternativa como matéria-prima para obtenção da quitina, visto que há sempre a necessidade de fontes confiáveis e renováveis de matéria-prima para a produção de quitina de qualidade e para suas aplicações comerciais (YOUN *et al.*, 2013).

A quitosana (Figura 4) é derivada do polímero natural quitina. A quitosana comercial pode ser produzida a partir da quitina e o que as diferencia é a quantidade de grupos acetamidas presentes nas estruturas e a solubilidade de ambas. A quitina tem baixa solubilidade em solução aquosa e solventes orgânicos, ao passo que a quitosana, por ser solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos (SILVA, 2011), apresenta maior interação com outros compostos químicos característica esta que sugerem um potencial produto comercial (DASH *et al.*, 2011).

Figura 4. Estrutura da quitosana (THARANATHAN, 2003).

Embora a quitosana seja solúvel em um maior número de compostos que a quitina, a solubilidade depende do pH do meio. Em pH abaixo de 6, ela forma um polímero catiônico, devido a protonação do grupo amino que proporciona maior interação com outras moléculas (MENDES *et al.*, 2011). Quando o pH é maior que 6, as aminas da quitosana tornam-se desprotonadas e o polímero perde sua carga, tornando-se insolúvel. Existem modificações que tornam a quitosana solúvel mesmo em pH acima de 6 (SILVA *et al.*, 2006), mas em geral a transição de solúvel para insolúvel, ocorre entre pH 6 e 6,5 (DAMIAN *et al.*, 2005). Como o valor do pKa é muito dependente do grau de acetilação, a solubilidade da quitosana varia com o grau e o método de desacetilação utilizado (CHO *et al.*, 2000). A massa molar é também um importante parâmetro que altera a solubilidade além de outras propriedades (ZHOU *et al.*, 2008).

A quitosana é um copolímero linear que apresenta unidades 2-acetamido-2-deoxi-d-glicopirranose e 2-amino-2-deoxi-d-glicopirranose. Essas unidades estão associadas através de ligações $\beta(1-4)$. Na molécula de quitosana, as aminas reativas e os grupos hidroxila podem ser usados para aumentar as interações permitindo a formação de complexos com outras moléculas através de atrações eletrostáticas ou ligações de hidrogênio (WANG, 2009), melhorando algumas propriedades como: a adesão, diminuindo a degradação, aumentando a atividade hemostática, antimicrobiana, antifúngica na formação de géis e filmes (MOURA, 2012). A hidrólise dos grupos acetamida da quitina ocorre em meio ácido ou alcalino. O meio ácido não costuma ser empregado devido a favorecer hidrólise ácida das ligações glicosídicas. Em meio alcalino, a desacetilação da quitina também pode não ser completa, pois pode ocorrer a degradação das cadeias poliméricas, mas é o método normalmente usado para obtenção da quitosana (AZEVEDO, 2007). A quitosana pura pode ser obtida ainda por certos fungos (*Mucoraceae*) que a produzem (DASH *et al.*, 2011).

A desacetilação da quitina (Figura 5), muito empregada industrialmente, é aquela realizada em suspensão em hidróxido de sódio. Alguns dos fatores que afetam as características e o grau de desacetilação da quitosana são: temperatura e tempo de reação, concentração de hidróxido de sódio, razão quitina e hidróxido de

sódio, tamanho das partículas de quitina, presença de agentes que evitam a despolimerização e a atmosfera da reação (AZEVEDO, 2007). As condições utilizadas para a desacetilação promovem diferenças na massa molar e no grau de acetilação do polímero obtido.

Figura 2. Reação da desacetilação da quitina (adaptado de FERREIRA *et al.*, 2009).

A biocompatibilidade da quitosana tem sido observada *in vitro* com células do miocárdio, células epiteliais, fibroblastos e hepatócitos (CHATELET *et al.*, 2001). A presença de grupos amino livres aumenta a adesão e a proliferação celular e isto, portanto, também é dependente do grau de acetilação da quitosana. Outras propriedades como: analgésica, antitumoral, hipocolesterolêmico, antioxidante e antimicrobiana, também fazem parte das propriedades que são afetadas pelo diferente grau de acetilação e massa molar da quitosana (DASH *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2004). O fato de apresentar excelente biocompatibilidade, alta biodegradabilidade e baixa toxicidade com várias atividades biológicas, tais como: atividade antimicrobiana, baixa imunogenicidade e propriedades cicatrizantes, têm proporcionado amplas oportunidades para a utilização da quitosana como biomaterial (CHANG *et al.*, 2013). Além dessas propriedades apresenta ainda atividade hemostática. Assim, a quitosana tem sido extensivamente estudada como material para área médica, odontológica e farmacêutica (STAMFORD *et al.*, 2012). A

quitosana encontra aplicação nas áreas alimentícias, de biotecnologia, produtos farmacêuticos, e na parte de biomateriais na área biomédica como suturas, lentes de contato e órgãos artificiais, sendo também aplicado na proteção ambiental e até mesmo na terapia genética (GAVHANE YOGESHKUMAR *et al.*, 2013).

Nas últimas décadas, a quitosana tem sido utilizada como excipiente em formulações de fármacos, pois os filmes de quitosana apresentam permeabilidade seletiva (de La FUENTE *et al.*, 2010; SABER *et al.*, 2010). A propriedade mais importante da quitosana em relação à liberação de fármaco é a sua carga positiva em condições ácidas. A molécula mantém sua estrutura em um ambiente neutro, porém se solubiliza e degrada em um ambiente ácido. Isto significa, que a quitosana pode ser usada para o transporte de um fármaco para um ambiente ácido e nele, degradar e liberar o princípio ativo. Um exemplo de fármaco a ser liberado é a insulina (SAKLOETSAKUN *et al.*, 2013). Sistemas que também utilizam a quitosana são estudados na liberação de proteínas, de antiinflamatórios e de antibióticos (DASH *et al.*, 2011).

Além da sua aplicação na liberação controlada de fármacos, a quitosana tem sido estudada como inibidor da proliferação de biofilmes microbianos. O biofilme pode ser definido como uma comunidade de microrganismos ligados a uma interface (LINDSAY *et al.*, 2006). O revestimento com quitosana previne a formação dos biofilmes, evitando que estes se agrupem à superfície de um implante, por exemplo (FAI *et al.*, 2008).

Na agricultura, a quitosana é usada no tratamento de sementes. Por ser antifúngica, ela aumenta a capacidade inata de plantas defenderem-se contra infecções fúngicas (GAVHANE YOGESHKUMAR *et al.*, 2013). A quitosana aumenta a fotossíntese, promove e estimula o crescimento da planta, estimula a absorção de nutrientes, aumenta a germinação e brotação das plantas. Além disso, aplicações de quitosana podem reduzir as deficiências das plantas causadas pela seca e falta de nutrientes do solo (GAVHANE YOGESHKUMAR *et al.*, 2013).

Outros empregos da quitosana são: no tratamento de água, como floculante; na remoção de íons metálicos e na redução de odores; em cosméticos; na indústria

alimentícia, como fibras dietéticas, fungicida e recobrimento de frutas (GOY et al., 2009; GAVHANE YOGESHKUMAR et al., 2013). Os principais fabricantes de produtos a base de quitina ou quitosana, bem como sua aplicação estão listados na Tabela 2. A quitosana também remove o fósforo, minerais pesados e óleos da água. E também tem sido usada para precipitar a caseína do leite bovino e na fabricação de queijos (YUAN, 2007).

Tabela 2. Produtos a base de quitina/quitosana mais comercializados.

Aplicação	Produto	Fabricante
Sutura bidegradável	Fibra de quitina	Yunichika Inc., Quioto, Japão
Cuidados com a pele	Quitina líquida	Ichimarn Farukosu Inc., Gifu, Japão
Pele artificial	Composto de quitosana e colágeno	Katakurachikkarin Inc., Tóquio, Japão
Cuidados com o cabelo	Quitosana despolimerizada	Wella Inc, Alemanha
Cuidados pessoais	Creme dental com quitosana	Chito-Bios, Ancona, Itália
Alimentos dietéticos	Macarrão contendo quitosana	NihonKayaku Inc, Tóquio, Japão
Cicatrização de feridas	Curativo hemostático; curativo hidrocolóide	HemCon Medical Technologies Inc., Oregon, EUA; 3M Inc., Minnesota, EUA
Produtos de nutrição ou farmacêuticos	Chá; cápsula de quitosana e cápsula de quitosana diet	Kitto Life, Seul, Coréia do Sul; Primex, Siglufjordur, Islândia; Whole Health Products, Colorado, EUA; Absolute Nutrition, Connecticut, EUA; Optimum Nutrition, Inc, EUA.

(Adaptado de CHEN, 2012)

A quitosana pode ser processada de diversas formas como pó, flocos, gel, filmes, fibras, microesferas e nanopartículas (LARANJEIRA; FÁVERE 2009). Devido à quitosana apresentar sítios carregados positivamente em meio ácido ocorre a alta capacidade de formar géis e membranas desse material (YUAN *et al.*, 2013).

3.3. Gelatina

A gelatina é uma mistura de peptídeos e proteínas de aparência translúcida e incolor, insípida e inodora. Ela é obtida através de desnaturação controlada ou degradação física e química da fibra insolúvel colágeno, como representado na Figura 6. A gelatina apresenta características como: biocompatibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade, antigenicidade, alta bioabsortividade, aderência e formação de filmes flexíveis. Testes realizados mostraram que a gelatina exibe ativação de macrófagos e apresenta alto efeito hemostático (HA *et al.*, 2013).

Figura 3. Desnaturação do colágeno (adaptado de HANSEN *et al.*, 1992).

Embora existam muitos processos em que o colágeno é convertido em gelatina, todos eles têm suas ligações inter e intra-moleculares e as ligações de hidrogênio quebradas, permitindo o seu rearranjo (PRESTES *et al.*, 2013). Após a preparação da matéria-prima, ou seja, reduzindo as ligações entre os componentes

de colágeno e removendo algumas das impurezas como sais e gorduras, o colágeno parcialmente purificado é convertido em gelatina através da extração com soluções de água ou ácido à temperaturas adequadas. Em relação a sua solubilidade, a gelatina é solúvel na maioria dos solventes polares e em água forma uma solução coloidal (YAO *et al.*, 2002).

Os géis de gelatina apresentam uma rede tridimensional composta de microcristais e regiões amorfas aleatoriamente dispersas, com a capacidade intrínseca dos géis serem termicamente reversíveis (YAO *et al.*, 2002), ou seja, uma das propriedades predominantes da gelatina é a transição de solução para gel. Esse polímero natural é estudado no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, engenharia de tecidos e curativos, pois é facilmente aplicável em seres humanos por ser reabsorvível (MALAFAYA *et al.*, 2007).

Outras aplicações da gelatina são: na cobertura das cápsulas de produtos farmacêuticos, a fim de facilitar a ingestão dos mesmos, na emulsão fotográfica, na fabricação de cabeças de fósforos e de lixa, na produção de cosméticos e como agente de gelificação em alimentos, suaviza papéis de impressão brilhante e mantém as rugas em papel crepom (PHILLIPS; WILLIAMS, 2000).

As gelatinas derivadas de resíduos bovinos e suínos são as mais comumente utilizadas, como pode ser visto na Figura 7. Há também, outras fontes de gelatina que apresentam relevância, sendo provenientes de ossos e peles de peixe (GOMÉZ-GUILLÉN *et al.*, 2009).

Figura 4. Materiais usados na produção de gelatina (adaptado de GOMÉZ-GUILLÉN *et al.*, 2009).

A composição aproximada de aminoácidos na gelatina é: 21% de glicina, 12% de prolina, 12% de hidroxiprolina, 10% de ácido glutâmico, 9% de alanina, 8% de arginina, 6% de ácido aspártico, 4% de lisina, 4% de serina, 3% de leucina, 2% de valina, 2% de fenilalanina, 2% de treonina, 1% de isoleucina, 1% de hidroxilisina, menos de 1% de metionina e histidina e menos de 0,5% de tirosina. Esses valores variam, especialmente os constituintes menores, dependendo da fonte da matéria-prima e técnica de processamento (JANA, 2011).

3.4. Amido

O amido é um polissacarídeo sintetizado pelas plantas e armazenado nas raízes, caules e sementes e utilizado como reserva energética. Sua função, portanto, é análoga ao do glicogênio nos animais. Além dessa função, o amido também se apresenta como um polímero biodegradável com excelente biocompatibilidade e atóxico (WANG *et al.*, 2007). Suas principais fontes são: o milho, a batata, o trigo, a mandioca, o arroz e o feijão.

A síntese do amido (Figura 8) assemelha-se à síntese do glicogênio, que consiste na adição de resíduos de glicose às extremidades de um núcleo de glicogênio.

Figura 5. Síntese do amido.

O amido é constituído praticamente por dois polissacarídeos de elevada massa molecular: a amilose e a amilopectina, cujas estruturas podem ser vistas na Figura 9. Em geral, o amido nativo é composto aproximadamente de 30% de amilose, 70% de amilopectina e menos de 1% de lipídios (ZHAI *et al.*, 2004). A amilose é uma macromolécula constituída de 250 a 300 resíduos de D-glicopirranose, ligadas por pontes glicosídicas α -1,4, que conferem à molécula uma estrutura helicoidal. A amilose contém regiões cristalinas e amorfas, formando uma estrutura linear constituída por unidades repetitivas de 1-4 α -glicose e é solúvel em água. A amilopectina é uma macromolécula, menos hidrossolúvel que a amilose, constituída de aproximadamente 1400 resíduos de α -glicose ligados por pontes glicosídicas α -1,4 (ocorrendo também ligações α -1,6), que dão a ela uma estrutura ramificada.

Figura 6. Estruturas da: (A) Amilose e (B) Amilopectina.

O amido é obtido à partir do endosperma de grãos. Quando a estrutura natural cristalina do amido é quebrada pode-se produzir um termoplástico, sendo

isso possível através de aplicação de calor, pressão, trabalho mecânico ou por adição de plastificantes como a glicerina (LU *et al.*, 2009).

Alguns usos do amido são: no tratamento da catapora, na alimentação, como fonte de glicose, na preparação de colas, na preparação de gomas utilizadas em lavanderia e fabricação de papel e tecidos, na fabricação de xaropes e adoçantes, na fabricação de álcool etílico e na liberação controlada de fármacos (OCHUBIOJO *et al.*, 2012).

3.5. Misturas binárias

Embora a quitosana, a gelatina e o amido apresentem boas propriedades para inúmeras aplicações, estas podem ser melhoradas através da misturas entre eles ou com outros compostos. Em relação à quitosana, aditivos podem ser misturados à mesma alterando suas propriedades (DENA VI *et al.*, 2009).

Comumente, o ácido acético é utilizado para solubilizar a quitosana. Entretanto, outro ácido que também pode ser utilizado para isso é o ácido láctico (ROMANAZZI *et al.*, 2009). Esse ácido é um composto orgânico que tem as funções orgânicas de ácido carboxílico e de álcool e apresenta fórmula molecular $C_3H_6O_3$. Já o ácido acético, é um ácido monocarboxílico alifático, de fórmula $C_2H_4O_2$. De acordo com Niamsa e Baimark (2009), uma característica importante do ácido láctico é que este aumenta a absorção de água dos filmes de quitosana. Eles também afirmam que a adição de ácido láctico aos filmes de quitosana proporciona-lhes maior flexibilidade; porém somente um isômero foi constatado como agente plastificante atuante, sendo este o L-ácido láctico. Em geral, os agentes plastificantes fornecem filmes mais plásticos e flexíveis quando introduzidos na mistura por quebrar as interações dipolares (MELO, 2007) e por terem baixa massa molar, ocuparem espaços intermoleculares entre as cadeias do polímeros, afastando umas das outras, aumentando o volume livre (ZULLO; IANNACE 2009). Não se sabe ao certo como ocorre a ligação entre o ácido láctico e a quitosana, entretanto constatou-se

que os grupos carbonila do ácido láctico podem interagir com os grupos amino livres da quitosana. Niamsa e Baimark (2009), afirmam que ácido láctico também pode ser usado no tratamento de alimentos e na liberação controlada de fármacos.

Como a quitosana tem a capacidade de aderir a superfícies carregadas negativamente, pode ocorrer a interação entre a quitosana e outros materiais. Exemplos destes materiais são: amido, gelatina, colágeno, xantana, albumina, glúten e seda.

De acordo com Wang *et al.* (2009), as interações entre a quitosana e a gelatina são provenientes de ligações eletrostáticas e ligações de hidrogênio e o tamanho da estrutura é afetado pela repulsão eletrostática entre os grupos positivos da quitosana e da gelatina. Assim, a combinação desses polímeros pode alterar as características dos materiais resultantes, aumentando ou diminuindo, por exemplo, a sua absorção de água, elasticidade e estabilidade térmica (HUANG *et al.*, 2005).

