

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

Tiago Antônio de Lima

**APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E TITÂNIO NA
MELHORIA DAS PROPRIEDADES DE FILMES DE ALGINATO DE
SÓDIO PARA USO EM CURATIVOS**

ILHA SOLTEIRA

2018

Tiago Antônio de Lima

**APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E TITÂNIO NA
MELHORIA DAS PROPRIEDADES DE FILMES DE ALGINATO DE
SÓDIO PARA USO EM CURATIVOS**

Qualificação apresentada à Faculdade de Engenharia
do Campus de Ilha Solteira – UNESP como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência
dos Materiais.

Área de conhecimento: Química dos Materiais.

Prof^a. Dr^a. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA.

Orientadora

ILHA SOLTEIRA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

L732a Lima, Tiago Antônio.
Aplicação de nanopartículas de prata e titânio na melhoria das propriedades de filmes de alginato de sódio para uso em curativos / Tiago Antônio Lima. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2018
76 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia . Área de conhecimento: Química de Materiais

Orientador: Marcia Regina de Moura Aouada

Co-orientador: Fauze Aouada

Inclui bibliografia

1. Nanopartículas de prata. 2. Alginato de sódio. 3. Bionanocompósitos.
4. Curativos.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Aplicação de nanopartículas de prata e titânio na melhoria das propriedades de filmes de alginato de sódio para uso em curativos

AUTOR: TIAGO ANTONIO DE LIMA

ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: QUÍMICA DOS MATERIAIS pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. JEAN RICHARD DASNOY MARINHO

Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. CAIO GOMIDE OTONI

Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - UNICAMP - Campinas

Ilha Solteira, 28 de março de 2018

DEDICO

Este trabalho a meus pais, J. Tiago A. Lima e Regina A. Barcelos de Lima. A quem não só devo minha vida, como a capacidade de discernimento de moral, honra e lealdade. A minha filha Sophia Mariá P. Lima a quem devo a capacidade de compreensão do amor entre pais e filhos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Juvenal Tiago Antônio de Lima e Regina Aparecida Barcelos de Lima. Por nunca desistirem, mesmo quando eu já havia desistido, e por serem o maior exemplo de força dedicação e amor.

Ao meu Avô, Juvenal de Lima, por me mostrar que mesmo em situações totalmente adversas eventos exotérmicos com muito pouca probabilidade de acontecer, acontecem.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Marcia R. de Moura Aouada, e a meu co-orientador Prof^o Dr^o Fauze Aouada. Não apenas pelo aceite da orientação, mas pelos ensinamentos científicos, e os ensinamentos de maior valor que ambos passam para toda a equipe GCNH, as lições de humildade, bondade, ética e moral.

Ao Departamento de Física e Química da UNESP de Ilha Solteira, por fornecer a estrutura mais que suficiente para a pesquisa, e pela oportunidade a mim cedida.

Ao Professor Alex Otávio Sanches, pelas informações e orientações durante a prática de algumas técnicas fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, assim como ao grupo Gpol.

A equipe da EMBRAPA instrumentação de São Carlos. Em especial aos amigos Marcos Lorevice e Juliana Reghine pela atenção e ajuda.

A toda a Equipe GCNH pela realização dos trabalhos, pelos dias de estudos e discussões científicas elegantes, pelas boas memórias que vou carregar, e por terem me concedido a honra de trabalhado ao lado deles.

Aos amigos da republica Deselegância, por compartilhar os bons momentos, e amenizar o peso das dificuldades através de bom humor e ciência.

CNPq pelo apoio financeiro.

“ Um corpo vivo e um corpo morto, possuem o mesmo número de partículas. Estruturalmente não há diferença discernível. Vida e morte são abstrações não quantificáveis “

Dr. Jonathan Osterman.

RESUMO

Os curativos são agentes que, aplicados sobre uma lesão externa, auxiliam na cicatrização e cura; geralmente são de materiais leves, ordinariamente de algodão. A ideia de um curativo inteligente é fornecer um material leve, biocompatível, biodegradável e anatômico que irá se adaptar perfeitamente para promover a cura de diferentes tipos de lesões. O objetivo deste trabalho foi melhorar as propriedades mecânicas e de barreiras em filmes de alginato de sódio. Desta forma, nanopartículas de prata com tamanho médio de 90 nm foram obtidas através de síntese química pela redução de nitrato de prata por borohidreto de sódio, e nanodispersão de dióxido de titânio obtida em equipamento de ultrassom. As nanopartículas foram inseridas na matriz de alginato juntamente com solução de sorbitol a 65%, e os filmes foram obtidos através do processo “Casting”. Posteriormente, o material foi caracterizado e os resultados das propriedades mecânicas de tensão por deformação revelaram que a presença de nanoemulsão de titânio (TiNE) e nanopartículas de prata (AgNP) na matriz de alginato aumentou a resistência à tração em aproximadamente 6,4 e 14,3%, respectivamente. Já nos filmes que tinham sorbitol, foi reduzida em 55,5%. Em contrapartida, a deformação foi aumentada em cerca de 1 a 3%. A estabilidade térmica dos filmes também sofreu um aumento (comprovada pelas técnicas de DSC e TG). Estes efeitos no aumento do alongamento e estabilidade térmica podem estar associados à formação de uma estrutura semelhante a uma micela, com regiões mais compactas em torno das NPs metálicas e regiões com espalhamento das cadeias poliméricas com predominância de monômeros M devido ao efeito de repulsão eletrostática, justificando o aumento na quantidade de poros na matriz, comprovado pelo aumento na permeabilidade ao vapor de água. Além disso, os filmes que continham AgNPs apresentaram atividade contra *E. coli* e *S. aureus*, com um pouco mais de efetividade nas amostras que continham sorbitol. Diante dos resultados apresentados, os filmes desenvolvidos neste trabalho apresentam potencial para aplicação como substitutos aos tradicionais curativos aplicados em lesões tópicas.

Palavras-chave - Alginato de sódio. Nanopartículas de prata. Dióxido de titânio Curativos.

ABSTRACT

Dressings are agents that, applied on an external lesion, aid and healing; Usually they are of light materials, ordinarily of cotton. The idea of an intelligent dressing is to provide a light, biocompatible, biodegradable and anatomical material that will fit perfectly to promote healing of different types of lesions. The objective of this work was to improve the mechanical and barrier properties of sodium alginate films. In this way, silver nanoparticles (AgNP) with a mean size of 75-96 nm were obtained through chemical synthesis by reduction of silver nitrate by sodium borohydride, and titanium dioxide nanoemulsion (TiNE) by dispersion in ultrasonic equipment. Through the casting process, the nanoparticles were inserted into the alginate matrix together with 65% sorbitol solution. Subsequently, the material was characterized and the results of the tensile tests revealed that the presence of TiNE and AgNP in the alginate matrix increased the tensile strength by approximately 6.4 and 14.3% respectively. In the films that had sorbitol, it was reduced by 55.5%. In contrast, the elongation rate was increased about 1 to 3%. The thermal stability of the films also increased (as evidenced by DSC and TG techniques). These effects on increasing elongation and thermal stability may be associated with the formation of a spider-like structure with more compact regions around metal NPs and regions with polymer chain spreading with predominance of M monomers due to the electrostatic repulsion effect, justifying the increase in the number of pores in the matrix, evidenced by the increase in the permeability to water vapor. In addition, the films containing AgNPs showed activity against *E. coli* and *S. aureus*, with a little more effectiveness in the samples containing sorbitol. Considering the results presented, the films developed in this work have promising potential for application as substitutes for the traditional dressings applied in topical lesions.

Keywords - Sodium Alginate. Silver nanoparticles. Titanium dioxide. dressings.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Algas pardas, de espécies diferentes, produtoras de alginato.....	6
Figura 2 - Fórmula estrutural plana da cadeia de alginato constituída na sequência de monômeros M,G,M.	7
Figura 3 - Estrutura da cadeia de AS composta por um monômero M e um G, visto em perspectiva isométrica.	8
Figura 4 - Imagens representativas das moléculas de alginato de sódio observadas em diferentes planos.	8
Figura 5 - Representação da conformação das cadeias poliméricas de alginato, 1 para visão plano cartesiano (Y,X) e 2 para planos (Z,X).	9
Figura 6 - Modelo “egg-box”, representação das cadeias de alginato com predominância do monômero G, interagindo com cátions de cálcio.	10
Figura 7 - (A) nanobarras, (B) nanoestrutura em pirâmides, (C) nanocubos, (D) nanoestrutura em forma de flor, (E) nanofios e em (F) nanobastões.	15
Figura 8 - Preparo da solução de PVA, 1-pesagem, 2-agitação, 3-elevação da temperatura, e 4-refrigeração.....	19
Figura 9 - Etapas de preparo das soluções de nitrato de prata e borohidreto de sódio..	20
Figura 10 – Representação da etapa de reação de redução de ions de prata por borohidreto.	21
Figura 11 - Ilustração do ultrassom utilizado para dispersão de TiO ₂	22
Figura 12 - Processo de obtenção dos filmes, onde 1. Pesagem, 2. Agitação, 3. Repouso, 4. Molde. 5. Secagem e destaque do molde após 48 horas.....	24
Figura 13 - Interface do aplicativo A.Q para controle de desenvolvimento.	25
Figura 14 - Sistema de codificação das amostras.	25
Figura 15 - Ilustração de micrometro digital.	28
Figura 16 - Dimensões dos corpos de prova.	28
Figura 17 - Células de teste de WVP (ST1).	30
Figura 18 - Estufa segundo sistema (ST2).	31
Figura 19 – Exemplo de gráfico com equação de reta para resultados de teste de WVP.	32
Figura 20 - Corte da célula de WVP.	33

Figura 21 - Ilustração das painélinhas de alumínio, e da parte interna do equipamento, compartimento das amostras.	35
Figura 22 - Sistema de segmentação das amostras de filmes para análise de FT-IR.....	37
Figura 23 - modelo de interação AgNP+AS	39
Figura 24 – Curvas de tensão por deformação para um filme polimérico A e para um filme polimérico contendo plastificante B.....	41
Figura 25 – Gráfico em colunas das tensões médias no ponto de ruptura para cada amostra.	42
Figura 26 - Ilustração de modelo de nanopartícula de prata estabilizadas com PVA... 43	43
Figura 27 – Gráfico em colunas de deformação máxima até o ponto de ruptura.....	44
Figura 28 – Gráfico em colunas para valores médios de WVP para cada amostra.....	46
Figura 29 - Termograma de DSC das amostras Zero, CT10 e DAG12.	47
Figura 30 - Ampliação da região A de ocorrência da Tg da amostra zero no termograma de DSC da figura 22.	48
Figura 31 - Representação das cadeias de Alginato de sodio puro(1) e AS + nanopartículas de prata(2).	49
Figura 32 - interação NP+ AS Na ⁺	50
Figura 33 - Curvas de TG e DTG das amostras listadas.	52
Figura 34 - Ilustração do modelo de interação da matriz de AS com NP.	54
Figura 35 – placas contendo amostras de filmes da serie ZERO, em culturas de E.Coli e S. Áureos	57
Figura 36 - Placas com amostras de filmes da série C	57
Figura 37 – Placas que contem amostras dos filmes da serie D, em colônias de E. Coli e S. Áureos.	58
Figura 38 - Microscopia das amostras serie ZERO, A 500X, B 1.00KX, C 2.00KX e D 5.00KX	60
Figura 39 - Micrografias das amostras da série ZERO.S, A 100X, B 500X e C 1.00KX, D 2.00KX e 5.00KX.....	61
Figura 40 - Micrografias dos filmes da série CT10, A 100X, B 500X , C 1.00KX, D 2.00KX e E 5.00KX	62
Figura 41 - Micrografias de 100X, 500X, 1.00KX, 2.00KX e 5.00KX, da amostra CTS10.	63