A gelatina, além de ter várias propriedades funcionais e aplicações, também apresenta a possibilidade de formação de película ou filme. Para a gelatina também foi constatado que seus filmes podem ter suas características (mecânicas, adesividade, biodegradabilidade, etc.) modificadas através da estratégia de aplicação de tratamentos químicos ou enzimáticos ou através da sua mistura com outros polímeros, porém, mantendo a qualidade dos componentes puros (GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2011). Em relação às propriedades químicas da gelatina, estas podem mudar devido à possíveis interações da gelatina com outras moléculas por ter vários grupos funcionais presentes na sua estrutura. (PRESTES *et al.*, 2013). Assim, a adição de outros polímeros pode levar à propriedades diferenciadas e mais adequadas para uma determinada aplicação.

De acordo com Laranjeira e Fávere (2009), o uso da quitosana com gelatina pode ser bastante promissor em relação a filmes com melhores propriedades mecânicas e que proporcionem maior adesão de células, pois a gelatina aumenta a resistência mecânica dos filmes com quitosana (YANG *et al.*, 2008). Assim, esta conhecida mistura oferece uma grande possibilidade para aplicação em engenharia de tecidos (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009). A mistura de gelatina com a quitosana

melhora a atividade biológica de géis e filmes, visto que a gelatina contém uma sequência de aminoácidos Arg-Gly-Asp que promovem a adesão e migração celular e formação de complexo polieletrólito (HUANG *et al.*, 2005). Além disso, no desenvolvimento de uma pele artificial, a quitosana com a gelatina são estudadas devido a capacidade de imitar os principais componentes da pele (PRESTES *et al.*, 2013; MAO *et al.*, 2003).

A mistura quitosana/gelatina tem sido muito utilizada como excipientes na liberação controlada de fármacos (CADICOU *et al.*, 2011; ENRIO *et al.*, 2010). Um exemplo é o uso do fármaco artemisinina que foi encapsulado em quitosana e gelatina para ter liberação prolongada (NANDAGIRI *et al.*, 2011). Existem inúmeros relatos sobre o uso de filmes de quitosana e gelatina para aplicações biomédicas (KOLODZIEJSKA *et al.*, 2006), no entanto, a maioria destes filmes foi preparada em solução de ácido acético. Wang *et al.* (2009), testaram a mistura quitosana/gelatina em L-ácido láctico, usando quitosana proveniente da alfa-quitina.

Em relação ao amido, a maior quantidade de amilose faz com que ocorra a formação de filmes mais rapidamente após a gelificação. O amido também apresenta as características de ser biodegradável, apresentar baixa toxicidade e baixo custo. Porém uma grande limitação é que o amido apresenta fragilidade e alta solubilidade em água. Ao ser misturado com outros polissacarídeos, o amido pode apresentar menos permeabilidade à água (MATHEW *et al.*, 2006).

Liu *et al.* (2012) mostraram que o amido e a quitosana formam filmes, com maior quantidade de grupos ionizáveis, o que facilita a interação com outro composto e ou controle da liberação de fármacos, em relação aqueles filmes feitos somente com quitosana, assim, o uso do amido juntamente com a quitosana pode apresentar uma boa alternativa de mistura.

A mistura de quitosana com amido tem sido estudada para microencapsulação de materiais bioativos e como cápsulas para a liberação controlada de fármacos, aumentando a conservação do fármaco, à medida que protege da degradação (BALMAYOR *et al.*, 2012; SABOKTAKIN *et al.*, 2011).

Exemplo de fármaco encapsulado em filmes de quitosana/amido é a gentamicina (BALMAYOR *et al.*, 2012).

Os estudos envolvendo misturas de quitosana/amido mais encontrados são em poli(L)-ácido láctico ou em poli(D,L)-ácido láctico (SOARES *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2011; OSAWA *et al.*, 2001) ao invés do uso em L-ácido láctico.

As possíveis aplicações dos géis e filmes de quitosana/gelatina e quitosana/amido são na liberação controlada de fármacos, no uso dos géis em cremes e como revestimento alimentício, pelos constituintes serem biodegradáveis e antibacterianos. No caso do uso de ácido láctico na liberação controlada de fármacos por difusão, a maior presença de água nos filmes, aumenta a difusão do princípio ativo pelos poros da matriz (LYRA *et al.*, 2007). Issac *et al.* (2008), cita que para o uso dessas substâncias na forma de géis e cremes, os ensaios reológicos dos componentes individuais e misturais se tornam essenciais para aplicação na indústria coméstica e farmacêutica. Com a caracterização reológica pode-se analisar a que temperatura o material se degrada, a validade do mesmo e o comportamento do fluido sem a necessidade de testes sensoriais.

3.6. Reologia

O significado da palavra reologia é “rheos” que significa fluir e “logia”, que significa estudo. A reologia então pode ser definida como o estudo de fluidez ou do escoamento e deformação dos materiais (NAVARRO, 1997).

A reologia foi definida pela primeira vez pelo professor Eugene Cook Bingham que fisicamente focou seu estudo nas mudanças na forma e no fluxo de um material. O estudo reológico engloba variáveis como a viscosidade, a plasticidade, a elasticidade e o escoamento. A medida reológica envolve o torque necessário e a velocidade de rotação de um sólido que se encontra em contato com o fluido a ser analisado. Segundo Findley *et al.* (1989), os materiais poliméricos são descritos pelo fluxo, se forem líquidos ou pela deformação, se forem sólidos. Com a reologia,

portanto, é possível analisar a capacidade de escoamento e também o quanto acumula deformações reversíveis (RAO, 2007).

3.6.1. Viscosidade

A viscosidade pode ser definida como a resistência que os fluidos oferecem ao movimento (ANCEY, 2005).

O que gera a deformação ou compressão de um material é a tensão de cisalhamento τ que ocorre sob duas placas, uma fixa e outra com movimento longitudinal. A tensão de cisalhamento pode ser definida como uma força F aplicada em uma área (A_0) do material. Essa tensão em uma amostra age paralelamente à superfície fixa como representando na Figura 10.

Figura 7. Escoamento de um fluido newtoniano (adaptado de PEDROSO, 2009).

De acordo com um modelo de placas paralelas, quando o material sofre uma variação entre sua velocidade de fluxo com a variação da altura das placas paralelas que promovem o cisalhamento, tem-se o que se chama de taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) (SCHRAMM, 2000). A viscosidade (η) então pode ser definida como mostrado na Equação 1.

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (\text{Equação 1})$$

no qual η é a viscosidade [Pa s], τ é a tensão de cisalhamento [N m^{-2}], e $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento [s^{-1}].

3.6.2. Classificação dos materiais fluidos

No que se refere à taxa de deformação e a tensão de cisalhamento, fluidos podem ser classificados como newtonianos e não newtonianos. Os não newtonianos se dividem em: independentes do tempo e dependentes do tempo. Já no que refere à deformação, os fluidos podem ser elásticos ou viscosos.

3.6.2.1. Fluidos Newtonianos

No fluido newtoniano a viscosidade mantém-se constante com a variação da taxa de cisalhamento.

Quando a pressão e temperatura são constantes, a viscosidade não é afetada pela taxa de cisalhamento, como pode ser visto na Figura 11.

Figura 8. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para fluido newtoniano.

3.6.2.2. Fluidos não Newtonianos

Nos fluidos não newtonianos a viscosidade varia com a variação da taxa de cisalhamento. Se a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, o fluido é classificado com comportamento pseudoplástico. Quando a viscosidade aumenta, o comportamento é o dilatante.

Os fluidos não newtonianos podem ser distinguidos em independentes do tempo e dependentes do tempo, de acordo com seu comportamento reológico.

- Fluidos não Newtonianos independentes do tempo:

Existem quatro tipos de comportamentos independentes do tempo: fenômeno da dilatância, fenômeno da pseudoplasticidade, fenômeno plástico e fenômeno da viscoplasticidade ou fluido de Bingham.

No fenômeno da dilatância, a viscosidade aparente aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento, como pode ser visto na Figura 12. A dilatância ocorre em

sistemas de partículas assimétricas ou também grandes, pois o empacotamento é dificultado. Este fenômeno é raro, porém pode ser encontrado em suspensões de amido em solventes orgânicos (SCHRAMM, 2000).

No caso do fenômeno da pseudoplasticidade, a viscosidade aparente, ou seja, a viscosidade dependente das condições em que o fluido é deformado ou sob tensão, diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, como pode ser visto também na Figura 12. Assim, as partículas que estão aleatórias são orientadas forçosamente em uma direção. Isto também pode ocorrer pelas moléculas estarem muito solvatadas e deste modo a solvatação é destruída pelo cisalhamento, ou também, pela mudança de estrutura muito enovelada para orientada no direcionamento do fluxo. Esses fluidos, em alguns casos, começam a escoar com tensões de cisalhamento extremamente pequenas, que aumentam com o aumento do cisalhamento.

Figura 9. Tipo de fluidos: (—●—) dilatante, (—▲—) pseudoplástico, (—■—) newtoniano.

Os fluidos plásticos são caracterizados por ter uma elevada viscosidade. São encontrados em sólidos e também em líquidos que se comportam como sólidos, devido a formação de uma rede de forças, por exemplo, polares e forças de Van der Waals. As curvas de fluxo desses fluidos não interceptam a ordenada na origem (Figura 13).

Figura 10. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para fluido plástico (—■—).

Os fluidos de Bingham se caracterizam pela tensão de cisalhamento apresentar um valor residual ou uma tensão inicial, como pode ser visto na Figura 14. Nesse fluido, a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento apresentam relação de proporcionalidade.

Figura 11. Comparação do comportamento de: (—●—) fluido de Bingham e (—■—) fluido newtoniano.

- Fluidos não newtonianos dependentes do tempo:

Os fluidos não newtonianos dependentes do tempo podem ser divididos em tixotrópicos e reopéticos. Nesses fenômenos, o tempo é de fundamental importância para o cisalhamento.

O fenômeno tixotrópico ocorre quando há a destruição estrutural pelo tempo, assim ocorre a diminuição da viscosidade aparente com o tempo de aplicação em uma dada taxa de deformação, como pode ser visto na Figura 15. Após o repouso, o fluido tende a voltar à condição inicial de viscosidade.

O fenômeno reopético é o contrário da tixotrópico (Figura 15), ou seja, ocorre o aumento da viscosidade aparente com o tempo em uma dada taxa de deformação. Do mesmo modo como o fluido tixotrópico, o fluido reopético apresenta a tendência de voltar à condição inicial de viscosidade.

Figura 12. Comportamento dos fenômenos: (—●—) Tixotrópicos e (—▲—) Reopéticos.

3.6.3. Elasticidade

O que caracteriza um material elástico é que além de sofrer deformação com o emprego de uma força, a deformação é desfeita após ser retirada a força empregada durante um ensaio.

Em uma deformação elástica tem-se o deslocamento $d\mathbf{l}/\mathbf{l}$ (sendo $\mathbf{l}$ a deformação inicial e $d\mathbf{l}$ a deformação gerada pela aplicação de uma tensão) e a força ($\mathbf{F}$) exercida no sistema. A relação entre a força $\mathbf{F}$ e o deslocamento pode ser vista na Equação 2:

$$F = G \cdot A_0 \cdot \frac{dl}{l} \quad (\text{Equação 2})$$

no qual $\mathbf{F}$ é a força [N], $\mathbf{G}$ é o módulo de Young ou módulo de elasticidade [N/m²], $\mathbf{A}_0$ área de deformação [m²], $d\mathbf{l}$ é a variação do comprimento [m] e $\mathbf{l}$ é o comprimento inicial [m].

3.6.4. Viscoelasticidade

Um material considerado viscoelástico se caracteriza por apresentar características tanto elásticas (material sólido), quanto viscosas (material líquido). A grande maioria dos líquidos apresenta comportamento viscoelástico. A viscoelasticidade dos polímeros está relacionada com tendência simultânea de armazenar e dissipar energia, no decorrer de uma solicitação mecânica (WASILKOSKI, 2006).

No comportamento viscoelástico linear, a tensão é proporcional à deformação e para se realizar essas medidas deve-se ter a deformação ou a tensão controladas.

Para se fazer os ensaios reológicos, deve-se ter uma diferença de fase ou um ângulo de defasagem entre a deformação e sua resposta. Existem três possibilidades de ângulo de defasagem: resultando em 0 (nesse caso, os sistemas são chamados de elásticos), em 90° (sistemas viscosos) e entre 0 e 90° (sistemas viscoelásticos).

Existem duas componentes elásticas, conhecidas por G' e G'' . O módulo elástico G' também conhecido como módulo de rigidez é a medida da energia acumulada e da energia liberada pelo material analisado, enquanto o módulo viscoso G'' ou módulo de dissipação mede a energia liberada pelo material. O módulo G^* relaciona o módulo elástico G' e o módulo viscoso G'' , ou seja, o módulo recuperável e o não-recuperável.

3.6.5. Reologia dos componentes e misturas

El-hefian e Yahaya (2010) afirmam que o estudo das propriedades reológicas de substâncias ou misturas é de fundamental importância para a aplicação comercial destas, pois os géis necessitam ter fluxos específicos para se adequar às diversas demandas. Assim, os testes reológicos são essenciais para análises dos materiais.

Kienzle-Sterzer *et al.* (1985) verificaram que a quitosana de carangueijo em HCl, apresenta comportamento pseudoplástico e que a viscosidade é proporcional a concentração de quitosana. Mucha *et al.* (1997) constatou que com o aumento da concentração de quitosana, ocorre o aumento da viscosidade devido ao maior emaranhamento das cadeias macromoleculares. Fernandez *et al.* (2006) relatou que existe mudança do comportamento do fluxo com relação a massa molar da quitosana, observou que géis de quitosana com baixa massa molar apresentaram comportamento pseudoplástico e com média massa molar apresentaram comportamento plástico. De acordo com El-hefian e Yahaya (2010), soluções de quitosana apresentam comportamento pseudoplástico em ácido acético, bem como misturas de quitosana com outros polímeros. Constataram também que as

propriedades viscoelásticas se alteram dependendo da quantidade de água nos géis.

Wulansari *et al.* (1998) estudou que em geral, soluções de gelatina apresentam comportamento newtoniano. Wang *et al.* (2009) verificou que a gelatina apresentou comportamento newtoniano em L-ácido láctico. Em relação à mistura de quitosana e gelatina, os mesmos autores constataram que ocorrem ligações de hidrogênio entre os compostos.

Com relação ao amido, Weber *et al.* (2009) citam que os seus géis são fracos (dependentes da frequência) e apresentam-se viscosos com o aumento da temperatura. Além disso, Nunes *et al.* (2010) analisou o amido gelatinizado de inhame e constatou que este apresentou comportamento pseuplástico quando submetido à taxa de cisalhamento. Guerrero *et al.*, (2009) fizeram medidas reológicas com o amido, no qual esse apresentou comportamento pseudoplástico e viscoelástico característico de gel fraco. Horn (2012) verificou que géis de quitosana e amido em etilenoglicol ou glicerol ou sorbitol, apresentaram comportamento pseuplástico em ensaios de viscosidade.

Nos estudos reológicos dos géis de misturas entre quitosana e outros polímeros, os resultados dos reogramas das misturas que são intermediários aos resultados dos componentes puros, mostram que pode haver interações entre os componentes, existindo miscibilidade na mistura (EL-HEFIAN; YAHAYA, 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Obtenção da Quitosana

A quitosana foi preparada por processos de desmineralização, desproteíntização e desacetilação (HORN *et al.*, 2009) de gládios de lula da espécie *Loligo sp*, cedidos pela Miame Comércio e Exportações de Pescados, localizado em Cananéia no estado de São Paulo. Primeiramente, estes foram lavados em água corrente para eliminação de impurezas provenientes da pesca, como matéria orgânica e sais. Em seguida, foram secos em estufa à 40°C, fragmentados mecanicamente (liquidificador) e peneirados para obtenção de partículas passantes em malha de 0,25 mm.

Na etapa de desmineralização uma solução de 0,55 mol L⁻¹ de HCl foi adicionada ao gládio moído (1,0 g/15,0 mL), à temperatura de 25°C durante 2 horas, mantendo-se agitação mecânica constante. Em seguida o material foi lavado com água deionizada e mantido com agitação constante até atingir a neutralidade. O sólido obtido foi seco em estufa a 50°C.

A etapa seguinte foi a desproteíntização, em que o sólido obtido na etapa anterior passa por um tratamento alcalino. Uma solução 0,3 mol L⁻¹ de NaOH foi adicionada ao sólido na razão gládio desmineralizado/solução de 1,0 g/10,0 mL. Durante 1 hora manteve-se o sistema a 80°C com agitação mecânica constante. O sólido resultante (β -quitina) foi lavado com água deionizada, mantendo-se agitação constante, até a neutralidade e seco em estufa à 50°C.

A desacetilação foi a última etapa do processo de obtenção da quitosana, onde é necessário realizar um tratamento alcalino utilizando solução de NaOH 40% na proporção β -quitina/solução de 1,0 g/20,0 mL, com agitação mecânica e temperatura de 80°C, durante 3 horas, sob atmosfera de nitrogênio. Este processo foi repetido uma vez para garantir maior eficiência. A quitosana obtida foi lavada até a neutralidade e seca em estufa.

A Figura 16 mostra um esquema do processo de preparação.

Figura 13. Esquema do processo de obtenção da quitosana.

4.1.1. Determinação do grau de acetilação da quitosana por titulação condutimétrica

Para a determinação do grau de acetilação da quitosana foi escolhido o método da titulação condutimétrica (ALVARENGA *et al.*, 2010), que mostra a quantidade de grupos amino protonáveis presentes na quitosana.