Figura 42 - Micrografias 100X, 500X, 1.00KX, 2.00KX e 5.00KX, da amostra DAG12.	64
Figura 43 - Micrografias de 100X, 500X, 1.00KX, 2.00KX e 5.00KX da amostra DAGS12.	65
Figura 44 - Comparação entre as micrografias de 5.00 KX das amostras ZERO, ZERO.S,CT10, CTS10, DAG12 e DAGS12.....	66
Figura 45 - Representação dos tamanhos dos átomos da estrutura química do alginato de sódio (AS).....	67
Figura 46 – Representação da molécula de sorbitol.....	67
Figura 47 - Espectros de FTIR para as amostras de filmes de alginato de sódio e alginato de sódio e nanopartículas metálicas.	68
Figura 48 – Parte A do espectro de FTIR dos filmes de AS para análise das bandas 4000 cm^{-1} até 2500 cm^{-1}	69
Figura 49 – Parte B do espectro de FTIR dos filmes de alginato para análise das bandas de 2500 cm^{-1} até 500 cm^{-1}	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fração volumétrica de composição do alginato determinada por RMN-H ...	7
Tabela 2 - Métodos sintéticos para a obtenção de diferentes formas e tamanhos de AgNP.	14
Tabela 3 - Formulação das amostras obtidas.....	27
Tabela 4 – Tamanho médio de AgNPs.....	38
Tabela 5 - Médias das medidas de espessura dos filmes.....	39
Tabela 6 - Módulos de elasticidade e espessura média das amostras.....	45
Tabela 7 – Valores de entalpia e temperatura dos eventos desidratação das amostras Zero, CT10 e DAG12.....	49
Tabela 8 - Valores de entalpia de amostras que continham sorbitol.	51
Tabela 9 – Temperaturas em °C associadas aos eventos das curvas de TG e DTG.....	53
Tabela 10 -Informações referentes as amostras da Fig.2, e resultados das medias de área de inibição dos filmes.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNP - Nanopartículas de prata

AS - Alginato de sódio

CT10 - Filme de alginato de sódio a 3% e 0,1 % de dióxido de titânio

CTS10 - Filme de alginato de sódio 3%, 2 % de solução de sorbitol e 0,1% de dióxido de titânio

DAG12 - Filme de alginato de sódio 3%, e nanopartículas de prata

DAGS12 - Filmes de alginato de sódio 3%, 2% de solução de sorbitol e nanopartículas de prata

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

DTG - Derivada da curva de termogravimetria

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

NE - Nanoemulsão

NP - Nanopartículas

RH - Umidade Relativa

TG - Termogravimetria

TiNE - Nanoemulsão de dióxido de titânio

TiNP - Nanopartículas de titânio

WVP - Inglês (Water Vapor Permeability) Permeabilidade ao Vapor de Água

WVTR - Inglês (Water Vapor Transmission Rate) Taxa de Transmissão de Vapor de Água

ZERO - Filme de alginato de sódio a 3%

ZERO.S - Filme de alginato de sódio a 3%, com 2% de solução de sorbitol

SUMÁRIO

RESUMO	8
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	13
1- INTRODUÇÃO	1
1.1 Curativos e lesões	1
1.2 Biomateriais.....	2
1.2.1 Mercado	4
1.2.2 Filmes	4
1.3 Alginato de sódio.....	5
1.3.1 Estrutura	5
1.3.2 Propriedades	9
1.3.3 Aplicação.....	11
1.4 Nanopartículas de titânio.....	12
1.5 Nanopartículas de prata	13
1.5.1 Propriedades	13
1.5.2 Síntese e morfologia	13
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Materiais	18
3.2 Métodos	18
3.2.1 Síntese das nanopartículas de prata	18
3.2.2 Preparo de nanodispersão de titânio IV.....	21
3.2.3 Tamanho de partícula e potencial zeta	22

3.2.4	Confecção dos filmes.....	23
3.2.5	Medidas de Espessura dos filmes	28
3.2.6	Propriedade Mecânica: Tensão X Deformação	28
3.2.7	Permeabilidade ao vapor de água (WVP).....	30
3.2.8	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	34
3.2.9	Termogravimetria (TG e DTG)	35
3.2.10	Atividade Antibacteriana.....	36
3.2.11	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	36
3.2.12	Espectroscopia do Infravermelho com Transformadas de Fourier (FT-IR) 36	
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
4.1	Tamanho de partícula e potencial Zeta.....	38
4.2	Medidas de espessura	39
4.3	Teste de tração	40
4.3.1	Tensão.....	40
4.3.2	Deformação.	43
4.3.3	Módulo de elasticidade.....	45
4.4	Permeabilidade ao vapor de água (WVP).....	46
4.5	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	47
4.6	Termogravimetria (TG e DTG)	52
4.6.1.	Primeiro evento TG/DTG.....	53
4.6.2	Segundo evento TG/DTG.....	55
4.6.3	Terceiro evento TG/DTG	55
4.7	Atividade antibacteriana.....	56
4.8	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	60
4.9	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	68
	CONCLUSÃO.....	72
	REFERÊNCIA	73

1- INTRODUÇÃO

1.1 Curativos e lesões

Desde antigo Egito por volta de 2700 A.C., os curativos são compostos basicamente por tecidos de algodão devido à sua capacidade de absorção de fluidos e suavidade. Podemos considerar também o baixo custo relativo que envolvem a produção e processamento de algodão. Nos tempos atuais podemos atribuir esse custo reduzido aos chineses, líderes mundiais na cotonicultura. Nos últimos 60 anos, adotaram tecnologias agrícolas intensivas que tornaram a China responsável por 30% da produção mundial de algodão¹.

Em toda a cronologia histórica do tratamento de lesões, alguns ativos ou métodos foram empregados de forma eficiente, como é o caso da aplicação de salgueiro e zimbro. Outros acabaram sendo removidos, como o uso de mercúrio, urina humana ou fezes de animais em meio a práticas de rituais mágicos, há mais de 1000 A.C. Até mesmo ideias filosóficas como as de Hipócrates que idealizava o tratamento em um organismo em equilíbrio físico e mental, ou os métodos do cirurgião francês Ambroise Paré, que compreendia que uma menor interferência na lesão seria mais eficiente para o processo de cicatrização. No entanto, a modificação na estrutura base dos curativos, mais significativa só ocorreu em 1920, quando o norte americano Earle Dickson apresentou sua ideia para a gigante farmacêutica Johnson & Johnson. A partir de então, os curativos tornar-se-iam mais práticos, permitindo que uma pessoa ao se ferir pudesse realizar um procedimento de contenção e proteção da lesão imediatamente sem o auxílio de terceiros. Com algumas alterações no projeto original, obviamente para que pudesse ser produzido em larga escala, o curativo adesivo foi introduzido no mercado. Aproximadamente 4 anos mais tarde, o curativo adesivo (*BAND-AID*) se tornou popular no norte da América, e em 1963 foi para o espaço com os astronautas da missão espacial Mercury².

Antes dos anos 70, curativos poliméricos foram considerados apenas materiais passivos com papel mínimo no processo de cicatrização. Em 1978, vários materiais poliméricos a base de quitina e quitosana foram utilizados como curativos, devido às suas atividades biológicas atraentes, tais como a biocompatibilidade, biodegradabilidade e por serem ativos atóxicos, mostrando que os polímeros naturais são excelentes candidatos para o desenvolvimento de materiais para curativo³.

Os curativos são essencialmente aplicados em lesões na pele, ou seja, uso tópico em contato direto com a região lesada, mais conhecida como ferida. De uma forma geral, As feridas podem ser definidos como um trauma causado na pele de forma intencional;(em procedimentos cirúrgicos, estéticos, alterações corporais e tatuagens). Ou de forma acidental (contato brusco de curto ou longo prazo com objetos cortantes, perfurantes, produtos químicos ou exposição ao calor e radiação). Algumas feridas podem ser causadas por fatores biológicos, como reações alérgicas decorrentes de contato com plantas tóxicas; insetos ou répteis peçonhentos; ou contaminação por bactérias, fungos e vírus. Estes tipos de lesões causam deformações características após o processo de cicatrização, comprometendo a integridade anatômica da pele.

Os tratamentos das lesões são realizados de formas diversas. Os fatores que influenciam nas variedades de tratamento são a formação do profissional envolvido e o tipo de evento que gerou a lesão. O procedimento de preparo do curativo envolve a descontaminação e cobertura da lesão. Além de proteger do ambiente externo tem a função de conter os fluidos gerados pelo organismo, fluidos estes importantes para a reconstrução da pele. Em geral é realizada a aplicação de um fármaco com propriedades cicatrizantes, anestésicas ou antibacterianas associado ao tecido que compõe o curativo⁴.

Durante a cicatrização, infecções causadas por contaminação de agentes biológicos atrasam a reconstrução da área afetada. Mesmo os ferimentos decorrentes de queimaduras não estão livres de possíveis contaminações biológicas, sendo qualquer lesão um ambiente favorável a proliferação de bactérias. Em geral, um fármaco é aplicado junto ao curativo para evitar a contaminação e acelerar o processo de cura. Esse fármaco é escolhido de acordo com o estágio em que se encontra a lesão: período infeccioso, período de necrose e aglutinação, período de proliferação e período de formação da epiderme⁵.

1.2 Biomateriais

Biomaterial é um termo que vem sendo definido de diferentes formas por diferentes autores ao longo dos últimos anos.

Turrer e Ferreira (2008) definem como “materiais de origem biológica ou sintética utilizados em implantes, de aparelhos ou sistemas que estarão em contato com sistemas biológicos e tecidos vivos com objetivo de reparar perdas teciduais e restaurar funções comprometidas por processos degenerativos ou traumatismos”⁶.

Drewnowska et al. (2013) definem como “substâncias ativas capazes de interação com os tecidos circundantes, sem causar uma resposta imune”⁷.

Callister e Rethwisch (1940) autores de uma das principais literaturas de ciência dos materiais, definem os biomateriais como sendo qualquer composto sintético ou não, que ao ser empregado em componentes implantados no corpo humano, não deve produzir substâncias tóxicas e deve ser compatível com os tecidos do corpo⁸.

No escopo desta revisão o termo biomaterial será definido como um material biocompatível, sintético ou natural, sólido ou em estado de fluido, que pode ser aplicado em sistemas orgânicos com a finalidade de tratar, transportar fármacos, substituir ou aumentar as capacidades do órgão, tecidos, ossos, dentes, tendões ou sistemas circulatórios.

Por volta dos anos 70, a área médica passou a aplicar biomateriais em próteses, aonde, até então, eram utilizados materiais poliméricos ou metálicos bioestáveis. Porém, há registros de aplicação de biomateriais no mundo antigo. Egípcios (2000 A.C) , maias (600 A.C), franceses, romanos, chineses e astecas (200 A.C), faziam uso de próteses confeccionadas em madeira, conchas e ouro. Com destaque para o antigo Egito e Europa da idade média, cujas próteses aplicadas apresentavam boa interação do material com a estrutura óssea dos esqueletos encontrados.

Até o século retrasado o desenvolvimento e aplicação dos biomateriais na medicina era realizada de forma totalmente arbitrária, no entanto após a segunda Grande Guerra iniciou-se os estudos sistemáticos e complexos na busca de materiais bioinertes.

Atualmente, as próteses funcionais são o principal foco de aplicação e pesquisas em biomateriais. Busca-se através da aplicação de novos conceitos, aumentar a vida útil de implantes, e aprimorar ou maximizar as funções que o organismo do hospedeiro já possui naturalmente, em outras palavras, o material teria uma atuação em nível celular⁹.

Um belo exemplo de biomateriais aplicados em próteses tem origem no Brasil, confeccionadas com um polímero obtido do óleo de mamona, as próteses apresentam ótima interação com as células do corpo evitando a rejeição. Tudo isso graças as cadeias de ácidos graxos da estrutura do material, que se assemelha às cadeias da gordura presente

no organismo humano. O composto nomeado como composto ósseo de ricinus (COR) obteve aprovação da Food and Drug Administration (FDA) em junho de 2003, e no mesmo ano na argentina já havia sido aplicado em mais de 1700 procedimentos cirúrgicos.¹⁰

1.2.1 Mercado

O mercado dos biomateriais tem uma posição eloquente, tanto para as movimentações financeiras quanto para o volume de unidades produzidas. Basicamente é dividido em dois seguimentos que seguem diferentes critérios. O primeiro está relacionado à matéria prima, extração e processamento, e o segundo critério tem por base a área de aplicação. É um mercado que vem crescendo financeiramente, por exemplo; em 2012, movimentou 44 bilhões de dólares, e é esperado para 2017- 88,4 bilhões.

Bioprodutos destinados ao tratamento de lesões apresentaram aumento na gama de produtos próximo de 25% entre os anos de 2010 e 2015. Esse seguimento deve crescer ainda mais devido ao provável aumento de procedimentos clínicos. O crescimento no mercado de produtos na biomedicina está diretamente relacionado ao aumento na expectativa de vida da população global, e a melhoria ascendente das condições financeiras do cidadão nas nações em desenvolvimento⁷.

1.2.2 Filmes

Materiais com grande área superficial e pouca espessura, inferior a 1 milímetro, são em geral, constituídos por um polímero. Filmes confeccionados a partir de biopolímeros e aplicados como embalagens de alimentos, além de serem comestíveis, vem apresentando resultados promissores graças as suas propriedades biodegradáveis. Além disso, os filmes apresentam propriedades adicionais tais como: habilidade de funcionar como suporte de substâncias ativas para liberação controlada (antioxidantes, agentes antimicrobianos, quelantes, etc) e aplicação em alimentos heterogêneos (ex: bolo com recheio, hambúrguer), tendo a função de uma barreira interna ao transporte de gases e solutos¹¹.

Com relação a embalagens de alimentos, no Brasil, de acordo com a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE), os plásticos representam 37,47% o valor total da

produção de embalagens, o que representa, conseqüentemente, um volume semelhante em descarte inadequado. Além da emissão de gases tóxicos e poluentes, durante as etapas produtivas.

Porém, devido à diversidade e versatilidade, os polímeros derivados de petróleo proporcionam avanços tecnológicos, economia de energia e diversos outros benefícios para a sociedade por meio da produção de uma variedade de produtos. O maior problema vinculado à produção de embalagens plásticas, não é a questão ambiental, na verdade é à migração de componentes do polímero para o alimento¹². Por este motivo os bioplásticos, como os filmes comestíveis desenvolvidos a partir de biopolímeros, como o hidroxipropil metilcelulose (HPMC), ou a quitosana, são alternativas naturais atóxicas e solúveis em água, extremamente promissoras para substituir as embalagens convencionais, além de serem fontes abundantes e com ação antimicrobiana¹³.

Com base nas propriedades adicionais, e a já conhecida ação pro-cicatrizante de alguns biopolímeros, estes materiais podem substituir os tecidos de algodão usados como gazes, solucionando um problema comum de contaminação e melhorando a aplicabilidade e manuseio dos curativos.

1.3 Alginato de sódio

1.3.1 Estrutura

O alginato de sódio (AS) foi descrito pela primeira vez pelo químico britânico EEC Stanford em 1881¹⁴. É o sal dos ácidos α -L-gulurônico e β -D-manurônico, um copolímero de ocorrência natural extraído em geral de algas pardas (Phaeophyceae), porém pode ser produzido por *Azotobacter* (*A. vinelandii* TL, *A. vinelandii* IV) e *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. mendocina*, *P. putida*, *P. aeruginosa*), portanto é um biopolímero¹⁵. Este trabalho, em específico este subtítulo, versará sobre as informações respectivas às propriedades do alginato extraído de algas marrons. A tabela 1 apresenta as frações de monômeros e blocos formados de acordo com a espécie de alga de onde é extraído o AS¹⁶.

O alginato é um carboidrato de fórmula molecular $(C_6H_8O_6)_n$ possui apenas ligações glicosídicas do tipo α 1-4 e β 1-4 (Figura 1). Devido às ligações do tipo (1-4), a cadeia do alginato de sódio é linear.

O AS é composto por dois isômeros óticos o ácido 1,4- α -L-gulurônico (G) e o ácido 1,4- β -D-manurônico (M), cujas letras “L” e “D” representam respectivamente levogiro (giro anti-horário, carbono assimétrico é S ou L) e dextrogiro (giro é horário, carbono assimétrico é R ou D) os blocos das cadeias de AS podem ser formados somente por monômeros do tipo G ou M, ou um misto formado pelos dois monômeros (bloco MG ou GM) com posições alternadas cuja estrutura e sequência vão depender do tipo e origem da alga (figura 1) que foi extraído. Nas algas, o alginato constitui sua estrutura, e não tem a função energética, portanto é denominado um carboidrato estrutural ¹⁷.

Figura 1 - Algas pardas, de espécies diferentes, produtoras de alginato.



1 *Ascophyllum*, 2 *Himanthalia*, 3 *Rais de Laminaria digitata*, 4 *Laminaria digitata*, 5 *Laminaria hyperborea*, 6 *Macrocystis pyrifera*.

Fonte: <http://www.seaweed.ie/algae/phaeophyta.php>

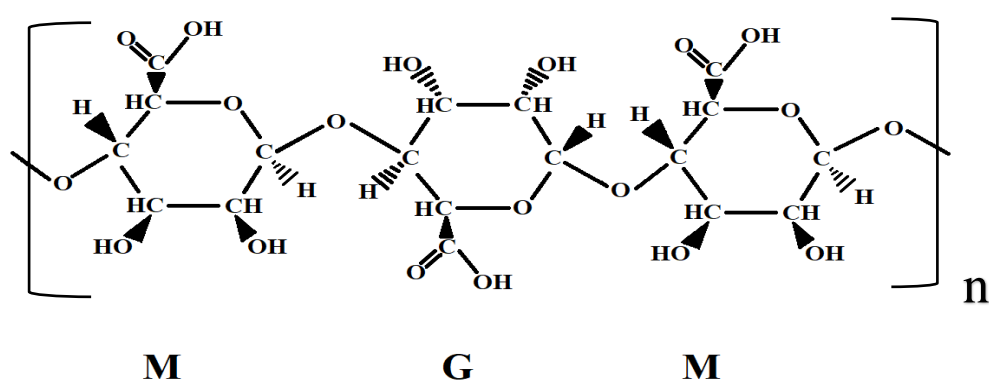
A diferença na sequência e no conteúdo dos blocos determinará a flexibilidade da cadeia, influenciando na solubilidade e estabilidade da matriz que será formada. Blocos MG, por exemplo, formam cadeias mais flexíveis e mais solúveis em pHs baixos e a estabilidade da matriz está diretamente relacionada ao conteúdo de blocos G¹⁸.

Tabela 1 – Fração volumétrica de composição do alginato determinada por RMN-H

Espécies de Algas	F _G	F _M	F _{GG}	F _{MM}	F _{MG}	F _{GM}
<i>Laminaria digitata</i>	0,42	0,58	0,27	0,43	0,15	0,15
<i>Laminaria hyperborea</i>	0,70	0,33	0,60	0,20	0,10	0,10
<i>Macrocystis pyrifera</i>	0,39	0,61	0,21	0,43	0,18	0,18
<i>Ascophyllum nodosum</i>	0,43	0,57	0,18	0,32	0,25	0,25

Fonte: Gacesa. (1988)¹⁶

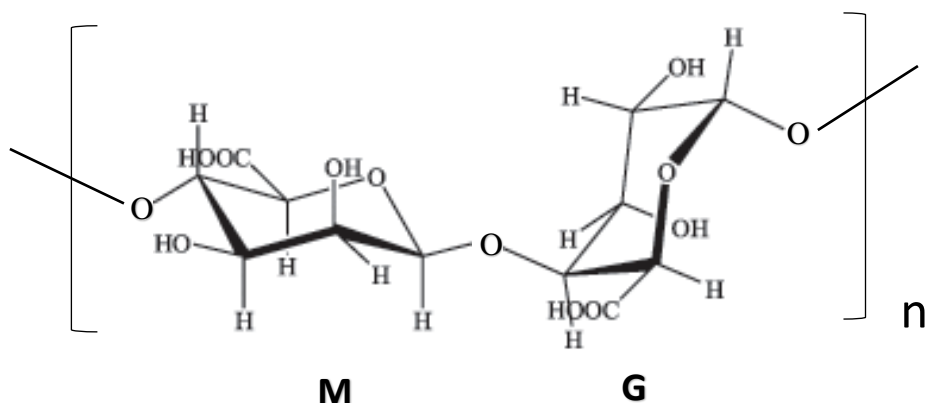
Figura 2 - Fórmula estrutural plana da cadeia de alginato constituída na sequência de monômeros M,G,M.