A quitosana a ser titulada foi pesada (0,250 g), seca em estufa a 60°C durante 12 horas e misturada em 50 mL de solução de $\text{HCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$, mantida sob agitação magnética por 18 h. A solução obtida foi diluída para 250 mL com água deionizada. Titulou-se 50 mL desta solução com solução de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (padronizada previamente com biftalato de potássio) e o ponto de viragem foi acompanhado através das medidas de condutividade feitas em um condutivímetro Digimed modelo DM-20. Esse procedimento foi feito em triplicata.

4.1.2. Determinação da massa molar média da quitosana por viscosimetria capilar.

Para determinar a viscosidade intrínseca (CARDOSO, 2008), uma quantidade de aproximadamente 20 mg de quitosana purificada (previamente seca) foi adicionada à 25 mL de solução de ácido acético (Ac) $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ sob agitação magnética constante por 24 horas. Em seguida foram adicionados 25 mL de acetato de sódio (NaAc) $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ sob agitação magnética constante por mais 24 horas. Em seguida, foi preparado a solução padrão que é a solução tampão de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ácido acético / $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de acetato de sódio, a $\text{pH} = 4,5$. Essa solução ficou sob agitação magnética durante 1 hora. O experimento foi realizado a temperatura constante de 25°C . Amostras de 10 mL da solução tam-pão e também da amostra de quitosana em Ac e NaAc em concentrações, que variaram de $1,5$ a $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, foram transferidas para um viscosímetro capilar de vidro do tipo Ubbelohde e o tempo de escoamento foi medido com cronômetro digital. Cada medida foi repetida 10 vezes, sendo calculada a média aritmética.

4.2. Preparação dos géis e filmes

Soluções 1% em massa de quitosana foram preparadas em L-ácido láctico 1% ($\text{pH} = 3,9$) ou em ácido acético 1%, por agitação durante 24 horas, até a solubilização total.

O amido de milho usado neste trabalho foi o amido da Sigma-Aldrich (73% amilopectina e 27% amilose). Este, antes da sua utilização, foi gelatinizado em L-ácido láctico 1% ou em ácido acético 1% pelo aquecimento durante 30 min a 90°C . Após esse período, as soluções foram resfriadas à temperatura ambiente.

A gelatina da Sigma-Aldrich proveniente da desnaturação do colágeno de pele suína, do tipo A, em pó e de cor amarelada foi utilizada sem prévia purificação.

Esta gelatina foi preparada em L-ácido láctico 1% ou em ácido acético 1% pelo aquecimento durante 15 min a 60°C. Após esse período, as soluções foram resfriadas à temperatura ambiente.

Os géis de quitosana/gelatina e quitosana/amido em ácido láctico foram preparados nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1 em massa, misturando os componentes, com agitação constante de 30 min, a temperatura ambiente. De acordo com as proporções em massa (m) de quitosana em cada gel pode-se calcular (Equação 3) o teor de quitosana em cada amostra:

$$Teor_{quitosana} = \left(\frac{m_{quitosana}}{m_{quitosana} + m_{gelatina\ ou\ amido}} \right) \times 100\% \quad (\text{Equação 3})$$

As amostras em ácido acético foram utilizadas somente no estudo reológico dos géis, com o objetivo da comparação com os resultados em L-ácido láctico. A Tabela 3 mostra o nome, a sigla e o teor de quitosana em cada gel preparado.

Os filmes foram preparados a partir dos géis colocados em formas de Teflon[®], controlando a massa (3 g para cada filme) e deixados em capela de fluxo laminar para secagem, a temperatura ambiente, por cerca de uma semana.

As amostras preparadas em L-ácido láctico foram utilizadas nas análises de espectrometria na região do infravermelho, análises reológicas, absorção de água, termogravimetria e ensaios de DMA no modo tração.

Tabela 3. Amostras, siglas e teores de quitosana correspondentes.

Amostras	Siglas	Teor de quitosana (%)
Quitosana em ácido L- láctico	QL	100
Gelatina em ácido L- láctico	GL	0
Amido em ácido L- láctico	AL	0
Quitosana/gelatina (2:1) em ácido L- láctico	QG21L	66,6
Quitosana/gelatina (1:1) em ácido L- láctico	QG11L	50,0
Quitosana/gelatina (1:2) em ácido L- láctico	QG12L	33,3
Quitosana/amido (2:1) em ácido L- láctico	QA21L	66,6
Quitosana/amido (1:1) em ácido L- láctico	QA11L	50,0
Quitosana/amido (1:2) em ácido L- láctico	QA12L	33,3
Quitosana em ácido acético	QAc	100
Gelatina em ácido acético	GAc	0
Amido em ácido acético	AAc	0
Quitosana/gelatina (2:1) em ácido acético	QG21Ac	66,6
Quitosana/gelatina (1:1) em ácido acético	QG11Ac	50,0
Quitosana/gelatina (1:2) em ácido acético	QG12Ac	33,3
Quitosana/amido (2:1) em ácido acético	QA21Ac	66,6
Quitosana/amido (1:1) em ácido acético	QA11Ac	50,0
Quitosana/amido (1:2) em ácido acético	QA12Ac	33,3

4.3. Caracterização dos géis e filmes

4.3.1. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR)

A espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR) foi utilizada visando obter dados sobre as interações entre os polímeros. Para as amostras de quitosana, gelatina e amido, os espectros foram obtidos em pastilhas de KBr. Já para os géis em L-ácido láctico, os espectros foram obtidos da adição de uma gota de cada mistura às pastilhas de silício que foram secas em dessecador na presença de NaOH sólido obtendo-se a formação de uma película. Os espectros foram obtidos em um espectrofotômetro Bomem ND-120 (FTIR) no intervalo de 400 à 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e com 32 varreduras acumuladas.

4.3.2. Estabilidade Térmica

Para o estudo da estabilidade térmica foi utilizada a análise termogravimétrica (TG). As curvas termogravimétricas foram obtidas utilizando amostras de aproximadamente 10 mg, em atmosfera de ar sintético com variação de temperatura de 25 a 800°C e razão de aquecimento de 10°C min^{-1} em um equipamento TG 2050 (TA Instruments).

4.3.3. Espessura dos filmes

A espessura de cada filme foi medida utilizando um paquímetro (Model M110-25, Mitutoyo MFG. Co. Ltd., Japan). Para a obtenção dos dados foram medidos 10 pontos aleatórios e posteriormente calculado o valor médio.

4.3.4. Absorção de água

Amostras dos filmes foram colocadas em dessecador na presença de NaOH sólido durante o período de uma semana, para secagem. A seguir foram pesadas e depois colocadas em frascos contendo 5,0 mL de água deionizada sendo retiradas para pesagem em tempos que variaram de 0,5 a 120 minutos. A pesagem foi feita retirando-se o excesso de água com papel de filtro e a quantidade de água absorvida foi calculada pela equação 4.

$$\% \text{ água absorvida} = \frac{(m_u - m_s)}{m_s} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

sendo m_u e m_s as massas do filme úmido e seco, respectivamente. Os resultados foram obtidos por média de três determinações independentes.

4.3.5. Análise DMA no modo tração

Os ensaios de DMA (Dynamic Mechanical Analysis) foram feitos no modo tração (tensile mode) até o rompimento, à temperatura de 25°C, com as amostras tendo de dimensões 1,4 x 0,6 cm. A rampa de força utilizada foi de 1,0 N min⁻¹ até 18,0 N. Os filmes foram mantidos em dessecador sob vácuo até o momento dos

ensaios e estes foram feitos em quadruplicata. As análises foram feitas em equipamento Dynamic Mechanical Analyser (DMA) 2980, da TA Instruments, do Laboratório de Materiais Macromoleculares e Fibras Lignocelulósicas – MacromoLignocell (IQSC).

4.3.6. Estudo reológico dos géis

As medidas reológicas foram feitas utilizando-se um reômetro com stress controlado (AR-1000N - TA Instruments) e geometria cone-placa de 60 mm de diâmetro e ângulo de 30' com *gap* de 15 μm . A região viscoelástica foi determinada por varredura de 0,01 a 100 Pa, com frequência de 1,0 Hz e temperatura de 25 °C para obter os módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da deformação.

A varredura de frequência foi realizada dentro da região viscoelástica variando-se os valores de frequência angular de 0,1 a 100 rad s^{-1} , a 25 °C em função dos módulos G' e G'' . A determinação da temperatura de gelificação das misturas foi feita com variação de temperatura de 25 a 75 °C, razão de aquecimento de 5°C min^{-1} e deformação dentro da região viscoelástica (10%). Os ensaios de fluxo foram feitos em função da taxa de cisalhamento na faixa de 0,02 a 200 Pa nas temperaturas de 25, 35, 45, 55 e 65°C.

Os mesmos testes reológicos foram feitos nos padrões descritos acima em amostras de quitosana, gelatina, amido, quitosana/gelatina e quitosana/amido feitas em ácido acético. A única alteração foram as temperaturas (25, 30, 35, 40 e 45°C) nas quais foram realizadas os ensaios de fluxo para os géis em ácido acético.

5. Resultados e Discussão

5.1. Obtenção da quitosana

Para se obter a quitosana são necessários três processos: desmineralização, desproteínização e desacetilação. A desmineralização promove a retirada dos materiais inorgânicos presentes nos gládios de lula (Figura 17) usados neste trabalho.

Figura 14. Gládio de lula a ser desmineralizado.

Foram utilizados 40,52 g de gládios de lula e após o processo de desmineralização, a massa obtida foi de 33,0 g de sólido.

Segundo Kurita (2006) 20 a 40% dos gládios são constituídos de quitina, sendo o restante, minerais e proteínas. Assim, a etapa seguinte foi a desproteínização, que proporcionou a quebra das cadeias proteicas contidas entre as cadeias de polímeros da quitina. Peptídeos e muitos aminoácidos são removidos nesse processo. Nesse processo, a massa final resultante foi de 13,5 g.

A última etapa é a desacetilação parcial dos grupos acetamida. A massa obtida dos flocos secos (Figura 18) em estufa após esse último processo foi igual a 11,2 g, sendo o rendimento igual a 27,6%. Esse rendimento está de acordo com o

encontrado na literatura para a quitosana obtida a partir da β -quitina, de gládios de lula das espécies *Loligo lessoniana* e *Loligo formosana*, respectivamente (CHANDUMPAI *et al.*, 2004). O rendimento também é semelhante ao encontrado para a quitosana comercial derivada de camarões (26%) (TAJIK *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2003), sendo que esta quitosana é proveniente da α -quitina que apresenta empacotamento mais denso. Vale ressaltar que o rendimento é dependente do modo e dos cuidados de como foram feitas cada etapa.

Figura 15. Quitosana obtida.

5.2. Caracterização da quitosana obtida

Os parâmetros usados para caracterizar a quitosana foram o seu grau de acetilação e seu peso molecular. O grau de acetilação da quitosana foi determinado através da técnica de titulação condutimétrica (ALVARENGA *et al.*, 2010) e a massa molar foi determinada por viscosimetria capilar (CARDOSO, 2008).

5.2.1. Determinação do grau de acetilação

Existem vários métodos para se determinar o grau de acetilação da quitosana, entre eles: espectroscopia de RMN ^1H , espectroscopia na região do ultravioleta, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e titulação condutimétrica (ALVARENGA *et al.*, 2010).

Neste trabalho optou-se pela titulação condutimétrica, pois de acordo com Santos *et al.*, é um método eficiente, de fácil execução, reprodutibilidade e acesso além de não ser uma técnica destrutiva (SANTOS *et al.*, 2003).

Na titulação condutimétrica ocorre a substituição de íons, por outros com condutividade diferente. A Figura 19 mostra a curva de condutividade em função do volume de titulante adicionado, obtido para amostra de quitosana.

Figura 16. Curva de titulação condutimétrica obtida da amostra de quitosana.

Na primeira etapa da titulação ocorre a neutralização do ácido clorídrico devido à adição do hidróxido de sódio. Como ocorre a substituição dos íons H^+ pelos íons Na^+ , há um abaixamento da condutividade da solução pela neutralização do HCl (V_1). Com a adição de mais hidróxido de sódio há a desprotonação dos grupos

amino da quitosana (v_2), o que aumenta levemente a condutividade. Em seguida, o excesso de base adicionado proporciona um aumento na concentração do íon hidroxila, aumentando a condutividade na solução (ALVARENGA *et al.*, 2010).

Com os volumes nos pontos de equivalência (v_1 e v_2), o grau médio de acetilação foi determinado utilizando a Equação 5.

$$\% \overline{GA} = \left(1 - \frac{161 \times (v_2 - v_1) \times [NaOH]}{m}\right) \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Na qual,

GA = Grau médio de acetilação

161 = Massa molar média da unidade glicosídica repetitiva de quitosana (g mol^{-1})

$(v_2 - v_1)$ = Volume de solução de hidróxido de sódio consumido para neutralizar os grupos aminos protonados da quitosana (mL)

$[NaOH]$ = Concentração da solução de hidróxido de sódio (mol L^{-1})

m = Massa de quitosana contida na alíquota titulada (g)

A titulação foi repetida quatro vezes, obtendo-se valores muito próximos e o grau de acetilação foi determinado através da média desses valores como $22,3 \pm 0,7\%$.

5.2.2. Determinação da massa molar da quitosana por viscosimetria capilar

De acordo com Cardoso (2008), a viscosidade pode ser descrita em função da sua viscosidade intrínseca e de sua concentração, na condição de tratar-se de uma solução de polieletrólitos, como é o caso da solução de quitosana em ácido diluído ou em tampão.

Assim é possível utilizar a relação de Huggins:

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k_H \times [\eta]^2 \times C \quad (\text{Equação 6})$$

Na qual,

η_{sp}/C = viscosidade reduzida (mL g^{-1});

$[\eta]$ = viscosidade intrínseca (mL g^{-1});

k_H = constante de Huggins;

C = concentração da solução (g mL^{-1}).

A viscosidade intrínseca é determinada pela extrapolação à diluição infinita da curva de viscosidade reduzida versus concentração mostrada na Figura 19. A viscosidade assim determinada satisfaz a relação de Mark-Houwink (Equação 7) que permite determinar a massa molar viscosimétrica da quitosana.

$$[\eta] = K' M_v^\alpha \quad (\text{Equação 7})$$

sendo K e α , constantes que dependem do solvente e temperatura.

Figura 17. Curva de viscosidade reduzida em função da concentração.

Pela extrapolação do gráfico obtido (Figura 20), obtém-se o valor de $[\eta]$. Substituindo os valores de k e α (0,074 e 0,76, respectivamente) referentes ao grau de acetilação da quitosana (RINAUDO *et al.*, 1993) de 22,3%, pode-se calcular a massa molar da quitosana. De acordo com o gráfico, a equação de reta obtida é $y = 1,556 \times 10^6 x + 974,1518$ com $r = 0,9924$, portanto de acordo com a extrapolação, o valor de b (coeficiente linear) é 974,1518. Aplicando esse valor na Equação 7, obtém-se o valor da massa molar (M_v) igual a $2,63 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$.

O valor de massa molar e o valor do grau de acetilação calculados são semelhantes aos valores encontrados para a quitosana derivada de lula, obtida a partir do processo de desacetilação assistida por irradiação de ultrassom de alta intensidade (VEIGA, 2011). Chandumpai *et al.* (2004) realizaram o mesmo procedimento para desacetilação da quitosana empregado nesse trabalho e fizeram uma comparação do tempo do procedimento de desacetilação e do grau de acetilação resultante, mostrando que o tempo da reação de desacetilação influencia em maiores ou menores valores do grau de acetilação da quitosana obtida a partir de β -quitina. Assim, os valores de grau de acetilação de $22,3 \pm 0,7\%$ e da massa molar de $2,63 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ podem ser próximos aos valores encontrados na literatura, entretanto, é comum ocorrer diferenças entre os valores de massa molar e grau de acetilação apesar de se utilizar a mesma matéria-prima.

5.3. Géis e filmes

O gel de quitosana em L-ácido láctico foi agitado por cerca de 24 horas e apresentou-se transparente e com aspecto viscoso. A gelatina foi gelificada a 60°C em L-ácido láctico e apresentou-se como gel transparente, solidificando quando colocado em geladeira. O amido foi gelificado em L-ácido láctico a 90°C e depois de voltar à temperatura ambiente apresentou-se como gel esbranquiçado. As misturas de quitosana/gelatina e quitosana/amido nas proporções 1:2, 1:1 e 2:1 apresentaram-se também como géis esbranquiçados.

Os filmes de quitosana apresentaram-se opacos e levemente amarelados, sendo os de amido opacos e esbranquiçados e os de gelatina, transparentes e incolores. O filme de amido mostrou-se extremamente quebradiço. Todos os filmes das misturas apresentaram-se opacos e amarelados. As Figuras 21 e 22 mostram imagens dos filmes obtidos.

Figura 18. Filmes de: (a) QL, (b) QG21L, (c) QG11L, (d) QG12L e (e) GL.

Figura 19. Filmes de: (a) QL, (b) QA21L, (c) QA11L, (d) QA12L e (e) AL.