Fonte: adaptado de Kawaguti e Sato (2008)¹⁹

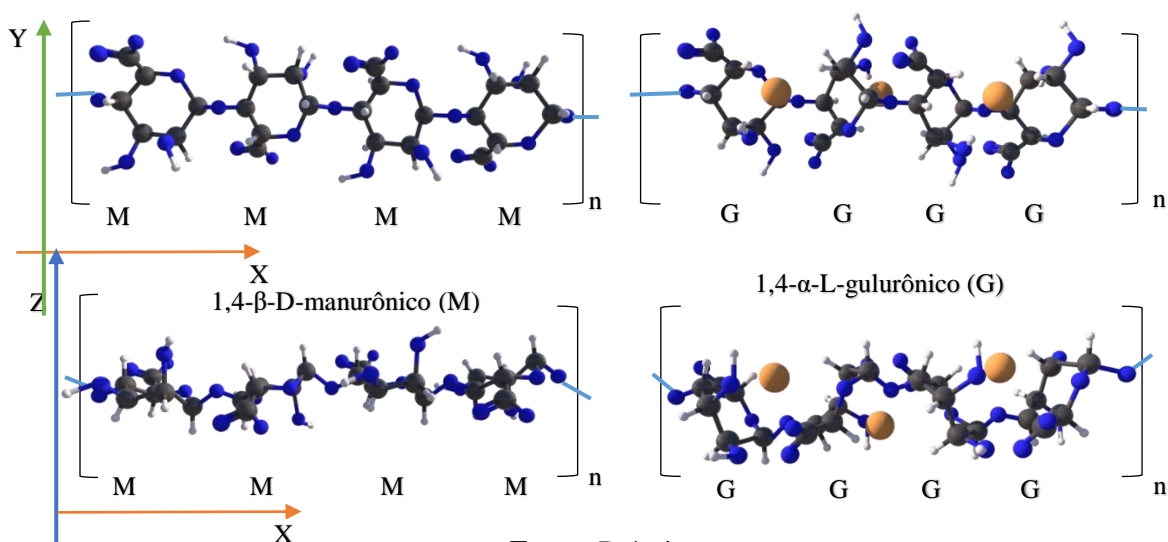
É importante citar que os carbonos da cadeia cíclica do AS possuem orbitais híbridos sp^3 , por esse motivo as ligações entre eles têm um ângulo de $109,28^\circ$, fazendo com que as ligações realizadas por esses carbonos tenham forma tetraédrica. Sendo assim, representar a estrutura do AS por uma perspectiva isométrica é mais adequado para se compreender a estrutura (figuras 3 e 4).

Figura 3 - Estrutura da cadeia de AS composta por um monômero M e um G, visto em perspectiva isométrica.



Fonte: adaptado Kawaguti e Sato (2008)¹⁹

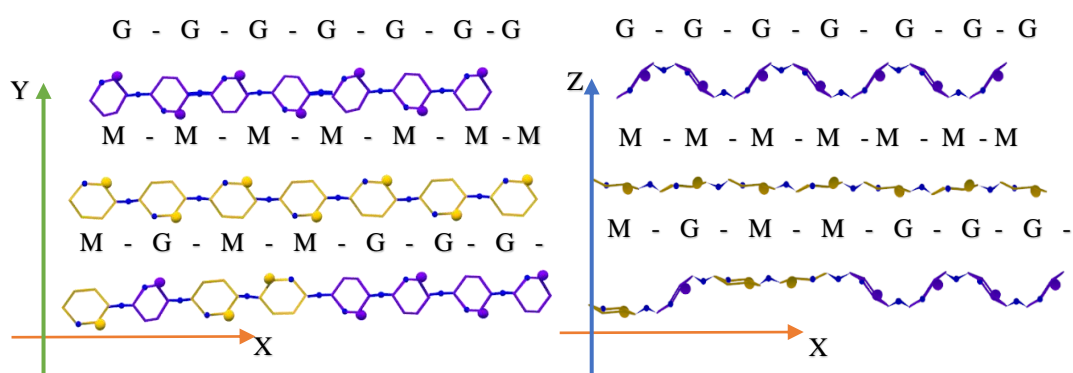
Figura 4 - Imagens representativas das moléculas de alginato de sódio observadas em diferentes planos.



Fonte: Próprio autor

Considerando um plano cartesiano 3D, a conformação das cadeias de alginato observadas no plano (Y,X) apresenta certa lineariedade, mas é difícil distinguir entre as regiões predominantes de monômeros G ou M. Já em plano lateral (Y,X), as regiões onde predominam os monômeros G apresentam uma formação ondulada. Já nas cadeias de blocos M, pode-se observar uma estrutura com menos irregularidades (figura 5) ²⁰.

Figura 5- Representação da conformação das cadeias poliméricas de alginato, 1 para visão plano cartesiano (Y,X) e 2 para planos (Z,X).



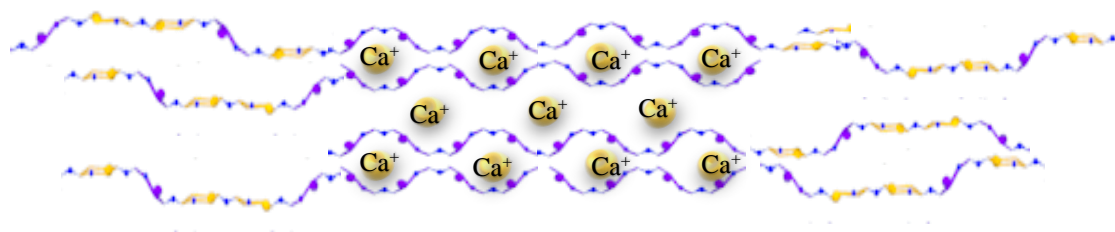
Fonte: Próprio autor

1.3.2 Propriedades

Estruturas poliméricas do alginato são hidrofílicas devido à presença em grande quantidade de radicais polares, hidroxilas (OH). No entanto, a reticulação com cátions polivalentes, especialmente o cálcio, pode melhorar as propriedades de resistência à umidade e resistência mecânica, diminuindo sua solubilidade em água ²¹.

A inflexibilidade que é inerente nas moléculas de alginato em solução aumenta de acordo com a sequência de blocos de monômeros MG <MM <GG. Já a viscosidade é uma função do tamanho molecular/concentração. A seletividade para ligação de cátions e as propriedades formadoras de gel variam muito dependendo da composição e sequência dos monômeros. Os cátions de metais alcalinos terrosos, ligam-se seletivamente aos blocos G de uma maneira altamente cooperativa, segundo o modelo “egg-box”(figura 6). O tamanho das unidades cooperativas é descrito como sendo composta por mais de 20 monômeros G. A afinidade dos blocos G pelos íons metálicos divalentes aumenta na seguinte disposição, $Mg^{2+} / Ca^{2+} / Sr^{2+} / Ba^{2+}$, uma propriedade única para os alginatos em comparação com outros poliânions ¹¹.

Figura 6 - Modelo “egg-box”, representação das cadeias de alginato com predominância do monômero G, interagindo com cátions de cálcio.



Fonte: próprio autor

As ligações α e β (1-4) são as principais responsáveis pela biodegradabilidade do AS, pois as quebras dessas ligações podem ser catalisadas por oxidação ácida ou alcalina, ou por enzimas hidrolíticas denominadas carboidrases ou liases, ou ainda alginato liases. A alginato-liase catalisa a degradação de alginato por β -eliminação das ligações glicosídicas e produz oligossacarídeos insaturados.

De acordo com a especificidade do substrato, a alginato-liase é geralmente classificada como poliamase (EC 4.2.2.3) e poliglicase (EC 4.2.2.11), que rompem preferencialmente os blocos M e G, respectivamente²². As alginato-liases estão presentes numa grande diversidade de organismos como bactérias, fungos, algas pardas, moluscos marinhos herbívoros e vírus *Chlorella*^{16, 23, 24, 25}.

O alginato não apresenta atividade contra micro-organismos, muito pelo contrário, como demonstrado anteriormente alguns micro-organismos podem degradar o alginato. No entanto ele apresenta ação pró-cicatrizante, biocompatibilidade, atoxicidade e tem potencial antioxidante²⁶. O mecanismo de ação que determina a atividade pró-cicatrizante do alginato ainda vem sendo discutida na literatura, mas em 2000, Thomas²⁷ demonstrou que curativos contendo alginato de sódio são potencialmente capazes de ativar macrófagos presentes na área lesada, por meio do estímulo à liberação da proteína TNF-a, gerando um sinal pró-inflamatório capaz de promover incremento da fagocitose de micro-organismos e restos necróticos e, portanto, favorecendo o processo cicatricial.

1.3.3 Aplicação

Um dos primeiros trabalhos reportados descreve a aplicação de soluções de alginato de sódio/cálcio contendo fármacos com ação antibacteriana em fissuras no canal auditivo, substituindo os curativos pós cirurgia endaural²⁸.

Nas últimas décadas os sais de alginato foram aplicados na modificação superficial de implantes biomédicos e encapsulamento de fármacos, células e enzimas, e na obtenção de compósitos²⁹.

No Brasil, as indústrias de alimentos e bebidas são as maiores consumidoras de alginato, fazendo uso da matéria prima para melhorar as características sensoriais dos produtos. Em destaque a aplicação em sorvetes, produtos lácteos, misturas para bolos, espessantes para sucos e para estabilizar a espuma em cervejas³⁰.

Pesquisas para aplicação de alginatos em membranas e filmes carregados com nanopartículas têm se concentrado no objetivo de desenvolver materiais biodegradáveis para aplicação em embalagens comestíveis, filmes destinados à aplicação como curativos, esferas para liberação parenteral de fármacos e na agricultura para liberação controlada de água e defensivos agrícolas³¹.

As propriedades do alginato são extremamente convidativas à aplicação como curativos pois têm potencial para tratamento em áreas queimadas e em áreas doadoras de enxertos. As membranas de alginato podem facilitar a remoção do curativo sem muito trauma e diminuir a dor durante as trocas, além de promover um ambiente propício à reepitelização do tecido danificado^{32,33}.

Criar filmes de alginato no lugar de membranas ou géis para aplicar em lesões é uma vantagem tanto estrutural quanto operacional. Na questão estrutural, a principal vantagem se deve à matriz dos filmes ser composta por longos planos poliméricos sobrepostos, que interagem fisicamente através dos grupos hidrofílicos dos monômeros. Essa interação ocorre, pois, devido à uma diminuição considerável de moléculas de água na matriz, condição essa resultante da evaporação da água durante o processo de secagem da solução para se tornar um filme. O processo de secagem é realizado expondo a solução a condições ambientes, proporcionando a troca de umidade com o meio. Esse processo é denominado casting. Devido a este fator, os filmes de alginato apresentam excelentes propriedades mecânicas, físicas e de barreira, além de sua superfície ser suave e uniforme.

No entanto as propriedades dos filmes de alginato podem ser modificadas através da inserção de agentes plastificantes ou nanopartículas, ambos interagindo com os radicais hidrofílicos da matriz durante o processo “casting”, tomando posições ocupadas por moléculas de água. O resultado dessa recombinação é o afastamento ou compactação dos planos da matriz polimérica²⁶

1.4 Nanopartículas de titânio

TiO₂ em escala nanométrica é estudado como agente antimicrobiano e já é comercializado em produtos cosméticos, dentre outros. As nanopartículas de TiO₂ além do baixo custo, são atóxicas, estáveis (não coalescem) e o mecanismo de ação antimicrobiana é ativado pela radiação UV³⁴.

O mecanismo do TiO₂ contra bactérias é a fotocatalise heterogênea por luz solar ou artificial. Isso ocorre pois o TiO₂ é um semicondutor, sendo assim, é caracterizado por bandas de valência (BV) e bandas de condução (BC), sendo, a região entre elas, chamada de “bandgap”. A absorção de fótons com energia superior à energia de “bandgap” resulta na promoção de um elétron da banda de valência para a banda de condução com geração concomitante de uma lacuna (h⁺) na banda de valência. Essa lacuna gera um potencial bastante positivo, que é suficiente para quebrar ligações primárias de materiais que estejam em contato com a superfície do TiO₂.