5.4. Caracterização dos géis e filmes

5.4.1. Espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR)

Com a espectroscopia de absorção no infravermelho (FT-IR) foi possível identificar os grupos funcionais presentes nas amostras. Primeiramente, foi analisado se houve interação com entre os componentes puros e o L-ácido láctico.

A Figura 23 mostra os espectros FT-IR da quitosana, feitos em KBr e de um filme em pastilha de silício obtido a partir da quitosana dissolvida em ácido láctico.

Figura 20. Espectro de absorção no infravermelho: (—) quitosana e (—) QL.

Na Tabela 4 estão as principais bandas teóricas da quitosana e do L-ácido láctico comparadas com as bandas obtidas para a quitosana em pó e QL.

Tabela 4. Bandas teóricas e bandas obtidas dos espectros da quitosana e QL.

Bandas teóricas* (cm ⁻¹)		Bandas amostras (cm ⁻¹)		Atribuição
Quitosana ^(a)	L-Ácido Lático ^(b)	Quitosana	QL	
3570-3100	3368	3420	3396	O – H
3200-3000	-	3110	3110	–NH: v
-	1729-1716	-	1725	C = O
1658-1630	-	1650	1630	amida primária
1590-1570	-	1575	1575	amida secundária
1570-1515	-	1566	1529	N–H: δ
-	-	-	1418	–CH ₂ –C=O
1340 e 1379	-	1335 e 1372	1307 e 1363	C–N: δ
1340-1250	-	1334	1326	–CO–N–
1260	-	1261	1252	C–N: v
-	1122	-	1224	C–O (assimétrico)
1154 e 896	-	1150 e 891	1141	C–O–C: v do anel sacarídeo

*(a) LIMA, 2005.

(b) GUERRERO *et al.*, 2011.

Como afirmam Niamsa e Baimark (2009) as bandas intensas por volta de $1718\text{--}1729\text{ cm}^{-1}$ no espectro da quitosana em ácido láctico são bandas referentes à presença do lactato.

Chen *et al.* (2005) descreveu a presença de interações entre os radicais amina da quitosana e as carbonilas do ácido láctico. Na Tabela 4 isso pode ser observado, principalmente pelos deslocamentos de 1566 cm^{-1} da quitosana para 1529 cm^{-1} da QL, referente à banda N—H, de 1335 cm^{-1} e 1261 cm^{-1} da quitosana para 1307 cm^{-1} e 1252 cm^{-1} da QL, referente a banda de C—N e de 1334 cm^{-1} da quitosana para 1326 cm^{-1} da QL, atribuída a —CO—N—. Niamsa e Baimark (2009) também afirmam que esse deslocamento pode estar associado às ligações de hidrogênio intermoleculares entre as aminas da quitosana e as carbonilas do ácido láctico.

Na Figura 24 são apresentados os espectros obtidos para a gelatina e para a gelatina em ácido láctico (GL) e na Tabela 5 as bandas teóricas e as obtidas da gelatina e do L-ácido láctico.

Figura 21. Espectro de absorção no infravermelho: (—) gelatina e (—) GL.

Tabela 5. Bandas teóricas e bandas obtidas dos espectros da gelatina e GL.

Bandas teóricas* (cm ⁻¹)		Bandas amostras (cm ⁻¹)		Atribuição
Gelatina ^(a)	L-Ácido Lático ^(b)	Gelatina	GL	
3570-3100	3368	3424	3453	O – H
1760-1710	1729-1716	1725	1720	C = O
1658-1630	-	1649	1671	amida primária
1570-1515	-	1528	1550	N–H: δ
1465 e 1423	-	1466	1456	N–H: δ e CH ₂ : δ
1120	1122	1125	1130	C–O (assimétrico)
1060-1040	-	1044	1054	–CH ₂ –C=O
~ 720	-	713	752	C–N: δ

*(a) PEREDA *et al.*, 2011.

(b) GUERRERO *et al.*, 2011.

Do mesmo modo que ocorrem interações entre as carbonilas do ácido lático e as aminas presentes na quitosana, acontecem essas interações entre o ácido lático e a gelatina (HOU *et al.*, 2003), como pode ser visto na Tabela 4. Devido à isso, pode-se explicar o deslocamento dos picos de 1528 cm⁻¹ da gelatina para 1556 cm⁻¹ da GL, referente à banda N–H, de 1466 cm⁻¹ da gelatina para 1456 cm⁻¹ da GL, referente a banda de C–N, de 1125 cm⁻¹ da gelatina para 1130 cm⁻¹ da GL, atribuída a C–O, de 1044 cm⁻¹ da gelatina para 1054 cm⁻¹ da GL, atribuída a –CH₂–C=O e de 713 cm⁻¹ da gelatina para 752 cm⁻¹ da GL, atribuída a C–N.

Na Figura 25 são apresentados espectros do amido e do amido em L-ácido lático. Na Tabela 6 há as bandas teóricas do amido (PEREIRA *et al.*, 2008) e do L-

ácido láctico (GUERRERO *et al.*, 2011) comparadas com as bandas características encontradas para o amido e para AL.

Figura 22. Espectro de absorção no infravermelho: (—) amido e (—) AL.

Tabela 6. Bandas teóricas e bandas obtidas dos espectros do amido e AL.

Bandas teóricas* (cm ⁻¹)		Bandas amostras (cm ⁻¹)		Atribuição
Amido ^(a)	Ácido Láctico ^(b)	Amido	AL	
3500-3100	3368	3434	3313	O — H
3000-2900	-	2880	2902	C—H
-	1729-1716	-	1721	C = O
1163	1122	1158	1123	C—O (assimétrico)
~ 1150 e		1160 e 1081	1121 e	C—O (éter)
~ 1080	-		1082	
1067	-	1063	1059	C—OH
994-928	-	952	937	—CH

*(a) PEREIRA *et al.*, 2008.

(b) GUERRERO *et al.*, 2011.

Comparando-se os dois espectros pode-se notar que há o aparecimento do pico em 1721 cm^{-1} , referente à carbonila do ácido láctico, aparecimento esse que foi também verificado por Wang *et al.* (2012).

O grupo O—C—O referente ao grupo funcional éter que está presente no anel glicosídico comumente apresenta deslocamento dependendo do tipo de deformação axial (SILVERSTEIN, 1991), isso pode justificar o deslocamento de 1160 cm^{-1} para 1121 cm^{-1} , que pode ser visto na Tabela 5.

Considerando agora as misturas, Xu *et al.*, (2005) citam que quando ocorre mistura de substâncias pode haver interações químicas que são refletidas em alterações nos picos característicos em espectros de infravermelho.

Nas Figuras 26 e 27 estão os espectros das misturas binárias quitosana/gelatina e quitosana/amido, respectivamente. Comum a todos os espectros, observa-se uma banda larga em $3680\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$, correspondente aos estiramentos O—H ou N—H, bandas em $2950\text{--}2885\text{ cm}^{-1}$ relativas ao estiramento C—H assimétrico, em $1660\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$ a banda referente ao estiramento de amida primária e em $1590\text{--}1570\text{ cm}^{-1}$ a banda referente ao estiramento de amida secundária. O pico em aproximadamente 1732 cm^{-1} sugere a presença da carbonila, devido à presença do ácido láctico em todos os géis.

Pela Figura 26, nota-se também que com o aumento da quantidade de gelatina no caso da mistura quitosana/gelatina os espectros ficam mais semelhantes ao espectro da gelatina, mostrando o efeito da concentração. O mesmo acontece quando se aumenta a quantidade de amido, no caso das misturas quitosana/amido (Figura 27).

Figura 23. Espectros na região do infravermelho de: (A) (—) QL, (—) QG21L, (—) QG11L, (—) QG12L e (—) GL.

Figura 24. Espectros na região do infravermelho de: (—) QL, (—) QA21L, (—) QA11L, (—) QA12L e (—) AL.

Na tabela 7 pode-se ver que para as misturas de quitosana/gelatina, há o deslocamento do pico de 3396 cm^{-1} da quitosana para 3437 cm^{-1} da QG21L, que é a mistura com menor concentração de gelatina, o que sugere interações entre os componentes. Quando há interação hidrogênio no grupo N–H há deslocamento nessa vibração (ALMEIDA, 2012) e que deslocamentos abaixo de 1150 cm^{-1} estão associados às interações, ocorrem devido aos grupos –NH_3^+ da quitosana com –COO^- ou com outros sítios aniônicos (MALLMAN, 2011) presentes na gelatina, como foi verificado por Martinez *et al.* (2007). Para as misturas de quitosana/amido, há o deslocamento do pico de 1575 cm^{-1} da quitosana para 1581 cm^{-1} da QA21L, que é a mistura com menor concentração de amido, mostrando a ocorrência de interações. O deslocamento nesse pico característico da amina mostra interações entre a quitosana e o amido, como foi verificado por Xu *et al.* (2005) e Meenakshi *et al.* (2002), visto que a amina esta presente somente na quitosana e passa a fazer parte dos espectros das misturas, porém com o pico deslocado. Os deslocamentos podem ser atribuído às interações eletrostáticas dos grupos NH_3^+ da quitosana com os grupos OH^- presentes no amido (ZHONG *et al.*, 2011).

Tabela 7. Bandas encontradas nos espectros das misturas quitosana/amido e quitosana/gelatina e suas atribuições.

Amostras	Estiramentos (cm^{-1})			
	O – H e/ou N– H	Amida I	Amina	C=O
QL	3396	1630	1575	1725
QG21L	3437	1644	1560	1732
QG11L	3444	1650	1553	1712
QG12L	3465	1661	1556	1726
GL	3453	1671	1550	1720
QA21L	3492	1623	1581	1720
QA11L	3481	1631	1587	1715
QA12L	3529	1633	1594	1734
AL	3313	-	-	1721

5.4.2. Estabilidade térmica

O ensaio termogravimétrico foi feito para determinar a perda de massa por aquecimento dos componentes puros e dos seus filmes em L-ácido láctico.

As curvas termogravimétricas obtidas para a quitosana e quitosana em L-ácido láctico são mostradas na Figura 28.

Figura 25. Curvas termogravimétricas: (—) quitosana e (—) filmes QL.

A decomposição ocorre em 3 etapas. A primeira etapa, compreendida entre 25-100°C, corresponde à perda de água. A segunda etapa, entre 100-400°C corresponde à degradação térmica das cadeias poliméricas e corresponde a um processo complexo que inclui a desidratação dos anéis sacarídeos, despolimerização e decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas do polímero. Na última etapa ocorre a decomposição térmica dos resíduos glucosamina e carbonização. Hong *et al.* (2007) verificaram que a quitosana apresenta três etapas de perda de massa, bem como a gelatina (NAGAHAMA *et al.*, 2009;

MATTOS, 2011) e o amido (HORN, 2012). Essas três etapas também ocorreram para as amostras em L-ácido láctico.

Observa-se também na Figura 28, que existem duas etapas de perda de massa dentro da faixa de 25-200°C, para a quitosana em L-ácido láctico. A segunda etapa ocorre devido à presença de compostos intermediários, como o lactato, que se degrada por volta de 109-122°C (QU *et al.*, 2000). De acordo com a Figura 28 observa-se uma degradação em 110-124°C, que pode ser atribuída ao lactato. O ponto de ebulição do ácido láctico é 122°C (PERRY *et al.*, 1980) e está dentro da faixa de degradação do lactato.

A adição de ácido láctico à quitosana diminuiu a estabilidade térmica desta (QU *et al.*, 2000), de acordo com os valores da temperatura de decomposição obtidos por *onset point* (T_{onset}), que foram de 281,7°C para a quitosana em pó e 269,2°C para a quitosana em ácido láctico.

As curvas obtidas para a gelatina e para a gelatina em ácido láctico estão na Figura 29.

Figura 26. Curvas termogravimétricas: (—) gelatina e (—) filmes GL.

A principal diferença entre essas duas curvas ocorre de 25 a 200°C, na qual a faixa de 25 a 100°C ocorre a perda de água presente nas amostras, e na faixa de 100 a 200°C como ocorreu com a quitosana em ácido lático. De acordo com a Figura 29 observa-se degradação do lactato por volta de 120°C.

A adição de ácido lático à gelatina também diminuiu a estabilidade térmica desta (CHIOU *et al.*, 2013), de acordo com os valores da temperatura de decomposição obtidos por *onset point* (T_{onset}), que foram de 270,8°C para a gelatina e 243,4°C para a gelatina em ácido lático.

Na Figura 30 estão as curvas obtidas para o amido e para o amido em L-ácido lático.

Figura 27. Curvas termogravimétricas: (—) amido e (—) filmes AL.

A diferença principal nas curvas termogravimétricas obtidas para o amido puro e para o amido em L-ácido lático é a presença de duas etapas de degradação na primeira faixa de perda de massa para a curva AL, que também pode ser atribuído a degradação do lactato. Jacobson *et al.* (1996) verificaram que a presença do ácido lático não influencia a estabilidade térmica do amido. De acordo com os valores da temperatura de decomposição obtidos por *onset point* (T_{onset}), que foram

de 289,1°C para o amido em pó e 286,7°C para o amido em ácido láctico verifica-se que a presença do L-ácido láctico pouco afeta a estabilidade térmica do amido.

Os valores encontrados para as amostras estudadas estão mostrados na Tabela 8.

Tabela 8. Perda de massa (%) para os componentes puros e seus filmes em L-ácido láctico.

Amostras	% Perda de Massa			Resíduo (750°C)
	25-200°C	200-400°C	400-750°C	
quitosana	10,1	44,3	45,6	0
QL	29,2	40,5	30,3	0
gelatina	7,8	43,5	48,7	0
GL	13,1	51,4	35,5	0
amido	10,2	76,2	13,6	0
AL	9,8	75,0	15,2	0

Nas Figuras 31 e 32 são apresentadas as curvas TG/DTG das misturas quitosana/gelatina e quitosana/amido nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1.

As curvas para quitosana/gelatina nas proporções 1:2, 1:1 e 2:1 (Figura 31) apresentaram comportamento semelhante, com decomposição em 3 etapas. Pela Tabela 8, verifica-se que os filmes QG12L são mais estáveis termicamente que os filmes QG11L e QG21L. O mesmo ocorre para os filmes de quitosana/amido (Figura 32), no qual os filmes QA12L são mais estáveis termicamente que os filmes QA11L e QA21L.

De acordo com a DTG, a quitosana mostrou redução na estabilidade térmica quando processada na forma de filme em ácido láctico, com pico máximo de decomposição (Tabela 9) em 286,9°C, que aumentou para 293,0°C nos filmes com maior conteúdo de gelatina e de 291,0°C para 309,6°C nos filmes com maior

conteúdo de amido, indicando a formação de interações intermoleculares entre os dois componentes.

Os valores de temperatura de decomposição obtidos por *onset point* (T_{onset}) e da DTG podem ser visto na Tabela 9.

Tabela 9. Valores de T_{onset} e da DTG, em (°C), para os filmes.

Amostras	T_{onset} (°C)	DTG (°C)
QL	269,2	286,7
GL	271,6	293,2
QG21L	267,9	285,1
QG11L	269,9	288,6
QG12L	270,1	293,0
AL	286,7	323,9
QA21L	266,7	292,0
QA11L	268,9	298,7
QA12L	282,1	307,5

Figura 28. Curvas termogravimétricas dos filmes: (—) QG21L, (---) QG11L e (—) QG12L.

Figura 29. Curvas termogravimétricas dos filmes: (—) QA12L, (—) QA11L, e (—) QA21L.

As curvas obtidas para os filmes em L-ácido láctico (Figuras 31 e 32) mostram perda de massa em três estágios: o primeiro, compreendido entre 0 e 200°C, referente à perda de água, o segundo, entre 200 e 400°C, referente a decomposição e o terceiro, entre 400 e 700 °C, devido a carbonização dos filmes.

A Tabela 10 mostra os valores de porcentagem de perda de massa para os filmes de quitosana/gelatina e quitosana/amido.

Tabela 10. Perda de massa (%) para os filmes de quitosana, gelatina, amido, quitosana/gelatina e quitosana/amido em ácido láctico.

Amostras	% Perda de Massa			Resíduo (750°C)
	25-200°C	200-400°C	400-750°C	
QL	29,2	40,5	30,3	0
GL	13,1	51,4	35,5	0
QG21L	21,7	41,0	37,3	0
QG11L	16,6	43,1	40,3	0
QG12L	16,0	43,4	40,6	0
AL	9,8	75,0	15,2	0
QA21L	20,9	44,8	34,3	0
QA11L	20,9	45,8	33,3	0
QA12L	12,6	53,6	33,8	0

De acordo com a Tabela 10, pode-se observar que o amido apresenta menor perda de massa na faixa de temperatura de 25 a 200°C que o filme de gelatina e o filme de quitosana, sendo este o que apresenta maior perda de água. Assim, a adição de gelatina ou amido aos filmes de quitosana proporciona interações entre os componentes, como observado anteriormente nos espectros de FT-IR, permitindo que a perda de água seja menor.

5.4.3. Espessura dos filmes

As espessuras dos filmes foram medidas e os dados são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11. Valores de espessura para os filmes.

Amostras	Espessura (mm)
QL	0,045±0,007
GL	0,086±0,005
QG21L	0,057±0,006
QG11L	0,065±0,006
QG12L	0,073±0,004
AL	0,075±0,005
QA21L	0,054±0,003
QA11L	0,060±0,006
QA12L	0,069±0,006

Os filmes de quitosana/gelatina e quitosana/amido têm espessuras variando de 0,04 a 0,08 mm. Horn (2012) analisou a espessura de filmes de quitosana/amido com vários plastificantes e obteve valores dentro da faixa de espessura obtida para os filmes de quitosana/gelatina e quitosana/amido em L-ácido láctico, ressaltando que seus filmes foram obtidos nos mesmos moldes desse ensaio.

Os valores de espessuras têm relação com a concentração de gelatina ou de amido nos filmes de quitosana em L-ácido láctico. Com o aumento da concentração de gelatina ou amido, os filmes tornam-se mais espessos. Os filmes mais finos são os de QL, seguidos por AL e GL.

5.4.4. Absorção de água

A capacidade de absorção de água é uma propriedade importante para biomateriais usados como curativos pois absorve os exudatos e mantém seca a superfície dos ferimentos, melhorando assim a cicatrização (FERREIRA *et al.*, 2003).

A Figura 33 mostra o comportamento de absorção de água para os filmes de quitosana/gelatina em L-ácido láctico. Os filmes GL têm uma absorção máxima próxima de 600% e QL em torno de 300%. Para os filmes QG12 observa-se um aumento em relação ao valor observado para a QL, obtendo um valor de 344%. Diminuindo-se a quantidade de gelatina, menor é a porcentagem de absorção de água para os filmes, sendo de 285% (QG11L) e 235% (QG21L). Isso pode acontecer porque, com a diminuição da quantidade de gelatina, há diminuição dos grupos COO^- , e isso diminui as possíveis interações de hidrogênio com os grupos NH_3^+ da quitosana, gerando menos interstícios para a armazenagem de água. Estes resultados estão de acordo com a análise termogravimétrica, a qual mostrou que quanto maior a quantidade de gelatina nos filmes, maior a quantidade de água retida por estes. Cada material polimérico apresenta características moleculares e microestruturais próprias, o que torna a absorção de água possível em diferentes graus devido a sua capacidade de difusão (MORTIER *et al.*, 2005).

Figura 30. Absorção de água para os filmes (—■—) QL, (—▼—) QG12L, (—▲—) QG11L, (—◄—) QG21L e (—●—) GL.

A Figura 34 mostra o comportamento de absorção de água para os filmes de quitosana/amido em L-ácido lático. Os filmes de amido preparados em L-ácido lático não puderam ter sua absorção de água medida, por serem extremamente frágeis e quebradiços. Os filmes QA12L apresentam absorção de água próxima a 670%, presume-se então que a porcentagem de absorção de água para o filme de amido em L-ácido lático seja maior que a porcentagem dos filmes QA12L, uma vez que a absorção de água para a QL (300%). Diminuindo-se a quantidade de amido, menor é a porcentagem de absorção de água para os filmes, sendo de 443% (QA11L) e 274% (QA21L). Isso também acontece devido ao amido fazer interações de hidrogênio com a quitosana (BARCELLOS *et al.*, 2000), que aumentam os interstícios estruturais. Novamente, como no caso das misturas quitosana/gelatina, comparando-se com a análise termogravimétrica os resultados de absorção de água estão de acordo, pois quanto maior a quantidade de amido nos filmes, maior a quantidade de água retida por estes.

Figura 31. Absorção de água para os filmes (—■—) QL, (—▲—) QA12L, (—●—) QA11L e (—▼—) QA21L.

Comparando-se os resultados verificou-se que os filmes de quitosana/amido apresentam maior absorção de água que os filmes de quitosana/gelatina, ambos preparados em L-ácido lático. Isso ocorre devido à molécula de amido apresentar

menor empacotamento (parte ocupada pela amilose), favorecendo o aparecimento de interstícios que possam armazenar água na cadeia polimérica (SANTOS *et al.*, 2005).

Com base nos dados obtidos verifica-se que é possível variar o intumescimento dos filmes, variando-se a proporção de cada um dos biopolímeros nas misturas. Isso é um parâmetro importante para a aplicação na liberação controlada de fármacos, pois a presença da água auxilia a difusão do medicamento através do suporte feito a partir destes filmes para organismo (LOPES *et al.*, 2005; FRAGA *et al.*, 2010).

5.4.5. Análise DMA no modo tração

A verificação de características mecânicas dos filmes obtidos é fundamental para conhecer a plasticidade dos filmes e assim, verificar em quais aplicações são compatíveis. Um dos estudos mecânicos consiste nos ensaios de DMA no modo tração, que determina os valores da tração no alongamento e na ruptura destes filmes. É importante ressaltar que um dos fatores que afetam as propriedades mecânicas é a umidade dos filmes (EPURE *et al.*, 2011), sendo esta mantida por volta dos 65% neste trabalho.

Com os testes de tração foi possível inferir a elasticidade dos filmes, relacionados ao alongamento na ruptura (Tabela 12). Uma mistura de polímeros (quitosana/gelatina ou quitosana/amido) pode levar a uma interação intermolecular entre eles, o que melhora as propriedades mecânicas das misturas (KIM *et al.*, 2008). A possibilidade de interações entre os grupos $-OH^-$ e $-NH_3^+$ nos polímeros pode fazer com que a mistura deles melhore as propriedades mecânicas dos filmes obtidos (BREYNER, 2006).

Tabela 12. Valores médio de tensão e alongação na ruptura para os filmes de quitosana/amido e quitosana/gelatina.

Filmes	Tensão na Ruptura (stress MPa)	Alongamento na Ruptura (tensão %)
QG21L	7,99±1,95	45,60±1,34
QG11L	10,65±3,59	48,26±2,37
QG12L	12,03±2,81	44,05±2,82
QA21L	6,83±3,16	42,83±13,77
QA11L	10,34±3,41	37,61±8,03
QA12L	15,85±3,46	20,74±2,57

Em relação aos filmes de quitosana/gelatina, observou-se que embora os valores de tensão na ruptura aumentem com o aumento da quantidade de gelatina, ou seja, fiquem mais rígidos, em relação ao alongamento na ruptura os valores não diferem muito. Assim pode-se concluir que a gelatina não afeta o alongamento e, portanto, a plasticidade. A adição de substância plastificante poderia aumentar o alongamento na ruptura (MATTA, 2009).

O amido apresentou maior efeito sobre os filmes de quitosana do que a gelatina. Quanto maior a quantidade de amido nos filmes, maior a tensão na ruptura, do mesmo modo como ocorre para os filmes de quitosana/gelatina, porém menor o alongamento na ruptura, ou seja, menor a plasticidade. O aumento na resistência à tração pode ser atribuído à formação de ligações intramoleculares entre NH_3^+ da quitosana e OH^- do amido. Os grupos amino da quitosana estão protonados a NH_3^+ em meio ácido e a estrutura cristalina do amido é destruída com a gelatinização (YAACOB *et al.*, 2011), resultando que os grupos OH^- estão mais expostos, facilitando ligar-se com as partes protonadas da quitosana. O filme com menor quantidade de amido (QA21L) em sua composição apresentou-se mais plástico em relação aos filmes com maior quantidade de amido, uma vez que teve menor valor de tensão e maior alongamento na ruptura. O que também melhoraria a deformação e plasticidade dos filmes é a adição de substâncias plastificantes (MALI *et al.*, 2010), que diminuiriam as trincas e aumentando a resistência no processo de tração

(PELLICANO *et al.*, 2009), portanto, a adição de substâncias plastificantes seria uma opção para melhorar a plasticidade dos filmes de quitosana/gelatina e quitosana/amido.

A Figura 35 mostra gráficos representativos das curvas de tensão-deformação obtidas nos ensaios de DMA no modo tração das amostras quitosana/gelatina e quitosana/amido, em L-ácido lático.

Figura 32. Curvas representativas dos ensaios de DMA no modo tração dos filmes: (A) (—) QG11L, (—) QG12L, (—) QG21L, (B) (—) QA11L, (—) QA12L, (—) QA21L.

Dos ensaios feitos constatou-se que os filmes de quitosana/gelatina com maior quantidade de gelatina suportam em média $11,04 \pm 3,20$ MPa de tensão e os filme de quitosana/amido com maior quantidade de amido $13,09 \pm 3,43$ MPa, antes de romperem-se. Os tecidos corporais localizados nas fibrocartilagens, em tecido arterial e como lente intraocular, suportam tensões de 11,0 MPa (RAMAKRSHINA *et al.*, 2001), assim os filmes analisados podem ser aplicados como biomateriais nesses tecidos. Entretanto, para a aplicação na pele, os filmes não são adequados, pois de acordo com Hansen *et al.*, a elasticidade da pele é de cerca de 70% de deformação (HANSEN *et al.*, 2002) e assim, torna-se necessário aumentar a elasticidade dos filmes.

Ressalta-se que os ensaios realizados são um estudo prévio de propriedades mecânicas dos filmes e requer maior aprofundamento dos resultados encontrados.

5.4.6. Ensaios reológicos

5.4.6.1. Determinação da região viscoelástica

O comportamento reológico na região viscoelástica linear deve ser conhecido por ser essa a região onde a estrutura do gel é preservada (HAMINIUK *et al.*, 2009). Para tal, fez-se um teste com uma frequência constante de 1,0 Hz, que permitiu obter uma representação gráfica do módulo de armazenamento (ou módulo elástico - G') e do módulo dissipativo (ou módulo viscoso - G''). A região de trabalho, ou seja, a região viscoelástica linear foi determinada pela varredura de deformação, de 0,01 a 100 Pa. A Figura 36 mostra como exemplo a determinação da região viscoelástica para o gel QL no qual se observa que a região linear se estende até aproximadamente 20% de deformação. Todos os outros géis analisados apresentaram o mesmo comportamento, sendo portanto, utilizada a mesma região de trabalho. A Figura 37 exemplifica a região viscoelástica encontrada para o gel QG11L. As curvas da região viscoelastica das outras amostras se encontram no

Apêndice 1. Assim, de acordo com essas medidas o valor de deformação considerado e que foi utilizado nos demais experimentos oscilatórios foi de 10%.

Figura 33. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para QL, em 1,0 Hz: (—■—) G' e (—■—) G'' .

Figura 34. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para a QG11L, em 1,0 Hz: (—●—) G' e (—■—) G'' .

O estudo reológico das propriedades viscoelásticas também foi feito para amostras de quitosana, gelatina, quitosana/gelatina e quitosana/amido em ácido acético, para assim, ser possível analisar se houve vantagem em utilizar o L-ácido láctico em relação ao ácido acético, já que aquele também é uma opção a ser utilizada (ROMANAZZI *et al.*, 2009).

Não foi possível realizar o estudo reológico do amido tanto em L-ácido láctico como em ácido acético, sendo necessário o uso de outra geometria que não a cone-placa utilizada para a obtenção de todos os dados reológicos, pois a geometria cone-placa não abrange a região de trabalho do gel amido estudado.

A região de trabalho das amostras em ácido acético também foi de 10% e os gráficos com as respectivas curvas se encontram no Apêndice 1.

5.4.6.2. Ensaio de frequência

A variação de G' e G'' em função da frequência angular é mostrada na Figura 38 para os géis de quitosana/gelatina e na Figura 39 para os géis de quitosana/amido.

Em todos os casos, a natureza viscosa do fluido prevalece sobre a natureza elástica, com o aumento da frequência angular. Todos eles apresentaram um comportamento típico de líquido em menores valores de frequências, ou seja, comportamento predominantemente viscoso (G''), seguido de um cruzamento, no qual G' é igual a G'' , evidenciando a gelificação, sendo que em seguida, G' se torna maior que G'' , apresentando o comportamento de sólido. Como cita Rohr, esse comportamento é típico da mistura polimérica que apresenta rede cruzada (ROHR, 2007).

Na Figura 38 nota-se que os menores valores de G' e G'' foram encontrados para o gel GL, seguido de QG12L, QG11L, QG21L. Os maiores valores foram encontrados para QL. Assim, o aumento da concentração de gelatina nos géis provoca a diminuição nos módulos de G' e G'' . Quanto menores forem esses módulos, menor será a tensão necessária para se ter um mesmo valor de deformação, assim pode-se dizer que menos rígido é o material. Portanto, podemos dizer que dentre os géis analisados QL é o mais rígido e GL é o menos rígido.

Figura 35. Módulos, (—■—) elástico G' e (---□---) viscoso G'' , em função da frequência angular a 25°C para os géis: (—) QL, (—) QG21L, (—) QG11L, (—) QG12L e (—) GL.

De acordo com a Figura 39, para os géis de quitosana/amido os menores valores de G' e G'' foram encontrados para QA12L, seguido de QA11L, QL e por fim, QA21L. Assim, quanto maior a quantidade de amido menos rígido é o material.

Figura 36. Módulos, (—■—) elástico G' e (---□---) viscoso (G''), em função da frequência angular a 25°C para os géis: (—) QL, (—) QA21L, (—) QA11L e (—) QA12L.

Nos ensaios de frequência verificou-se que não houve diferença considerável de variação dos valores dos módulos G' e G'' a menores frequências angulares em relação à quantidade de gelatina ou amido nos géis. O gel de GL foi o único que apresentou valor mais baixo (10^{-3} Pa para G' e 10^{-5} Pa para G'') em relação aos outros que ficaram na faixa de 10^{-3} a 2 Pa. Entretanto, os valores dos módulos das misturas ficaram entre os valores do módulos da quitosana e dos módulos da gelatina, no caso dos géis quitosana/gelatina e abaixo dos valores da quitosana para os géis de quitosana/amido, isso mostra que as misturas formam redes mais fracas que a rede da quitosana em L-ácido láctico.

Os mesmos ensaios foram feitos para os géis em ácido acético e observou-se similaridade no comportamento observado para os géis em L-ácido láctico, no qual o aumento da concentração de gelatina ou de amido nos géis há a diminuição dos módulos G' e G'' . Essa relação inversamente proporcional pode ser vista nas Figuras 40 e 41, respectivamente.

Figura 37. Módulos, elástico G' (—■—) e viscoso G'' (—□—), em função da frequência angular, a 25°C, para os géis: (—) QAc, (—) QG21Ac, (—) QG11Ac, (—) QG12Ac e (—) GAc.

Figura 38. Módulos, elástico G' (—■—) e viscoso G'' (—□—), em função da frequência angular, a 25°C, para os géis: (—■—) QAc, (—■—) QA21Ac, (—■—) QA11Ac e (—■—) QA12Ac.

Considerando agora o valor de frequência angular no ponto de gelificação (Tabela 13), verifica-se que em ambos os ácidos, as amostras que continham amido, adquiriram características de sólido numa frequência inferior às amostras que continham gelatina. Verifica-se também que as amostras em L-ácido láctico apresentaram valores menores de frequência angular do que em ácido acético. Essa diferença de valores é encontrada geralmente para amostras que contêm plastificantes (KINAST, 2011). Isso é um ponto que favorece o uso do L-ácido láctico em relação ao ácido acético, não havendo necessidade do uso de substância plastificante nesse caso.

Na Tabela 13 pode-se ver que a intersecção entre G' e G'' ocorre a menores valores de frequência angular nos géis que apresentam menores quantidades de gelatina e amido, tanto em L-ácido láctico como em ácido acético (QG21L, QA21L, QG21Ac, QA21Ac), mostrando que essas amostras apresentam menor característica elástica (ROHR *et al.*, 2007). Entretanto, esses valores podem variar dependendo da frequência na qual a medida é realizada (BRANDÃO *et al.*, 1999).

Tabela 13. Valores de frequência angular, em rad s^{-1} , encontrados no cruzamento dos módulos elástico e viscoso para as amostras.

Amostras	Frequência Angular (rad s^{-1})
QL	15,84
QG21L	18,79
QG11L	50,15
QG12L	108,97
GL	68,90
QA21L	6,916
QA11L	18,94
QA12L	35,79
AL	-
QAc	28,13
QG21Ac	40,52
QG11Ac	63,00
QG12Ac	115,19
GAc	70,35
QA21Ac	37,83
QA11Ac	50,02
QA12Ac	63,66
AAc	-

5.4.6.3. Ensaios de temperatura

Foram feitos experimentos de oscilação em função da temperatura, para análise do comportamento dos géis sob cisalhamento e no aquecimento. As Figuras 42 e 43 mostram a dependência dos módulos elásticos G' e viscoso G'' em função da temperatura para os géis QGL e QAL, na frequência de 1,0 Hz. As curvas mostraram que a baixas temperaturas (até aproximadamente 50°C), todos os géis apresentaram o mesmo comportamento com $G'' > G'$ e tanto os valores de G' quanto de G'' decrescem ligeiramente com a temperatura, o que é comumente observado para polímeros em solução (LUPORINI *et al.*, 2011). Após a temperatura de

gelificação das amostras há o aumento de G' e G'' com a inversão dos parâmetros de G' e G'' , isto é, $G' > G''$.

O módulo elástico G' reflete o comportamento do componente sólido, que é baixo na fase solução, mas aumenta drasticamente na temperatura de gelificação. A temperatura de gelificação é usualmente definida como a temperatura de transição de solução para gel na qual G' é igual a G'' , ou seja, é a temperatura na qual se estabelece as regiões de interação necessária para formar a rede de gel.