Uma grande variedade de classes de compostos orgânicos tóxicos é passível de degradação por fotocatalise heterogênea. Na maior parte, a fotodegradação leva à total mineralização dos poluentes, gerando CO₂, H₂O e íons do heteroátomo presente. Algumas classes de compostos passíveis de degradação por fotocatalise são alcanos, cloroalifáticos, álcoois, ácidos carboxílicos, fenóis, clorofenóis, herbicidas, surfactantes e corantes.

Além das classes de compostos orgânicos acima citados, os radicais hidroxila, gerados durante a irradiação do TiO₂, são capazes também de reagir com a maioria das moléculas biológicas, resultando numa atividade bactericida. O poder bactericida do TiO₂ foi comprovado na inativação de micro-organismos tais como *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli*³⁵.

Apesar do potencial terapêutico de algumas nanopartículas metálicas, não se pode ignorar o possível efeito deletério, isto é, citotóxico, resultante de contacto impróprio com

seres vivos, quer durante a produção, manuseamento, utilização ou eliminação inadequada no ambiente.

1.5 Nanopartículas de prata

1.5.1 Propriedades

Nanopartículas são estruturas que possuem pelo menos uma de suas dimensões na ordem de 1 – 100 nm. Representam um potente e quase invisível aliado no combate à atividade de algumas bactérias. Podem ser aplicadas em diferentes campos devido às suas propriedades óticas, elétricas e magnéticas³⁶. As nanopartículas de prata (AgNP), em especial, são reconhecidas principalmente por sua ação antimicrobiana, o que as torna atrativas na fabricação de dispositivos biomédicos³⁷.

Várias propostas foram desenvolvidas para explicar os efeitos inibidores dos íons de prata e prata metálica sobre as bactérias. Acredita-se que os metais pesados reagem com as proteínas combinando-se com os grupos tiol (SH), o que leva à inativação das proteínas. É com base nesses fatos que recentes experimentos microbiológicos e químicos indicaram que íons liberados pelas AgNP interagem com grupos tiol desempenhando um papel essencial na inativação bacteriana³⁸. Além da lise celular, em outras palavras, a ruptura da membrana celular, um possível mecanismo proposto é de que as AgNP podem modular a transdução do sinal em células de bactérias por desfosforilação de substratos peptídicos chave putativos nos resíduos de tirosina, porém há a necessidade de um estudo mais profundo³⁹.

1.5.2 Síntese e morfologia

As AgNP podem ser sintetizadas de diferentes formas por diferentes meios, tais como químico, físico, físico-químico ou biológico. A tabela 2 apresenta algumas informações sobre as sínteses de AgNP reportadas na literatura. A formação de nanopartículas durante a síntese consiste em três etapas: nucleação, semeadura e crescimento. Variações termodinâmicas e cinéticas nos estágios da síntese causam alterações nas formas, tamanhos e na estabilidade das nanopartículas. O tamanho e a forma influenciará diretamente nas propriedades óticas, elétricas, magnéticas,

antimicrobianas e catalíticas das AgNP⁴⁰. Quanto às formas, as AgNP podem ser esféricas, triangulares, cúbicas, piramidais, polígonos com bases de 5 ou 6 lados, em forma de bastões ou até mesmo com formas irregulares com definição morfológica figurada⁴¹.

Tabela 2 - Métodos sintéticos para a obtenção de diferentes formas e tamanhos de AgNP.

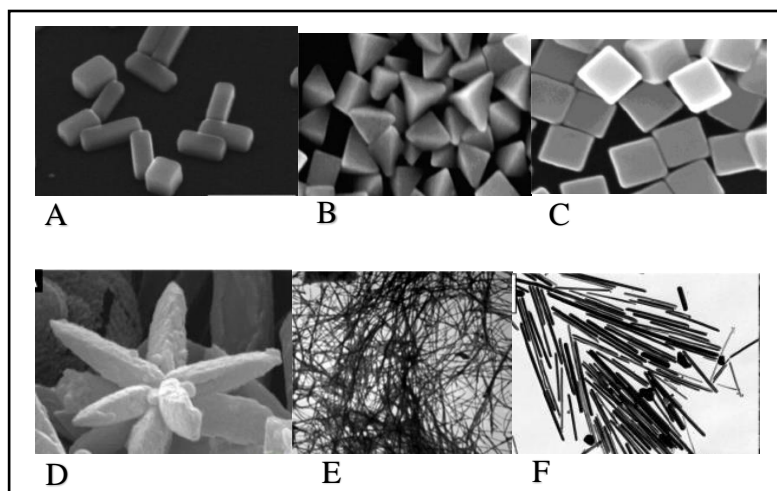
Método	Descrição	Forma
Químico	Crescimento de partículas coloidais de sementes obtidas por redução química de nitrato de prata com citrato trissódico.	Esférico
Químico	Nitrato de prata como um precursor de prata, n-butilamina como um sal de prata de dissolução de meios, ácido dodecanóico como molécula de tampão, tolueno como solvente e borohidreto de sódio como reagente redutor.	Esférica
Físico-químico	Foto redução de AgNO ₃ na presença de citrato de sódio por irradiação com diferentes fontes de luz (UV, branco, azul, ciano, verde e laranja) à temperatura ambiente.	Esférica
Físico-químico	Radiólise da água induzida por raios X em solução aquosa de sulfato de prata + etanol, borbulhada com argônio, Resultando na redução dos íons de prata e formação de nanopartículas.	Esférica
Físico	Descarga de arco elétrico entre eletrodos de titânio em solução de nitrato de prata, gerando nanopartículas estabilizadas com citrato de sódio.	Esférica
Física	TX-100, UV	Esférica
Biológico	<i>Bacillus sp.</i>	Esférica
Biológico	<i>Lactobacillus</i>	Esférica
Biológico	<i>Shewanella oneidensis</i>	Esférica
Biológico	Fungo <i>T. viride</i>	Esférica
Biológico	<i>Cassia angustifolia</i>	Esférica
Biológico	<i>Daucus carota</i>	Esférica
Biológico	Estirpe <i>Bacillus</i> CS 11	Esférica
Biológico	<i>Aspergillus niger</i>	Esférica
Biológico	<i>Arbutus unedo</i> folha extrato	Esférica
Químico	Etilenoglicol	Cúbica
Químico	Pentanodiol (H-1,5 DOP)	Cúbica
Químico	Etilenoglicol	Cúbica
Físico-químico	Quitonasa carboximetilada (CMCTS)	Cúbica
Biológico	Extratos foliares de <i>Eucalyptus macrocarpa</i>	Cúbica
Químico	Borohidreto de sódio na presença de citrato de sódio	Nanobarras

Químico	Tartarato de potássio	Nanobarras
Químico	Etilenoglicol	Nanofio
Químico	Ácido ascórbico	Nanofio
Físico-químico	Etilenoglicol	Nanofio
Químico	Etilenoglicol	Nanofio
Química	Hidrato de hidrazina	Triangular
Físico	Éteres monoalquílicos de etilenoglicol	Nanoprisma

Fonte: BAHARET, et al. (2015)

Com relação à morfologia das AgNP, são descritas rotas sintéticas para obtenção das mais variadas estruturas como, nanocubos, nanofios, nanobastões, nanoprismas, nanoestrutura em formas de flor e pirâmides. A Figura 7 apresenta micrografias de algumas dessas estruturas^{42, 43, 44, 45}.

Figura 7 - (A) nanobarras, (B) nanoestrutura em pirâmides, (C) nanocubos, (D) nanoestrutura em forma de flor, (E) nanofios e em (F) nanobastões.



Fonte: Wang et al. (2010) e BAHARET, et al. (2015)

Devido à pesquisas destinadas ao desenvolvimento de embalagens feitas com biopolímeros, algumas propriedades adicionais mostraram que os biopolímeros têm potencial para aplicação na área biomédica.

Os registros históricos reforçam a ideia de que os materiais utilizados na confecção de gazes para tratamento de lesões não tiveram melhorias significativas há pelo

menos desde o século passado. São muitas vantagens que os filmes à base de alginato de sódio oferecem em relação aos tecidos de algodão, porém, a fragilidade estrutural dos filmes e membranas obtidos ainda são uma barreira na continuidade das pesquisas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Neste trabalho são executadas as etapas de síntese e preparação de nanopartículas de prata e titânio. Além do estudo da incorporação de nanopartículas em matrizes de alginato de sódio e sorbitol, para formação dos nanocompósitos e posterior caracterização.

A proposta deste projeto é um estudo mais complexo, visando a melhoria das propriedades mecânicas dos filmes de alginato de sódio, e adicionar propriedades antibacterianas, visando aplicação dos filmes como curativos, seja por adição de compostos ou por métodos de obtenção modificados. Esse é o desafio, e uma das últimas etapas para o início de métodos mais eficientes no tratamento de lesões superficiais. Além disso, impulsionar novas pesquisas nesta área de trabalho.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de prata por redução por borohidreto de sódio.
- Preparar dispersão de nanopartículas de titânio (dispersão coloidal).
- Caracterizar as nanopartículas através de medidas de tamanho médio e potencial zeta.
- Desenvolver e padronizar a síntese dos filmes: concentrações de alginato e sorbitol, nanoemulsão de titânio e nanopartículas de prata.
- Caracterizar os filmes quanto às suas propriedades: FT-IR, permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas (tensão máxima, alongação e módulo elástico), propriedades térmicas (termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial) e microscopia eletrônica de varredura.
- Analisar atividade antibacteriana dos melhores nanocompósitos preparados.
-

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

O alginato de sódio que compõe a matriz dos filmes foi obtido comercialmente do distribuidor Cromoline. Para a síntese das nanopartículas de prata e preparo da nanoemulsão de titânio, os reagentes nitrato de prata (AgNO_3), poli(álcoolvinílico) (PVA), dióxido de titânio (TiO_2) e borohidreto de sódio (NaBH_4), foram obtidos comercialmente do fabricante Sigma Aldrich. A água de osmose reversa foi utilizada para preparar todas as dispersões deste trabalho. Não foi necessário tratamento prévio em nenhum dos reagentes utilizados.

3.2 Métodos

3.2.1 Síntese das nanopartículas de prata

As AgNP foram obtidas através de reação de redução de nitrato de prata por borohidreto de sódio. Inicialmente as soluções de nitrato de prata, borohidreto e PVA foram preparadas como descrito a seguir.