Figura 39. Módulos, (—■—) elástico G' e (—□—) viscoso (G''), em função da temperatura para os géis de: (—■—) QL, (—■—) QG11L, (—■—) QG12L, (—■—) QG21L e (—■—) GL, a frequência de 1,0 Hz.

Figura 40. Módulos, (—■—) elástico G' e (—□—) viscoso (G''), em função da temperatura para os géis de: (—■—) QL, (—■—) QA11L, (—■—) QA12L e (—■—) QA21L, a frequência de 1,0 Hz.

O aumento na concentração tanto de gelatina quanto de amido nos géis de quitosana diminui os valores de G' e G'' mostrando que os géis se tornam menos rígidos com a adição destes materiais.

As quantidades de massa de quitosana e de gelatina ou amido que devem ser misturados para se obter os teores encontrados nas Figuras 44, Figura 47, Figura 52 e Figura 53 podem ser calculados pela Equação 5.

A Figura 44 mostra como a temperatura de gelificação é modificada pelos diferentes teores de quitosana nas amostras de quitosana/gelatina e de quitosana/amido. Para as diferentes proporções dos géis de quitosana/gelatina foi observado que o aumento da quantidade de gelatina nas amostras induz a um aumento da temperatura de gelificação. De acordo com a Figura 44, o teor de 71% (QG2,13:0,87; em ácido láctico) de quitosana nos géis indica que nesse teor a gelificação ocorreria na temperatura (cerca de 56,5 °C) mais baixa das verificadas nesse estudo. No caso da mistura de quitosana e amido de milho, a quantidade de amido pouco altera a temperatura de gelificação. Nas amostras quitosana/amido, o teor de quitosana de 33% (QA12L) é o necessário para se ter a menor temperatura de gelificação.

Figura 41. Temperatura de gelificação (°C) por teor de quitosana para os filmes: (—) quitosana/gelatina e (—) quitosana/amido em L-ácido láctico.

O mesmo ensaio foi realizado para as amostras em ácido acético. As curvas mostraram que a baixas temperaturas (até aproximadamente 50°C), todos os géis apresentaram comportamento predominante de $G'' > G'$. Em seguida, há o aumento de G' e G'' com a inversão dos parâmetros de G' e G'' , isto é $G' > G''$, mostrando a temperatura de gelificação, como pode ser visto nas Figuras 45 e 46.

Figura 42. Módulos, elástico G' (—■—) e viscoso G'' (—□—), em função da temperatura para os géis de: (—) QAc, (—) QG11Ac, (—) QG12Ac, (—) QG21Ac e (—) GAc, à frequência de 1,0 Hz.

Figura 43. Módulos, elástico G' (—■—) e viscoso G'' (—□—), em função da temperatura para os géis de: (—) QAc, (—) QA11Ac, (—) QA12Ac e (—) QA21Ac, à frequência de 1,0 Hz.

Para as diferentes proporções dos géis de quitosana/gelatina foi observado que a temperatura de gelificação das amostras é diretamente proporcional à concentração de gelatina. Para os géis de quitosana/amido, a temperatura de gelificação não foi dependente da quantidade de amido, obtendo-se valores próximos.

Figura 44. Temperatura de gelificação (°C) por composição de quitosana para (—) quitosana/gelatina e (—) quitosana/amido.

De acordo com a Figura 47, comparando-se valores do teor de quitosana para se ter a menor temperatura de gelificação em ácido acético com os valores obtidos para o ácido láctico, é possível ver que no caso dos géis de quitosana/gelatina o teor máximo de quitosana para se ter menor temperatura de gelificação é semelhante tanto em L-ácido láctico (71% ou QG2,13:0,87) quanto em ácido acético (72% ou QG2,16:0,84). Nos géis de quitosana/amido em L-ácido láctico o valor do teor de quitosana (33% ou QA12L) para se ter a menor temperatura de gelificação é menor do que para em ácido acético (80% ou QA2,4:0,6). Entretanto, para um teor de quitosana de 33% (QA12Ac) também obteve-se um valor baixo de temperatura de gelificação, assim como em L-ácido láctico.

Na Tabela 14 são apresentados os valores encontrados para as temperaturas de gelificação das amostras.

Tabela 14. Valores das temperaturas de gelificação (°C) para as amostras em ácido láctico e em ácido acético.

Amostras	T _{gel} (°C) em L-ácido láctico	T _{gel} (°C) em ácido acético
Q	62,1	63,5
G	73,9	76,2
A	-	-
QG21	57,0	59,9
QG11	58,9	58,4
QG12	65,7	68,6
QA21	58,1	57,8
QA11	58,2	58,6
QA12	58,0	58,7

A mistura de quitosana com gelatina ou amido, pode ter valores menores ou maiores de temperatura de gelificação que somente os componentes separados, como citaram Loyen *et al.* (1995), na qual a temperatura de gelificação, ou seja, temperatura na qual o gel é formado, tem relação com as interações dos polímeros com o solvente utilizado e também com a heterogeneidade da estrutura dos polímeros, pois esta pode apresentar sítios com maior quantidade de água ou com maior quantidade de polímero, portanto gel com menor coesão, alterando assim os valores de temperatura de gelificação. A Tabela 14 mostra que os valores da temperatura de gelificação das misturas são menores que dos componentes individuais. Isso sugere que a mistura dos polímeros requer menores temperaturas, utilizando pouca energia para a formação dos géis e favorecendo o uso de gelatina ou amido com quitosana.

O aumento na quantidade de gelatina nas misturas aumentou a temperatura de gelificação, indicando que há a maior produção de interações, sendo necessário

maior temperatura para formar o gel. No caso do aumento da quantidade de amido nas misturas, não houve variação nas temperaturas de gelificação.

A Tabela 14 mostra que os valores de temperatura de gelificação para as misturas quitosana/gelatina em ácido acético são sutilmente maiores que os valores de temperatura de gelificação para as misturas em L-ácido láctico. Kinast (2011) afirma que menores temperaturas de gelificação são esperadas quando é feito o uso de substâncias plastificantes.

5.4.6.4. Medidas de fluxo

Os experimentos foram feitos em diferentes temperaturas, variando de 25 a 75°C. A amostra GL apresentou comportamento newtoniano em toda a faixa de cisalhamento, pois a viscosidade não variou com o aumento da taxa de cisalhamento, assim também como foi verificado por Wang *et al.* (2009). A amostra QL apresentou comportamento pseudoplástico, pois a viscosidade diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento. Isto sugere que as moléculas de quitosana estão orientadas paralelamente à direção do escoamento (VILLOUTREIX *et al.*, 1998). Guerreiro *et al.* (2009) analisou que o amido tem comportamento pseudoplástico em ácido cítrico. Em todas as amostras de quitosana/gelatina e quitosana/amido, a diferentes temperaturas, o comportamento observado foi o pseudoplástico, ou seja, houve alteração (diminuição) da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Para exemplificar, pode-se ver a Figura 48 que mostra as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento feitas a temperatura de 25 °C. As demais curvas encontram-se no Apêndice 2.

De acordo com todas as curvas foi constatado que o aumento na quantidade de gelatina ou de amido nos géis de quitosana proporciona a diminuição dos valores de viscosidade. Wang *et al.* (2009) constatou o mesmo comportamento para misturas de quitosana e gelatina em L-ácido láctico, entretanto com quitosana proveniente de α -quitina.

Figura 45. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para cada composição de quitosana, a 25 °C, para: (A) (—■—) QL, (—■—) QG11L, (—■—) QG12L, (—■—) QG21L e (—■—) GL e (B) (—■—) QL, (—■—) QA11L, (—■—) QA12L e (—■—) QA21L.

A Figura 49 apresenta as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as amostras preparadas em ácido acético. O comportamento foi o mesmo já observado para as amostras em ácido L-ácido láctico, ou seja, a amostra GAc apresentou comportamento newtoniano e as demais amostras apresentaram comportamento pseudoplástico.

Figura 46. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para cada composição de quitosana, a 25 °C, para: (A) (—■—) QAc, (—■—) QG11Ac, (—■—) QG12Ac, (—■—) QG21Ac e (—■—) GAc e (B) (—■—) QAc, (—■—) QA11Ac, (—■—) QA12Ac e (—■—) QA21Ac.

A Figura 50 apresenta as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento nas diferentes temperaturas do experimento (25, 35, 45, 55 e 65 °C) para os géis QG21L e QA21L. O comportamento foi semelhante para todos os teores de gelatina ou amido nos géis de quitosana em L-ácido láctico (Apêndice 3). Em todas as curvas pode-se notar que ocorre a diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura.

Figura 47. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG21L (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C e (B) QA21L (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C.

A viscosidade em função da taxa de cisalhamento para os géis de quitosana/gelatina e quitosana/amido em ácido acético a diferentes temperaturas apresentam diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura. A Figura 51 exemplifica o observado. As amostras utilizadas no exemplo são a QG21Ac e a QA21Ac. O mesmo ocorreu para todas as outras amostras, seus gráficos encontram-se no Apêndice 3. Estavam previstas medidas a serem realizadas de 25 a 75°C, como foi realizado para as amostras em L-ácido láctico, entretanto o experimento foi realizado a menores temperaturas (25 a 45°C) devido a secagem dos géis em ácido acético em temperaturas maiores.

Figura 48. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG21Ac (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C e (B) QA21Ac (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C.

Utilizando as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento nas temperaturas escolhidas para os experimentos é possível encontrar um modelo que se adeque a estas curvas. Foram testados vários modelos, entre eles o modelo de Cross e o modelo de Carreau, e o mais adequado foi o modelo de Williamson (WANG *et al.*, 2009) (Equação 8). Com este modelo, pôde-se encontrar a viscosidade de cisalhamento zero (η_0), ou seja, a zona onde o fluido se comporta como newtoniano, devido a taxa de cisalhamento muito baixa (VASQUEZ, 2007):

$$\eta = \eta_0 - K_1 \left[\frac{d\dot{\gamma}}{dt} \right]^{n-1} \quad (\text{Equação 8})$$

Sendo que n é um expoente que descreve o comportamento pseudoplástico, K_1 índice de consistência, que indica o grau de resistência do fluido frente ao escoamento e $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento. A equação deste modelo se adapta às curvas obtidas e com o *software* do equipamento (Data Analysis - Reômetro AR1000N - TA Instruments) pode-se obter facilmente os valores de η_0 . O próprio *software* apontou que para todas as amostras o comportamento de cisalhamento pode ser bem descrito por este modelo e que a viscosidade de cisalhamento zero

aumenta com o teor de quitosana, tanto para quitosana/gelatina quanto para quitosana/amido.

As viscosidades de cisalhamento zero e as temperaturas nas quais foram obtidas tem uma relação com a Lei de Arrhenius que pode ser expressa por:

$$\eta_0 = A \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right) \quad (\text{Equação 9})$$

Sendo A uma constante, Ea a energia de ativação de fluxo, R a constante dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e T a temperatura absoluta (K) (KARWOWSKI, 2012).

O cálculo foi feito substituindo os valores de η_0 , obtidos pelo próprio *software* do equipamento, em um gráfico de $\ln \eta_0$ versus $(1/T)$, de acordo com a Equação 9.

Os valores de Ea calculados para todas as amostras (Q, G, QG12, QG11, QG21, QA12, QA11 e QA21) são apresentados na Tabela 15 e na Figura 52 para as amostras em L-ácido láctico e na Figura 53 para as amostras em ácido acético.

Tabela 15. Energia de Ativação para cada amostra.

Amostras	Ea (kJ mol^{-1})	Amostras	Ea (kJ mol^{-1})
QL	27,0	QAc	75,2
QG21L	31,6	QG21Ac	57,5
QG11L	25,5	QG11Ac	31,9
QG12L	26,3	QG12Ac	44,3
GL	2,8	GAc	3,6
QA21L	26,4	QA21Ac	54,4
QA11L	15,4	QA11Ac	35,9
QA12L	5,75	QA12Ac	37,4
AL	-	AAc	-

Os valores estimados para E_a estão correlacionados com a energia necessária para mover um mol de polímero sob o cisalhamento, ou seja, energia de ativação de fluxo (KARWOWSKI, 2012). De acordo com a Figura 52, o maior valor de $E_a \cong 30 \text{ kJ mol}^{-1}$ ocorre com cerca de 70% do teor de quitosana para a mistura de quitosana/gelatina em L-ácido láctico. Para a mistura quitosana/amido o maior valor é de $E_a \cong 27 \text{ kJ mol}^{-1}$ (teor de quitosana de 70% em L-ácido láctico).

Figura 49. Energia de ativação em função do teor de quitosana, para (—) quitosana/gelatina e (—) quitosana/amido, em L-ácido láctico.

Para quitosana derivada de alfa-quitina Wang *et al.* (2009) encontraram $E_a \cong 40 \text{ kJ mol}^{-1}$ a um teor de quitosana de aproximadamente 70% para quitosana/gelatina em L-ácido láctico. Isso mostra que o uso da alfa-quitina provoca aumento na energia de ativação de fluxo dos géis e que o uso da beta-quitina sugerem maior facilidade ao cisalhamento em relação a quitosana derivada de alfa-quitina. Isso pode estar relacionado com a disposição das cadeias na beta-quitina, que por estarem somente na forma paralela não formam ligações hidrogênio entre as cadeias. Ainda não foram encontrados na literatura trabalhos com géis de quitosana/amido de milho com quitosana derivada de alfa-quitina, assim não foi possível fazer a mesma comparação realizada com a quitosana/gelatina.

Para quitosana/gelatina foi encontrado que o teor de quitosana de aproximadamente 70% (QG2,1:0,90) em L-ácido láctico fornece géis mais estáveis ao

cisalhamento com a temperatura mais baixa de gelificação. No caso de quitosana/amido, para valores próximos ao teor de 70% de quitosana (QA2,1:0,90) em L-ácido láctico também fornece géis mais estáveis ao cisalhamento com baixa temperatura de gelificação.

Com os valores de E_a encontrados, foi verificado que os géis de quitosana/amido têm menor energia de ativação do que os géis de quitosana/gelatina, sendo, portanto, menos estáveis ao cisalhamento.

De acordo com a Figura 53, os valores de E_a aumentam com tendência linear com o teor de quitosana. Estes valores fornecem géis mais estáveis ao fluxo. Assim, para se ter géis que fluem mais facilmente, a adição de gelatina ou amido à quitosana é recomendada.

Figura 50. Energia de ativação em função do teor de quitosana, para (—) quitosana/gelatina e (—) quitosana/amido, em ácido acético.

Este estudo mostra que com o aumento do teor de quitosana (acima de 70%) nas amostras de quitosana/gelatina e quitosana/amido em L-ácido láctico há a diminuição da energia de ativação. No trabalho de Wang *et al.* (2009) isso também ocorre para as amostras de quitosana/gelatina em L-ácido láctico. Os autores dizem que isso ocorre devido à diminuição de ligações de hidrogênio em ocorrência do impedimento espacial devido à deformação que está presente nos ensaios. No caso das amostras em ácido acético, essa diminuição é menos pronunciada. Pode-se

supor que seja pelo fato da estrutura da molécula de ácido acético conter menos hidroxilas que a estrutura do ácido láctico, não havendo o impedimento espacial.

Os valores de E_a de fluxo para quitosana/gelatina e quitosana/amido em ácido acético são maiores que os valores de E_a de fluxo para quitosana/gelatina e quitosana/amido em L-ácido láctico (Tabela 15). Isso mostra que em L-ácido láctico o fluxo tem menor energia de ativação para ocorrer do que em relação ao ácido acético, pois nesse ácido, os filmes de quitosana tem a viscosidade aumentada (DAMIAN *et al.*, 2005). Através desses valores, pode-se comprovar que as misturas em L-ácido láctico apresentaram menor energia de ativação que as misturas em ácido acético, sendo recomendável seu uso, no caso de cremes e pomadas, onde a fluidez se torna importante.

6. CONCLUSÕES

- Os espectros FT-IR mostraram que nos géis e filmes ocorreu interação eletrostática entre quitosana e gelatina assim como, quitosana e amido.

- A termogravimetria mostrou que há diminuição da estabilidade térmica dos componentes quitosana e gelatina quando em presença do L-ácido láctico. A estabilidade térmica do amido pouco foi afetada pela presença do L-ácido láctico, Para os filmes das misturas, a maior quantidade de gelatina às misturas pouco alterou a estabilidade térmica, entretanto a maior quantidade de amido aumentou a estabilidade térmica dos filmes.

- A capacidade de absorção de água dos filmes pode ser variada com a quantidade dos biopolímeros. O aumento da concentração de gelatina ou amido nos filmes de quitosana em L-ácido láctico aumentou a absorção de água, entretanto, os filmes com amido aumentaram a absorção de água em relação aos filmes com gelatina. O aumento na absorção de água torna esses filmes interessantes para serem aplicados na liberação controlada de fármacos e em suturas.

- Os ensaios de DMA no modo tração mostraram que o amido tem maior efeito sobre os filmes do que a gelatina. O filme com menor conteúdo de amido (QA21L) se mostrou como o filme mais plástico.