3.2.1.1 Preparo da vidraria

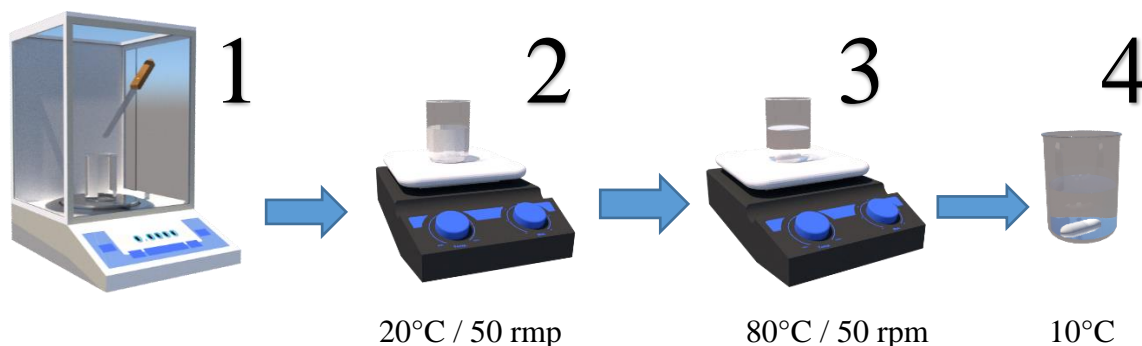
- A vidraria utilizada foi retirada do armário e lavada com detergente, água corrente, e posteriormente foram submersas em solução de hidróxido de sódio 15% m/m por cerca de 10 minutos, então foram lavadas com água corrente e submersas em álcool comercial por 10 minutos. Por fim foram novamente lavadas com água de osmose reversa. O processo de descontaminação não se aplica às pipetas, pois as mesmas são dedicadas a esta síntese, e identificadas para cada solução, desta forma eram lavadas apenas com água de osmose reversa.
- Para cada batelada de síntese de nanopartículas de prata são usados:
 - 5 Béqueres de 150 mL
 - 1 Béquer de 100 mL

- 2 Pipetas graduadas de 20 mL
- 1 Pipeta graduada de 10 mL

3.2.1.2 Preparo das soluções

- A solução aquosa de PVA foi preparada na concentração de 0,25% m/m. A etapa inicial é de aquecimento até atingir a temperatura de 80°C, sob agitação de 50 rpm, em um béquer de 150 mL, tampado com filme plástico. Posteriormente, a solução foi acondicionada em ambiente refrigerado até atingir uma temperatura de 10°C, por fim a solução foi retirada do refrigerador e exposta ao ambiente até atingir equivalência de temperatura com o meio. O processo completo levou cerca de 45 minutos (figura 8).

Figura 8 - Preparo da solução de PVA, 1-pesagem, 2-agitação, 3-elevação da temperatura, e 4-refrigeração.

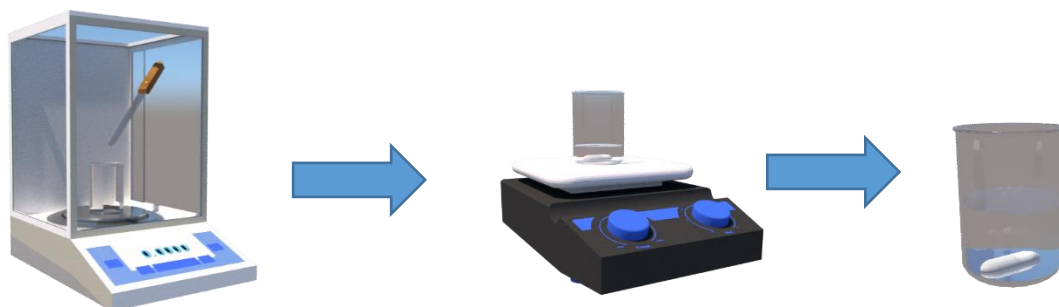


Fonte: Próprio autor

- A solução aquosa de AgNO₃ foi preparada em concentração de 0,0875% m/m. O preparo dessa solução envolve uma única etapa de agitação a 100 rpm em agitador magnético por cerca de 15 minutos, em um béquer de 150 ml que foi revestido com papel alumínio desde a etapa de pesagem até o processo de separação volumétrica para início da reação, pois o AgNO₃ é fotossensível⁴⁶.
- O preparo da solução aquosa de borohidreto a 0,0025% m/m, assim como a solução de AgNO₃, foi efetuada em uma única etapa de agitação, não necessitando

de revestimento do béquer de 100 mL. Apenas foi efetuada uma cobertura com filme plástico e agitada por cerca de 15 min a 100 rpm.

Figura 9 - Etapas de preparo das soluções de nitrato de prata e borohidreto de sódio

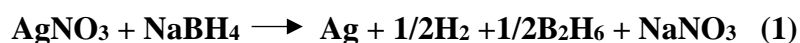


Pesagem dos reagentes / Agitação por 15 min/100 rpm / Repouso ao Abrigo de luz

Fonte: Próprio autor

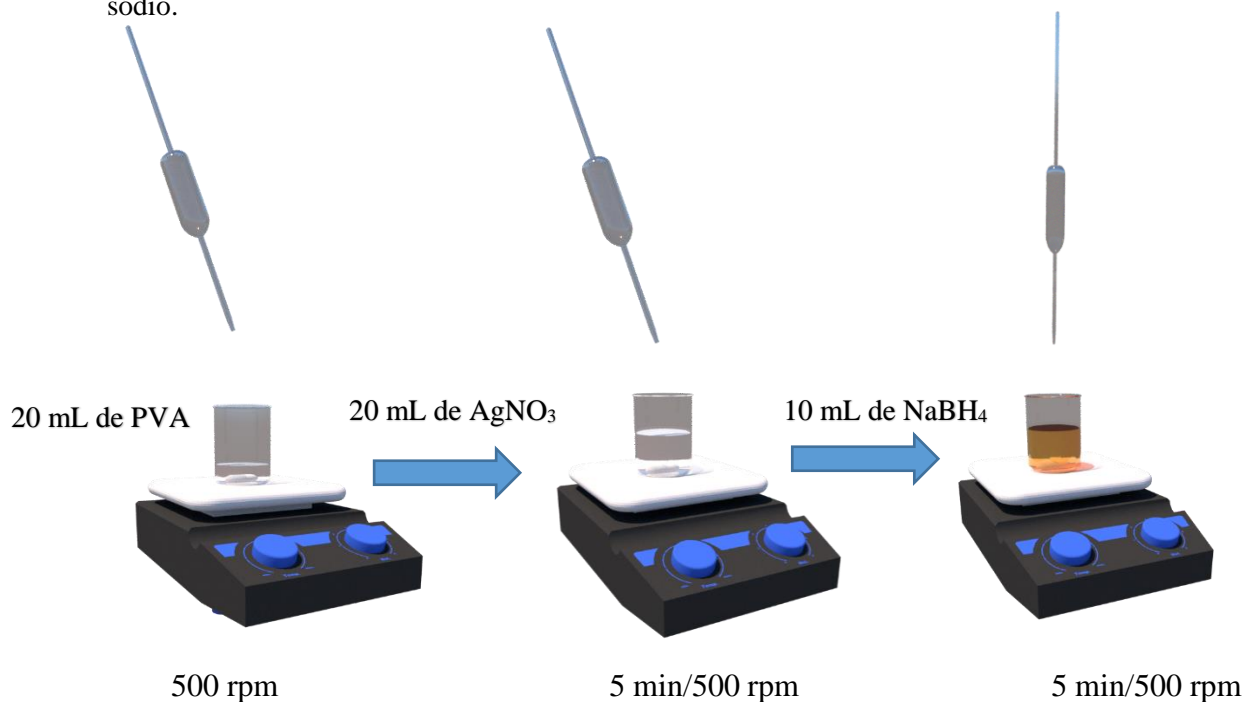
3.2.1.3 Reação

A reação global que representa a mecânica de redução de íons prata em prata metálica pela ação do borohidreto de sódio é apresentada pela Equação 1:



Para a etapa da reação, 20 mL de solução de PVA foram pipetadas e transferidas para um béquer de 150 mL sob agitação de 500 rpm, então 20 mL da solução de AgNO_3 foram pipetados e despejados no béquer que continha a solução de PVA. A mistura foi agitada por 5 minutos a 500 rpm. Ao final, 10 mL da solução de borohidreto foram transferidas rapidamente para a solução de PVA+ AgNO_3 . Após este processo, a solução adquiriu a cor âmbar imediatamente após o despejo da solução de borohidreto, evidenciando a ocorrência da reação descrita na equação 1, e então seguiu-se em agitação por mais 5 minutos (figura 10).

Figura 10 – Representação da etapa de reação de redução de ions de prata por borohidreto de sódio.



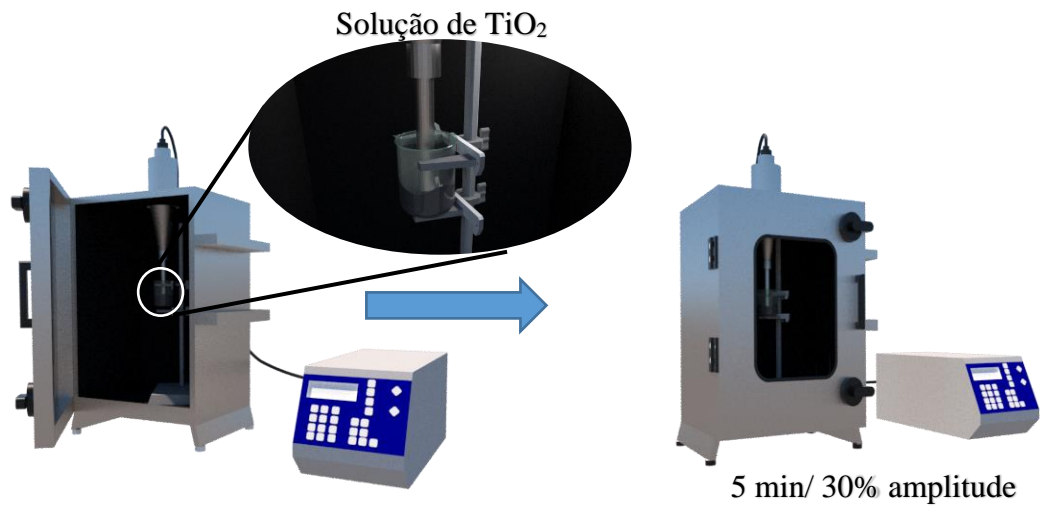
Fonte: Próprio autor

Para evitar a agregação das nanopartículas, o PVA foi usado como estabilizador, adsorvendo-se sobre a superfície da nanopartícula, formando uma camada auto-organizada que impede a coalescência. O PVA possui em sua estrutura sítios básicos de Lewis com alta afinidade pelas nanopartículas e cadeias orgânicas suficientemente compridas que criam um impedimento estérico, evitando interações entre as mesmas.

3.2.2 *Preparo de nanodispersão de titânio IV*

As nanopartículas de TiO₂ foram obtidas comercialmente do fabricante Sigma Aldrich. Para o preparo da dispersão foi adicionado 0,05 g de TiO₂, em 50 mL de água deionizada. Em seguida a solução foi levada ao equipamento de ultrassom de ponteira (figura 11) para dispersão de suspensão, com um tempo de 5 minutos e amplitude de 30%.

Figura 11 - Ilustração do ultrassom utilizado para dispersão de TiO₂.



Fonte: próprio autor

3.2.3 Tamanho de partícula e potencial zeta

3.2.3.1 Determinação do tamanho médio

O tamanho médio das partículas foi determinado em um aparelho analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Malvern) pertencente ao LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio). As medidas foram realizadas em triplicata a 25 °C.

3.2.3.2 Determinação do potencial zeta

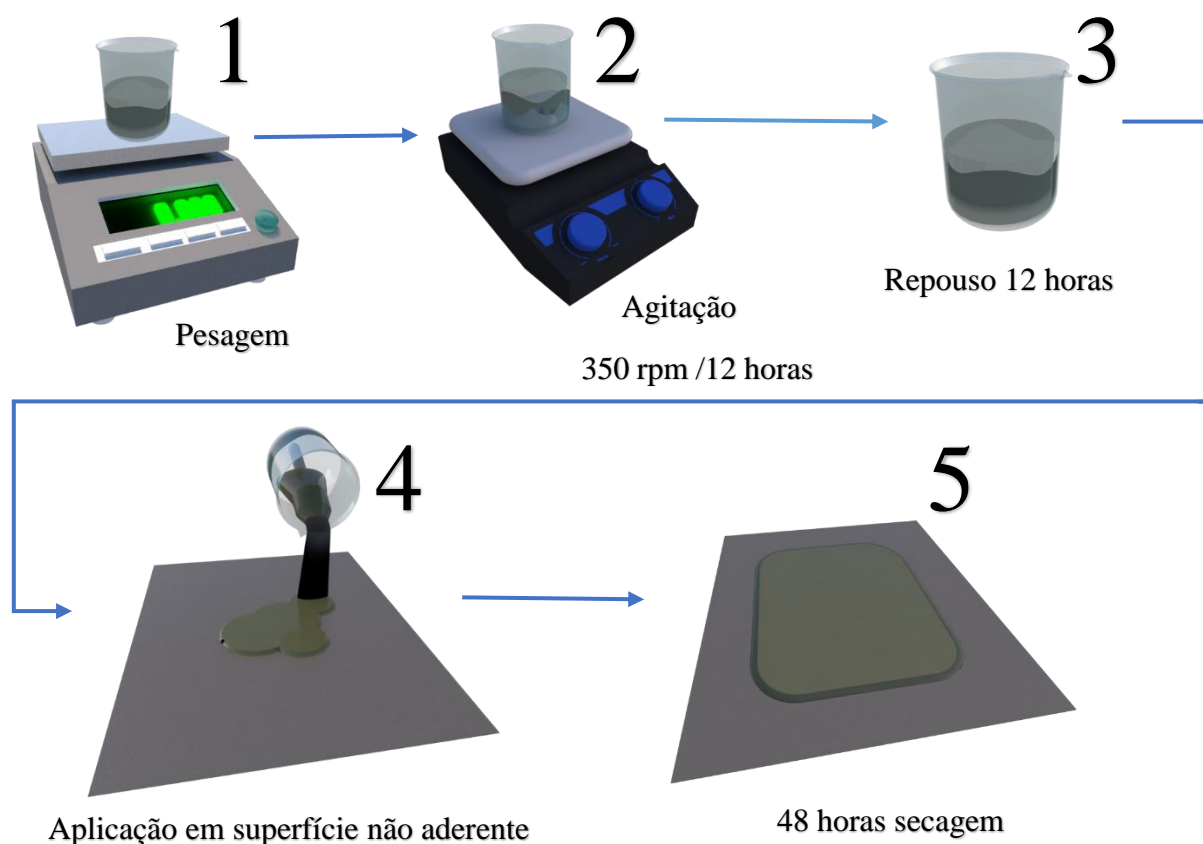
A carga superficial das nanopartículas foi medida em um Zeta Potencial Analyzer (Malvern). As medidas foram realizadas na temperatura de 25 °C. Todas as análises foram feitas em triplicata.

3.2.4 Confeção dos filmes

Os filmes foram preparados pela técnica de “casting”, que consiste no preparo de uma solução coloidal de AS como matriz polimérica que posteriormente é depositada em um suporte para secagem em condições controladas (figura 12).

A solução coloidal de AS foi preparada respeitando o seguinte procedimento. Inicialmente foram realizadas as pesagens de alginato de sódio e água, cujas concentrações serão apresentadas mais adiante. Após a pesagem os reagentes foram colocados em um béquer de 250 mL, juntamente com uma barra magnética, e o béquer foi coberto com filme plástico e levado a um agitador magnético, que ficará em agitação de 350 rpm por aproximadamente 12 horas. Por fim a solução foi levada a um refrigerador, onde permaneceu por 12 horas em repouso antes de ser depositada sobre superfície não aderente para secagem por troca de umidade com o ambiente. Para preparar as soluções dos filmes que continham nanopartículas, as soluções, cujo preparo foi descrito anteriormente, foram o excipiente no lugar de água deionizada.

Figura 12 - Processo de obtenção dos filmes.

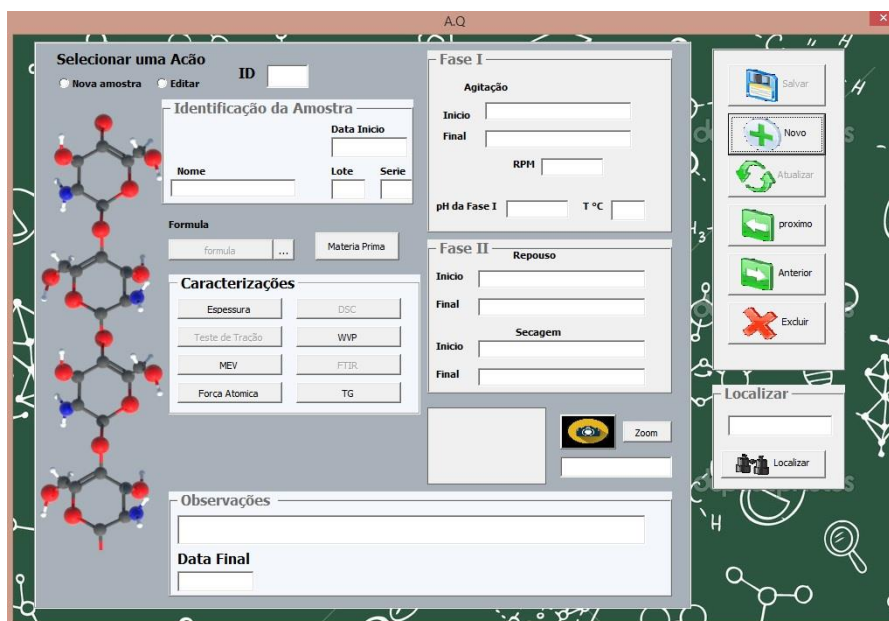


Fonte: Próprio Autor.

Foram preparados filmes controle contendo água destilada e alginato de sódio; filmes contendo água, alginato de sódio e sorbitol; filmes contendo água, alginato de sódio, sorbitol e nanopartículas de prata; filmes contendo água, alginato de sódio, sorbitol e dispersão de nanopartículas de dióxido de titânio.

Todo o trabalho de desenvolvimento das amostras foi registrado em um aplicativo chamado; *A.Q 1.0* (figura 13), desenvolvido para *Windows*, que se utiliza de um banco de dados em *Excel*. Esse aplicativo foi desenvolvido com o objetivo de aumentar a segurança e praticidade com relação ao armazenamento de dados pertinentes ao referido trabalho.

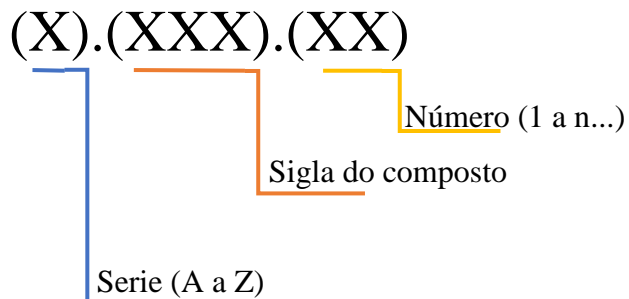
Figura 13 - Interface do aplicativo A.Q para controle de desenvolvimento.



Fonte: Próprio autor

Com exceção da amostra *zero*, todas as demais foram nomeadas por sistema de codificação. Uma letra entre A e Z no início representando a série de desenvolvimentos, e um número ao final, para a quantidade de amostra desenvolvida. A cada componente introduzido na fórmula, por série, uma sigla era inserida entre a letra da série e o número de amostras, com referência ao componente (figura 14).

Figura 14 - Sistema de codificação das amostras.



Fonte: Próprio autor

3.2.4.1 Amostras série A

A primeira série de filmes teve o objetivo de definir as concentrações de AS para compor a matriz. Desta forma, foi avaliado o tempo de secagem e a manuseabilidade dos filmes, diante da variação na concentração de AS nas amostras. Foram testadas concentrações de 1, 2 e 3% m/v, tais concentrações foram definidas com base no trabalho de PIRES e MOURA, (2016) ²⁶.

Os filmes que continham 3% de AS, apresentaram excelente manuseabilidade e tempo médio de secagem de 40 horas, esse tempo é considerado ótimo, levando-se em consideração as condições climáticas locais. Foram então definidos como padrão e denominados como amostra “Zero”, o ponto inicial do trabalho.

3.2.4.2 Filmes série B

O próximo passo foi definir a concentração do agente plastificante. Não foram testados outros agentes devido aos fatores citados na introdução, portanto a série B tratou apenas de definir a concentração do sorbitol. Novamente os fatores avaliados foram tempo de secagem e manuseabilidade. Os testes foram conduzidos com amostras com concentração de AS a 3% m/v e variando a concentração de sorbitol em 20, 10, 5, 2 e 1 % v/v.

As amostras que continhas sorbitol a 2% v/v apresentaram uma suavidade e uniformidade na superfície, além de secarem em tempo próximo às amostras zero, a manuseabilidade seguiu sem alteração em comparação à amostra zero. Desta forma 2% v/v foi a concentração definida para o sorbitol. As demais amostras não secaram antes de 3 dias. Apenas a amostra com 5 % v/v, porém sua superfície ficou pegajosa e aparentemente frágil a temperaturas ambientes ou ao atrito. A amostra com 1 % v/v não apresentou alterações perceptíveis aos sentidos humanos.

3.2.4.3 Filmes série C

A série C de amostras foi destinada a avaliar o comportamento, durante o processo de confecção, das amostras que continham dióxido TiO₂, especificamente, nanodispersão de TiO₂.

Após o preparo da nanodispersão, o AS e demais componentes foram introduzidos diretamente na dispersão, e o processo seguiu como descrito no item 3.2.4 e figura 12.

As amostras contendo TiO₂ mantiveram as características semelhantes das amostras anteriores e, como já era esperado, apresentaram uma tonalidade branca e textura fosca quando não era adicionado sorbitol, mas ainda assim translúcido.

3.2.4.4 Filmes série D

Por final, a série D teve como objetivo avaliar as características visuais e táteis, e a estabilidade das nanopartículas na matriz dos filmes produzidos diretamente em solução de AgNP obtida conforme foi descrito no item 3.2.1. Novamente, as amostras mantiveram as características semelhantes das amostras zero e apresentaram tonalidade âmbar, levemente fosca na ausência de sorbitol.