- Na reologia, os ensaios de frequência mostraram que os géis das misturas apresentam interações mais fracas que o gel de quitosana em L-ácido láctico e que os géis de quitosana/amido adquiriram características de gel antes dos géis de quitosana/gelatina. Nos ensaios de temperatura, o aumento da concentração de gelatina aumenta a temperatura de gelificação, para os géis de quitosana/amido o aumento da concentração não variou a temperatura de gelificação. De acordo com as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento, a gelatina tanto em L-ácido láctico como em ácido acético, mostrou comportamento newtoniano durante o cisalhamento aplicado. As amostras de quitosana e as misturas apresentaram comportamento pseudoplástico. Vários fatores contribuíram para a facilidade de fluir das misturas: o aumento na concentração de gelatina ou de amido às misturas

diminuiu a energia de ativação de fluxo, portanto, facilitando o fluir, o uso do L-ácido láctico contribuiu para diminuir a energia de ativação de fluxo dos géis, visto que as misturas analisadas em ácido acético apresentaram maiores valores de energia de ativação e por fim, o uso de quitosana proveniente de beta-quitina também contribuiu para diminuir a energia de ativação de fluxo. Assim, pode-se concluir que esses fatores contribuem para a obtenção de géis que podem ser utilizados em cremes ou pomadas, facilitando o fluir.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIBA, S. Studies on chitosan: Evidence for the presence of random and block copolymer structures in partially N-acetylated chitosans. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 13, p. 40-44, 1991.

ALMEIDA, P. F. **Análise qualitativa de gelatina obtida de tarsos de frango e aspectos envolvidos no processo produtivo**. 2012. 135 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Nove de Julho, São Paulo, 2012.

ALVARENGA, E. S.; OLIVEIRA, C. P.; BELLATO, C. R. An approach to understanding the deacetylation degree of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 1155-1160, 2010.

ALVES, H. L. R. **Cimento ósseo de fosfato tricalcico: síntese e influência de aditivos na sua injetabilidade**. 2005. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

ANCEY, C. **Introduction to fluid rheology**. Eclubens: École Polytechnique Fédérale de Lausanne, 2005. 118 p.

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

ARVANITOYANNIS, I. S.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S., Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties, **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 371-382, 1998.

ASSIS, O. B. G. Alteração do caráter hidrofílico de filmes de quitosana por tratamento de plasma de hdms. **Química Nova**, v. 33, p. 603-606, 2010.

ASSMANN, V. **Obtenção de compósitos termomoldados a partir da torta de mamona plastificada com glicerol, derivado do processo de transesterificação de óleos e gorduras**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

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

BALMAYOR, E. R.; BARAN, E. T.; AZEVEDO, H. S.; REIS, R. L. Injectable biodegradable starch/chitosan delivery release of gentamicin to treat bone infections. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 32-39, 2012.

BARCELLOS, I. O.; KATIME, I. A.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V. Influência do comonômero e do método de polimerização na cinética de liberação de fenobarbitona a partir de hidrogéis. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 110-115, 2000.

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

BRANDÃO, E. M.; ANDRADE, C. T. Influência de fatores industriais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 38-44, 1999.

BRANT, A. J. C. **Preparação e caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(N-vinil-2-pirrolidona)**. 2008. 170 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

BREYNER, N. M. **Diferenciação de células-tronco mesenquimais derivadas de medula óssea de rato sedimentadas em matriz tridimensional polimérica e porosa composta de quitosana**. 2006. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

CADINOIU, A. N. J.; POPA, M.; CURTEANU, S.; PEPTU, C. A. Covalent and ionic co-cross-linking — An original way to prepare chitosan–gelatin hydrogels for biomedical applications. **Journal of Biomedical Materials Research A**, v. 98a, p. 342-350, 2011.

CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. A.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estrutura e propriedades de α - e β -quitina. **Química Nova**, v. 30, p. 644-650, 2007.

CAMPOCCIA, D.; MONTANARO, L.; SPEZIALE, P.; ARCIOLA, C. R. Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use. **Biomaterials**, v. 31, p. 6363-6367, 2010.

CARDOSO, M. B. **Contribuição ao estudo de desacetilação de quitina: Estudos da desacetilação assistida por ultra-som de alta potencia**. 2008. 103 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

CATIER, N.; DOMARD, A.; CHANZY, H. Single crystals of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.12, p.289–94, 1990.

CHANG, H.; LIN, Y.; TSAI, Y.; TSAI, M. Effects of chitosan characteristics on the physicochemical properties, antibacterial activity, and cytotoxicity of chitosan/2-glycerophosphate/nanosilver hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, p. 169-176, 2013.

CHANG, Y.; LING, X.; TANG, Q. Preparation and characterization of a novel thermosensitive hydrogel based on chitosan and gelatin blends. **Journal of Applied Polymer Science**, v.113, p. 400–407, 2009.

CHEN, J. L. **Investigation of film forming properties of β -chitosan from jumbo squid pens (*Dosidicus gigas*) and improvement of water solubility of β -chitosan**. 2012. 169 f. Dissertação (Mestrado) – Oregon State University, Corvallis, 2012.

CHIOU, B.; JAFRI, H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; GREGORSKI, K. S.; BECHTEL, P. J.; IMAM, S. H.; GLENN, G. M.; ORTS, W. J. Properties of electrospun pollock gelatin/poly(vinyl alcohol) and pollock gelatin/poly(lactic acid) fibers, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 55, p. 214-220, 2013.

CHO, Y. W.; JANG, J.; PARK, C. R.; KO, S. W. Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins. **Biomacromolecules**, v.1, p. 609-614, 2000.

COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R.; LAPPIN-SOCOTT, H.M. Microbial Biofilms. **Annual Review of Microbiology**, v. 49, p. 711-745, 1995.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A.; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.2, p. 195-205, 2005.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 981-1014, 2011.

de la FUENTE, M.; RAVI, M.; PAOLICELLI, P.; SANCHEZ, A.; SEIJO, B.; ALONSO, M. J. Chitosan-based nanostructures: a delivery platform for ocular therapeutics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, p. 100-117, 2010.

DENKBAS, E. B.; KILIC, E.; BIRLIKSEVEN, C.; OZTURK, E. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization. **Reactive & Functional Polymers**, v. 50, p. 225–232, 2002.

de PAULA, E. L.; MANO, V. Preparação, caracterização e estudos de biodegradação de blendas à base de PDLLA e PVP. **Química Nova**, v. 35, p.1084-1089, 2012.

de SOUZA, S. P. M. C.; de MORAES, F. E.; dos SANTOS, E. V.; SILVA, M. L.; MARTINEZ-HUITLE, C. A.; FERNANDES N. S. Determinação do teor de cálcio em comprimido a base de lactato de cálcio utilizado no tratamento da osteoporose. **Química Nova**, v. 35, p. 1355-1359, 2012.

DU, L.; WU, X.; LI, M.; WANG, S.; PANG, K. Effect of Different Biomedical Membranes on Alkali-Burned Cornea. **Ophthalmic Research**, v. 40, p. 282-290, 2008.

EL-HEFIAN, E. A.; ELGANNOUDI, E. S.; MAINAL, A.; YAHAYA, A. H., Characterization of chitosan in acid acetic: Rheological and thermal studies. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 34, p. 47-56, 2010.

EL-HEFIAN, E. A.; YAHAYA, A. H., Rheological study of chitosan and its blends: An overview. **Maejo International Journal of Science and Technology**, v. 4, p. 210-220, 2010.

ENRIONE, J.; OSORIO, F.; LOPEZ, D.; WEINSTEIN-OPPENHEIMER, C.; FUENTES, M. A.; CERIANI, R.; BROWN, D. I.; ALBORNOZ, F.; SANCHES, E.; VILLALOBOS, P.; SOMOZA, R. A.; YOUNG, M. E.; ACEVEDO, C. A. Characterization of gelatin/chitosan/hyaluronan scaffold-polymer. **Electronic Journal Biotechnology**, v. 13, p. 1-11, 2010.

EPURE, V.; GRIFFON, M.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. Structure and properties of glycerol-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 947-952, 2011.

FAI, A. E. C.; STANFORD, T. C. M.; STANFORD, T. L. M. Potencial Biotecnológico de quitosanas em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, p. 435-451, 2008.

FERREIRA, E.; LUCAS, R.; ROSSI, L. A.; ANDRADE, D. Curativo do paciente queimado: uma revisão da literatura. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, v. 37, p. 44-51, 2003.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, v. 32, p. 623-638, 2009.

GAL, A.; NUSSINOVITCH, A. Plasticizers in the manufacture of novel skin-bioadhesive patches. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 330, p.103, 2009.

GANSTRÖN, M. **Cellulose derivatives: synthesis, properties and applications**. 2009. 119 f. Academic Dissertation. Faculty of Science of the University of Helsinki, Helsinki, 2009.

GAVHANE YOGESHKUMAR, N.; GURAV ATUL, S.; YADAV ADHIKRAO, V. Chitosan and its applications: a review of literature. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 4, p. 312-331, 2013.

GOMÉZ-ESTACA, J.; GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; MONTERO, P., Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin, on the properties of compound gelatin-chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1461-1469, 2011.

GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; PÉREZ-MATEOS, M.; GOMÉZ-ESTACA, J.; LOPÉZ-CABALLERO, E.; GIMÉNEZ, B.; MONTERO, P. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 3-16, 2009.

GONZAGA, V.A. M. **Desacetilação assistida por irradiação de ultrassom de alta intensidade aplicada a quitinas extraídas de gládios de lula**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

GOY, R. C.; De BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros**, v. 19, p. 241-247, 2009.

GUERREIRO, L. M. R.; MENEGHELLI, F. C. Influência do tratamento térmico e da acidez no comportamento reológico de amidos nativos funcionais de milho cerosos orgânicos comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 412-419, 2009.

GUERRERO, P.; NUR HANANI, Z. A.; KERRY, J. P.; CABA, K. de la Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal of Food Engineering**, v. 107, p. 41-49, 2011.

GUNNARSSON, S. B. **Effect of chitosan on thermal stability of horseradish peroxidase**. 2011. 101f. Thesis - Faculty of Physical Sciences, University of Iceland, Reykjavik, 2011.

HA, T. L. B.; QUAN, T. M.; VU, D. N.; SI, D. M. Naturally derived biomaterials: preparation and application. **Regenerative Medicine and Tissue Engineering**, p. 247-274, 2013.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M. R.; IZIDORO, D. R.; MACIEL, G. M.; SCHEER, A. P.; MASSON, M. L. Comportamento reológico de sistemas pécticos de polpas de frutas vermelhas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 225-231, 2009.

HAMÚ, Y. F. **Produção de hidrolases pelo fundo *Dicyma pulvinata*, caracterização bioquímica de uma proteinase e purificação parcial desta enzima**. 2007. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

HANSEN, B.; JEMEC, G. B. E.; The mechanical properties of skin in osteogenesis imperfect. **Archives of Dermatology**, v.138, p. 909-911, 2002.

HIRANO, S. Chitin biotechnology applications. **Biotechnology Annual Review**, v. 2, p. 237-258, 1996.

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

HOPPE-SEILER, F. Chitin and chitosan. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 27, p. 3329-3331, 1994.

HORN, M. M.; MARTINS, V. C. A.; PLEPIS, A. M. G. Interaction of anionic collagen with chitosan: Effect on thermal and morphological characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 239-243, 2009.

HORN, M. M., **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades**. 2012. 146 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

HOU, X.; ZHANG, B.; SHE, F.; CUI, Y.; SHI, K.; YAO, K. Surface of gelatin modified poly (L-lactic acid) film. **Chinese Journal of Polymer Science**, v. 21, p. 277-283, 2003.

HUANG, Y.; ONYERY, S.; SIEWE, M.; MOSHFEGHIAN, A.; MADIHALLY, S. V. In vitro characterization of chitosan–gelatin scaffolds for tissue engineering. **Biomaterials**, v. 26, p. 7616-7627, 2005.

ISSAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Básica e Aplicada**, v. 29, p. 81-96, 2008.

JANA, S.; GANDHI, A.; SEN, K.; BASU, S. Natural polymers and their application in drug delivery and biomedical field. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 1, p. 16-27, 2011.

JACOBSEN, S.; FRITZ, H. G. Filling of poly(lactic acid) with native starch. **Polymer Engineering and Science**, v. 36, p. 2799-2804, 1996.

JONES, K. S. Effects of biomaterial-induced inflammation on fibrosis and rejection. **Seminars in Immunology**, v. 20, p. 130-136, 2008.

JUNG, J. **New Development of β -Chitosan from Jumbo Squid Pens (*Dosidicus gigas*) and its Structural, Physicochemical, and Biological Properties**. 2013. 197f. Dissertation (Doctor) - Oregon State University, Corvallis, 2013.

KARWOWSKI, M. S. M. **Estudo da estabilidade, comportamento reológico e dos compostos fenólicos de frutas da mata Atlântica**. 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, p. 3-11, 2009.

KIENZLE-STERZER, C. A.; RODRIGUEZ-SANCHES, D.; RHA, C. K. Flow behavior of a cationic biopolymer: chitosan. **Polymer Bulletin**, v. 13, p. 1-6, 1985.

KIM, I. Y.; SEO, S. J.; MOON, H. S.; YOO, M. K.; PARK, I. Y.; KIM, B. C.; CHO, C. S. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advanced**, v. 26, p. 1-21, 2008.

KINAST, M. E. **A influência da ordem de adição dos aditivos em formulação de bordas de PVC**. 2011. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Universidade Feevale, Novo Hamburgo, 2011.

KUBOTA, N.; EGUCHI, Y. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility. **Polymer Journal**, v.29, p.123–127, 1997.

KUMAR, M. N.; MUZZARELLI, R. A.; MUZZARELLI, C.; SASHIWA, H.; DOMB, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Review**, v. 104, p. 6017-6084, 2004.

KURITA, K. Chemistry and application of chitin and chitosan. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 117-120, 1998.

KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. **Progress in Polymer Science**, v. 26, p.1921-1971, 2001.

KURITA, K. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. **Marine Biotechnology**, v. 8, p. 203-226, 2006.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, p. 672-678, 2009.

LIEN, S.; CHIEN, C.; HUANG, T. A novel osteochondral scaffold of ceramic-gelatin assembly for articular cartilage repair. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, p. 315-321, 2009.

LINDEN, J.; STONER, R.; KNUTSON, K.; GARDNER-HUGHES, C. Organic disease control elicitors. **Agro Food Industry Hi-Tech**, v. 11, p. 12-15, 2000.

LINDSAY, D.; VON HOLY, A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. **Journal of Hospital Infection**, v. 64, p. 313-325, 2006.

LIU, D.; EWI, Y.; YAO, P.; JIANG, L. Determination of degree of acetylation of chitosan by UV spectrophotometry using dual standards. **Carbohydrate Research**, v. 341, p. 782-785, 2006.

LIU, P.; GU, C. Q.; ZENG, Q. Z. Study on the properties of poly(lactic acid)/starch/chitosan blended materials. **Advanced Material Research**, v. 391-392, p. 530-534, 2012.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, p.143-154, 2005.

LOYEN, K.; ILIOPOULOS, I.; AUDEBERT, R.; OLSSON, U. Reversible thermal gelation in polymer/surfactant systems. Control of the gelation temperature. **Langmuir**, v. 11, p. 1053-1056, 1995.

LU, D. R.; XIAO, C. M.; XU, S. J. Starch-based completely biodegradable polymer materials. **Express Polymer Letters**, v. 3, n. 6, p. 366-375, 2009.

LUPORINI, S.; BRETAS, R.; Caracterização Reológica da Goma Xantana: Influência de íons metálicos univalente e trivalente e temperatura em experimentos dinâmicos. **Polímeros**, v. 21, p. 188-194, 2011.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; ROCA, M. F. L.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, p. 784-793, 2007.

MALAFAYA, P. B.; SILVA, G. A.; REIS, R. L. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 207-233, 2007.

MALLMANN, E. J. J. **Obtenção de um novo compósito biológico com propriedades magnéticas**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

MARQUES, A. P.; REIS, R. L.; HUNT, J. A. The biocompatibility of novel starch-based polymers and composites: in vitro studies. **Biomaterials**, v. 23, p. 1471-1478, 2002.

MARTINEZ, L.; AGNELY, F.; LECLERC, B.; SIEPMANN, J.; COTTE, M.; GEIGER, S.; COUARRAZE, G. Cross-linking of chitosan and chitosan/poly(ethylene oxide) semi-IPN beads: a quantitative treatment. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 339-348, 2007.

MATHEW, S.; BRAHMAKUMAR, M.; ABRAHAM, T. M. Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal and swelling properties of starch-chitosan blends films. **Biopolymers**, v. 82, p. 176-187, 2006.

MATTA JUNIOR, M. D. **Caracterização de biofilmes obtidos a partir de amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol**. 2009. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MATTOS, R. I. **Estudo de condutores protônicos a base de macromoléculas naturais**. 2011. 183 f. Tese (Doutorado), Interunidades em ciências e engenharia de materiais – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

MEDEIROS, A. C. S. Preparo e uso de soluções salinas saturadas para a caracterização fisiológica de sementes florestais. **Embrapa Circulação Interna**, v.125, p.1-6, 2006.

MEENAKSHI, P.; NOORJAHAN, S. E.; RAJINI, R.; VENKATESWARLU, U.; ROSE, C.; SASTRY, T. P. Mechanical and microstructure studies on the modification of CA films by blending with PS. **Bulletin of Material Science**, v. 25, p. 25-29, 2002.

MELO, N. R. **Migração de plastificantes e avaliação de propriedades mecânicas de filmes de poli(cloreto de vinila) para alimentos**. 2007. 138 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; CASTRO, H. F.; GIORDANO, R. L. C. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**. v. 34, p. 831-840, 2011.

MORAIS, L. S.; GUIMARÃES, G. S.; ELIAS, C. N. Liberação de ions por biomateriais metálicos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 12, p. 48-53, 2007.

MORTIER, E.; SIMON, Y.; DAHOUN, A.; PANIGHI, M. Immersion time and watersorption ability of tooth restorative polymers. **European Cells and Materials**, v. 10, p. 14, 2005.

MOURA, M. J. Aplicações do quitosano em liberação controlada de fármacos: algumas considerações. **Enciclopédia Biosfera - Centro Científico Conhecer**, v. 8, p. 1489-1509, 2012.

MUCHA, M. Rheological characteristics of semi-dilute chitosan solutions. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 198, p. 471–484, 1997.

NAGAHAMA, H.; MAEDA, H.; KASHIKI, T.; JAYAKUMAR, R.; FURUIKE, T.; TAMURA, H. Preparation and characterization of novel chitosan/gelatin membranes using chitosan hidrogel. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 255-260, 2009.

NANDAGIRI, V. K.; GENTILE, P.; CHIORO, V.; TONDA-TURO, C.; MATSIKO, A. Incorporation of PLGA nanoparticles into porous chitosan–gelatin scaffolds: influence on the physical properties and cell behavior. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, p. 1318-1327, 2011.

NIAMSA, N.; BAIMARK, Y. Preparation and characterization of highly flexible chitosan films for use as food packaging. **American Journal of Food Technology**, v. 4, p. 162-169, 2009.

NITTA, S.; NUMATA, K. Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering. **International Journal of Molecular Science**, v. 14, p. 1629-1654, 2013.

NUNES, I. S.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. R. M. C.; ALMEIDA, R. D.; GOUVEIA, D. S. Comportamento reológico de pasta de amido de inhame variedade são tome. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, p. 141-154, 2010.

NWE, N.; FURUIKE, T.; TAMURA, H. The mechanical and biological properties of chitosan scaffolds for tissue regeneration templates are significantly enhanced by chitosan from *Gongronella butleri*. **Materials**, v. 2, p. 374-398, 2009.

OCHUBIOJO, E. M.; RODRIGUES, A. Starch: from food to medicine. **Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry**, p. 355-380, 2012.

OLIVEIRA, L. S. A F.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P., Biomateriais com aplicação na regeneração celular óssea – método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, p. 37-44, 2010.

OSAWA, S.; TSUKEGI, T.; OGAWA, T. Controlo of degradation rate of poly (L-lactic acid)/starch blend in the field. **Kobunshi Ronbunshu**, v. 58, p. 573-580, 2001.

PEDROSO, M. G. V, **Estudo comparativo de colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA**. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

PELLICANO, M.; PACHEKOSKI, W.; AGNELLI, J. A. M. Influência da Adição de amido de mandioca na biodegradação da blenda polimérica PHBV/Ecoflex®. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, p. 212-217, 2009.

PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 27-46, 2000.

PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; RUSECKAITE, R. A.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1372-1381, 2011.

PEREIRA, L. H. G. **Obtenção e estudo das propriedades físico-químicas de amidos de mandioca (*Manihot esculenta*) oxidados e ácido- modificados**. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa – Ponta Grossa, 2008.

PERRY, R. H.; CHILTON, C. H. **Manual de engenharia química**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1980. 1250 p.

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**. Boca Raton: CRC, 2000. 472 p.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin e chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 641-678, 2009.

PRESTES, R. C.; GOLUNSKI, S. M.; TONIAZZO, G.; KEMPKA, A. P.; LUCCIO, M. D. Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, p. 375-382, 2013.

QU, X.; WIRSÉN, A.; ALBERTSSON, A. C. Effect of lactic/glycolic acid side chains on the thermal degradation kinetics of chitosan derivatives. **Polymer**, v. 41, p. 4841-4847, 2000.

RAO, K. S. V. K.; SUBHA, M. C. S.; SAIRAM, M.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Blend membranes of chitosan and poly (vinylalcohol) in pervaporation dehydration of isopropanol and tetrahydrofuran. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, p. 1918-1926, 2007.

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

RINAUDO, M.; MILAS, M.; LE DUNG, P.; Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.15, p. 281-285, 1993.

ROHR, T. G. **Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

ROMANAZZI, G.; GABLER, F. M.; MARGOSAN, D.; MACKEY, B. E.; SMILANICK, J. L. Effect of chitosan dissolved in different acids on its ability to control postharvest gray mold of table grape. **The American Phytopathological Society**, v. 99, p.1028-1036, 2009.

SABER A.; STRAND, S. P.; ULFENDAHL, M. Use of the biodegradable polymer chitosan as a vehicle for applying drugs to the inner ear. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, p. 110-115, 2010.

SABOKTAKIN, M. R.; TABATABAIE, R. M.; MAHARRAMOV, A.; RAMAZANOV, M. A. Synthesis and in vitro evaluation of carboxymethyl starch–chitosannanoparticles as drug delivery system to the colon. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.48, p.381-385, 2011.

SAKLOETSAKUN, D.; DUNNHaupt, S.; BARTHELMES, J.; PERERA, G.; BERNKOP-SCHNURCH, A. Combining two technologies: multifunctional polymers and self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) for oral insulin administration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 61, p. 363-372, 2013.

SANTOS, J. E.; SOARES, J.; DOCKAL, E. R.; FILHO, S. P. C.; CAVALHEIRO, E. T. G., Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 13, p. 242-249, 2003.

SCHRAMM, G. **A practical approach to rheology and rheometry**. Karlsruhe: Gebrueder HAAKE GmbH, 2000. 291 p.

SHIGEMASA, Y.; MATSUURA, H.; SASHIWA, H.; SAIMOTO, H. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of desacetylation in chitin. **Biological Macromolecules**, v.18, p. 237-242, 1996.

SILVA, D. S. **Estudos físico-químicos de o-carboximetilação de quitosana**. 2011. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

SOARES, F.C.; YAMASHITA, F.; MULLER, C. M. O.; PIRES, A. T. N. Thermoplastic starch/poly(lactic acid) sheets coated with crosslinked chitosan. **Polymer Testing**, v.32, p. 94-98, 2013.

STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD-ARNAUD, T. M.; CAVALCANTE, H. M. M.; MACEDO, R. O.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Microbiological chitosan: potential application as anticariogenic agent. **Practical Applications in Biomedical Engineering**, p. 229-244, 2012.

TAJIK, H.; MORADI, M.; ROHANI, S. M. R.; ERFANI, A. M.; JALALI, F. S. S. Preparation of chitosan from brine shrimp (*Artemia urmiana*) cyst shells and effects of different chemical processing sequences on the physicochemical and functional properties of the product. **Molecules**, v. 13, p. 1263-1274, 2008.

TAVARES, I. S. **Obtenção e caracterização de nanopartículas de quitosana**. 2011. 56f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Food Science and Technology**, v.14, p.71-78. 2003.

VASQUEZ, A. M. A. **Estudo das propriedades reológicas de polipropilenos em fluxos de cisalhamento e fluxos elongacionais**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

VENUGOPAL, V. **Marine polysaccharides: food applications**. Boca Raton: CRC, 2011. 378f.

VIANA, V. R. **Nanopartículas de quitosana: aplicações e perspectivas para administração tópica**. 2013. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

VILLOUTREIX, G.; HADDOUT, A.; DEMARQUETTE, N. R.; VILLOUTREIX, J.; ACÉTARIN J. D. Estudo das propriedades reológicas, morfológicas e mecânicas de blendas injetadas de polipropileno com poliamidas reforçadas com fibras de vidro. **Polímeros: ciência e tecnologia**, p. 53- 62, 1998.

WAN, Y.; CAO, X.; ZHANG, S.; WANG, S.; WU, Q. Fibrous poly(chitosan-g-DL-lactic acid) scaffolds prepared via electro-wet-spinning. **Acta Biomaterialia**, v. 4, p. 876-886, 2008.

WANG, Y.; QIU, D.; COSGROVE, T.; DENBOW, M. L. A small-angle neutron scattering and rheology study of the composite of chitosan and gelatin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 70, p. 254-258, 2009.

WANG, Y., YINGMO H.; ZHU J.; LIU L.; YANG, X. BIAN, J. Convenient synthetic method of starch/lactic acid graft copolymer catalyzed with sodium hydroxide. **Bulletin of Material Sciencie**, v. 35, p. 415-418, 2012.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. Q.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 748-753, 2009.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, p.5897-5909, 2009.

WULANSARI, R.; MITCHELL, J.R.; BLANSHARD, J.M.V.; PATERSON, J.L. Why are gelatin solutions Newtonian? **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 245-249, 1998.

XU, Y. X.; KIM, K. M.; HANNA, M. A.; NAG, D. Chitosan-starch composite film: preparation and characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 21, p. 185-192, 2005.

YAACOB, B.; AMIN, M. C. I. M.; HASHIM, K.; BAKAR, B. A. Optimization of reaction conditions for carboxymethylated sago starch. **Iranian Polymer Journal**, v. 20, p. 195-204, 2011.

YANG, K. C.; WU, C. C.; LIN, F. H.; QI, Z.; KUO, T. F.; CHENG, Y. H.; CHEN, M. P.; SUMI, S. Chitosan/gelatin hydrogel as immunoisulative matrix or injectable bioartificial pancreas. **Xenotransplantation**, v. 15, p. 407-416, 2008.

YANG, M.; LIN, Y. Measurement and simulation of thermal stability of poly lactic acid by thermogravimetric analysis. **Journal of Testing and Evaluation**, v. 37, p. 1-7, 2009.

YANG, Y. M.; HU, W.; WANG, X. D.; GU, X. S. The controlling biodegradation of chitosan fibers by N-acetylation in vitro and in vivo. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 18, p. 2117-2127, 2007.

YANG, Y.; WAN, Z.; YIN, S.; TENG, Z.; YANG, X.; WANG, X.. Formation and dynamic interfacial adsorption of glicinin/chitosan soluble complex at acidic pH: Relationship to mixed emulsion stability. **Food Hidrocolloids**, v. 31, p. 85-93, 2013.

YAO, K.; MAO, J.; YIN, Y.; LIU, W.; CUI, Y.; CAI, K.; ZHAO, F. Chitosan/gelatin network based chitosan biomaterials in tissue engineering. **Biomedical Engineering Applications Basis Communications**, v.14, p. 115, 2002.

YOUN, D. K.; KYOON, H.; PRINYAWIWATKUL, W. Preparation and characterisation of selected physicochemical and functional properties of β -chitosans from squid pen. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, p. 1661-1669, 2013.

YUAN, Z. Study on the synthesis and catalyst oxidation properties of chitosan bound nickel(II) complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 21, p. 22–24, 2007.

ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 335-342, 2011.

ZHOU, X.; ZHANG, X.; YU, X.; ZHA, X.; FU, Q.; LIU, B.; WANG, X.; CHEN, Y.; SHAN, Y.; JIN, Y.; WU, Y.; LIU, J.; KONG, W.; SHEN, J. The effect of conjugation to gold nanoparticles on the ability of low molecular weight chitosan to transfer DNA vaccine. **Biomaterials**, v. 29, p. 111–117, 2008.

ZULLO, R.; IANNACE, S. The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 376-383, 2009.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Determinação da região viscoelástica

Figura 51. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para A) GL, B) QG12L e C) QG21L, em 1,0 Hz: (—■—) G' e (—■—) G'' .

Figura 52. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para D) QA11L, E) QA12L e F) QA21-AL, em 1,0 Hz: (—■—) G' e (—■—) G'' .

Figura 53. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para G) QAc, H) GAc, I) QG11Ac, J) QG12Ac e K) QG21-AAc, em 1,0 Hz: (—■—) G' e (—■—) G'' .

Figura 54. Porcentagem de deformação para a determinação da região viscoelástica para L) QA11Ac, M) QA12Ac e N) QA21-AAc, em 1,0 Hz: (—■—) G' e (—■—) G'' .

APÊNDICE B – Medidas de fluxo em uma temperatura

Figura 55. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 35°C: (A) (—■—) QL, (—■—) QG11L, (—■—) QG12L, (—■—) QG21L e (—■—) GL e (B) (—■—) QL, (—■—) QA11L, (—■—) QA12L e (—■—) QA21L.

Figura 56. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 45°C: (A) (—■—) QL, (—■—) QG11L, (—■—) QG12L, (—■—) QG21L e (—■—) GL e (B) (—■—) QL, (—■—) QA11L, (—■—) QA12L e (—■—) QA21L.

Figura 57. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 55°C: (A) (—■—) QL, (—■—) QG11L, (—■—) QG12L, (—■—) QG21L e (—■—) GL e (B) (—■—) QL, (—■—) QA11L, (—■—) QA12L e (—■—) QA21L.

Figura 58. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 65°C: (A) (—■—) QL, (—■—) QG11L, (—■—) QG12L, (—■—) QG21L e (—■—) GL e (B) (—■—) QL, (—■—) QA11L, (—■—) QA12L e (—■—) QA21L.

Figura 59. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 30°C: (A) (—■—) QAc, (—■—) QG11Ac, (—■—) QG12Ac, (—■—) QG21Ac e (—■—) GAc e (B) (—■—) QAc, (—■—) QA11Ac, (—■—) QA12Ac e (—■—) QA21Ac.

Figura 60. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 35°C: (A) (—■—) QAc, (—■—) QG11Ac, (—■—) QG12Ac, (—■—) QG21Ac e (—■—) GAc e (B) (—■—) QAc, (—■—) QA11Ac, (—■—) QA12Ac e (—■—) QA21Ac.

Figura 61. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 40°C: (A) (—■—) QAc, (—■—) QG11Ac, (—■—) QG12Ac, (—■—) QG21Ac e (—■—) GAc e (B) (—■—) QAc, (—■—) QA11Ac, (—■—) QA12Ac e (—■—) QA21Ac.

Figura 62. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para amostras, a 45°C: (A) (—■—) QAc, (—■—) QG11Ac, (—■—) QG12Ac, (—■—) QG21Ac e (—■—) GAc e (B) (—■—) QAc, (—■—) QA11Ac, (—■—) QA12Ac e (—■—) QA21Ac.

APÊNDICE C – Medidas de fluxo com variação de temperatura

Figura 63. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para QL (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C.

Figura 64. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG11L (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C e (B) QA11L (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C.

Figura 65. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG12L (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C e (B) QA12L (—■—) 25°C, (—■—) 35°C, (—■—) 45°C, (—■—) 55°C, (—■—) 65°C.

Figura 66. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para QAc: (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C.

Figura 67. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG11Ac (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C e (B) QA11Ac (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C.

Figura 68. Viscosidade em função da taxa de cisalhamento, nas diferentes temperaturas, para os géis: (A) QG12Ac (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C e (B) QA12Ac (—■—) 25°C, (—■—) 30°C, (—■—) 35°C, (—■—) 40°C, (—■—) 45°C.

APÊNDICE D – Gráficos para determinação da energia de ativação - Modelo de Willianson

Figura 69. Gráfico para o cálculo da E_a dos géis: (■) QL, (■) QG11L, (■) QG12L, (■) QG21L, (■) QA11L, (■) QA12L, (■) QA21L.

Figura 70. Gráfico para o cálculo da E_a dos géis: (■) QAc, (■) QG11Ac, (■) QG12Ac, (■) QG21Ac, (■) QA11Ac, (■) QA12Ac, (■) QA21Ac.

Tabela 16. Equações de reta e valores de r para cada amostra nos gráficos de Ea.

Amostras	Equações	r
QL	$y = -9,42967 + 3252,1 \cdot x$	0,9991
QG11L	$y = -5,82817 + 1368,61 \cdot x$	0,9907
QG12L	$y = -11,7270 + 3166,6 \cdot x$	0,9966
QG21L	$y = -11,97557 + 3800,8 \cdot x$	0,9910
QA11L	$y = -1,41507 + 1852,29 \cdot x$	0,9935
QA12L	$y = -6,00921 + 691,60 \cdot x$	0,9873
QA21L	$y = -9,63413 + 3179,43 \cdot x$	0,9807
QAc	$y = -10,90182 + 9044,98 \cdot x$	0,9888
QG11Ac	$y = -12,75569 + 3844,39 \cdot x$	0,9794
QG12Ac	$y = -16,54081 + 5354,6 \cdot x$	0,9968
QG21Ac	$y = -23,10635 + 6965,64 \cdot x$	0,9846
QA11Ac	$y = -12,11199 + 4399,68 \cdot x$	0,9898
QA12Ac	$y = -13,7694 + 4500,685 \cdot x$	0,9922
QA21Ac	$y = -20,58897 + 6543,53 \cdot x$	0,9875