3.2.4.5 Amostras

As amostras aprovadas seguem abaixo na tabela 3, com seus respectivos códigos e concentrações.

Tabela 3 - Formulação das amostras obtidas.

Código	Água	AS (m/v)	Sorbitol (v/v)	Nanoemulsão (TiO ₂)	Solução (AgNP)
ZERO	QSP	3%			
ZERO.S	QSP	3%	2%		
CT10		3%		QSP	
CTS10		3%	2%	QSP	
DAG12		3%			QSP
DAGS12		3%	2%		QSP

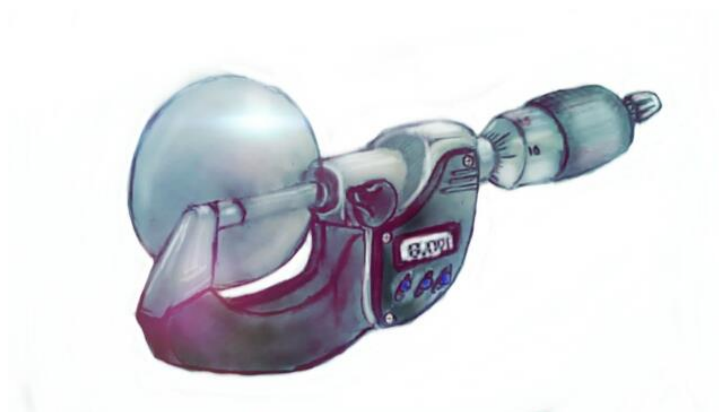
QSP: Quantidade suficiente para completar a solução

Fonte: próprio autor.

3.2.5 Medidas de Espessura dos filmes

As medidas das espessuras dos filmes foram realizadas utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo Manufacturing, Japan) (figura 15) em 5 diferentes pontos ao redor do filme. Os valores obtidos foram utilizados para calcular as propriedades mecânicas e os valores de permeabilidade de vapor de água.

Figura 15 - Ilustração de micrômetro digital.



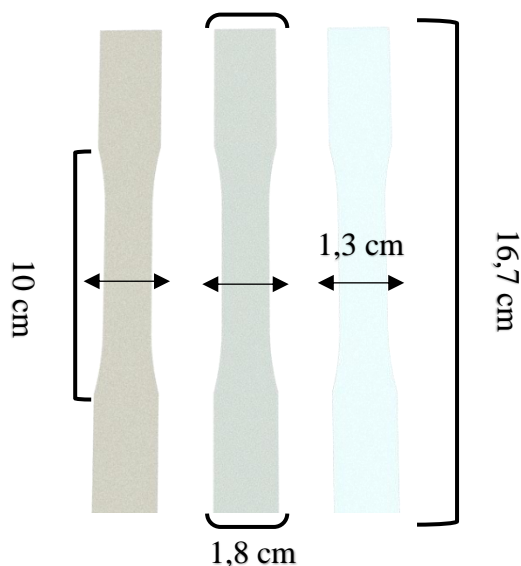
Fonte: próprio autor

3.2.6 Propriedade Mecânica: Tensão X Deformação

3.2.6.1 Procedimento

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas por uma máquina universal de ensaios INSTRON, modelo 3369, da UNESP campus de Ilha Solteira, com uma célula de carga de 500 N. Os filmes foram cortados em formato retangular (corpo de prova, figura 16) de acordo com a norma ASTM D882-97 (1997)⁴⁷.

Figura 16 - Dimensões dos corpos de prova.



Fonte: Próprio autor

Com o auxílio de um micrômetro digital foram realizadas medidas das espessuras de 3 a 5 pontos ao longo do corpo de prova, para definir a média da espessura. Posteriormente os filmes foram acondicionados em um dessecador à temperatura de 25°C por 24 horas, com umidade relativa de aproximadamente 30%, antes das medições. A velocidade de tracionamento utilizada foi de 10 mm/min, constante para todos.

3.2.6.2 Cálculos

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas com relação à tensão máxima e, tensão na ruptura (equação 1), percentual máximo de alongação até a ruptura (equação 2) e módulo elástico (equação 3).

$$\sigma = \frac{F}{S_0} \quad (2)$$

σ = Tensão máxima no ponto de ruptura

F = Carga máxima aplicada até a ruptura do corpo de prova

S_0 = Área original da seção transversal do corpo de prova

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{L_0} \times 100 \quad (3)$$

ε = Percentual máximo de alongação até a ruptura

Δl = Diferença entre comprimento inicial e final

L_0 = Comprimento de referência

E = Módulo de elasticidade

σ = Tensão máxima no ponto de ruptura

ε = Percentual máximo de alongação até a ruptura 29

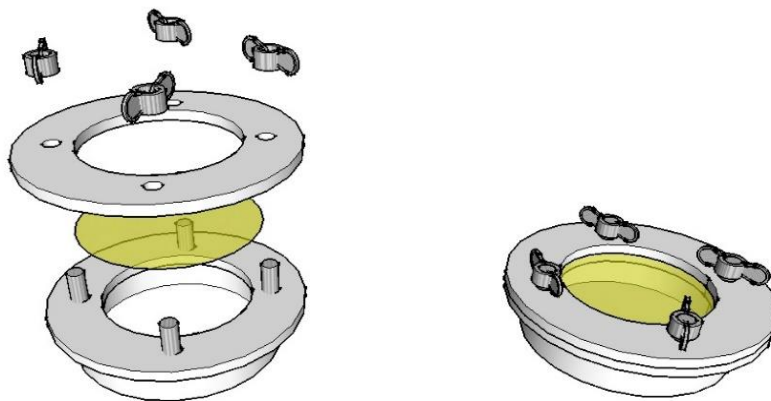
$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (4)$$

3.2.7 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Segundo o “Annual Book of Standard” (ASTM E96-80), a WVP é a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área de um material de espessura reduzida, porém de valor definido, induzida por uma diferença de pressão entre duas superfícies específicas, sob condições de temperatura e umidade relativa definidas.

Valores de permeabilidade ao vapor de água foram determinados a partir do método modificado ASTM E96-80 (1980)⁴⁸ e com base no trabalho publicado por Gernnadios et al. (1994)⁴⁹. Esse método consiste em introduzir um recorte circular do filme, em uma célula com compartimento para água de 5 cm de diâmetro por 1 cm de profundidade. A mesma é fechada por pressão com presilhas rosqueadas sobre sua tampa (figura 17), um conjunto contendo de 4 a 5 células denominado sistema 1 (ST1).

Figura 17 - Células de teste de WVP (ST1).

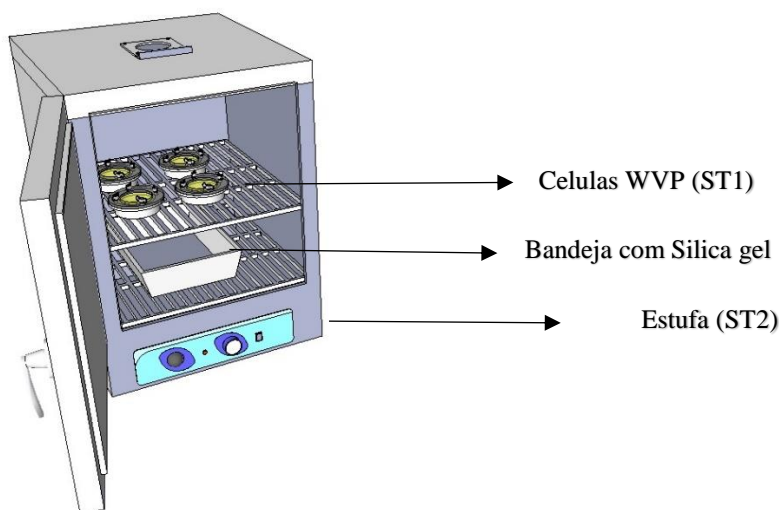


Fonte: próprio autor.

São adicionados ao compartimento de cada célula 6 g de água de osmose reversa, Em seguida, a amostra do filme foi cuidadosamente adicionada sobre o limite do compartimento de água, ficando um espaço de aproximadamente 0,6 cm entre a superfície da água e a face inferior do filme.

As células foram fechadas e pesadas, os valores foram registrados. E as amostras foram colocadas em um sistema (ST2) (Figura 18). Com o objetivo de controlar a atmosfera, o sistema foi deixado em estufa de volume interno de 150 L, desligada.

Figura 18 - Estufa segundo sistema (ST2).



Fonte: próprio autor.

As condições de temperatura e umidade relativa do ar da parte interna da estufa foram obtidas por meio de um termo higrômetro digital e registrados no formulário junto ao peso inicial das amostras. Este procedimento se repetiu a cada 1 hora, por um período de 27 horas e com um intervalo de 23 horas entre a 2ª hora do teste e a 25ª.

Os valores de permeabilidade foram calculados com o auxílio de um aplicativo para computador “WVP-GCNH 1.0”. Este aplicativo realiza os cálculos através de um banco de dados em “Excel 2013”. Desta forma, serão apresentados adiante as fórmulas matemáticas no formato padrão.

O valor de WVP é calculado matematicamente pela razão entre a variação massa (Q), através de uma película ou membrana de espessura definida em milímetros (l), pela área superficial da amostra (a) em metros quadrados, durante um determinado tempo em horas (t), com uma diferença de pressão parcial de vapor de água em kPa, entre a superfície externa e interna da amostra, (Δp), como mostrado na equação 5.

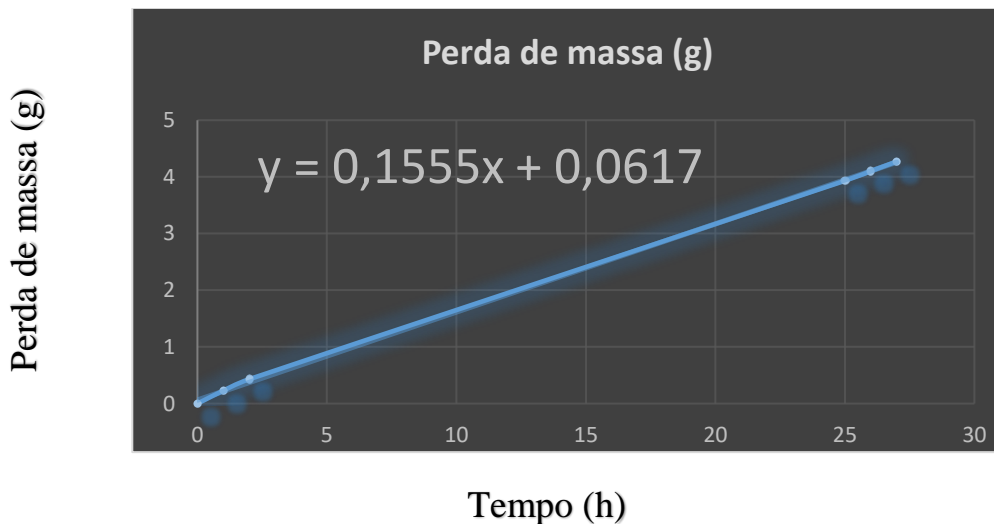
$$\text{WVP} = \frac{Q.l}{a.t.\Delta p} \quad (5)$$

$$[=(Q^*l)/(a*t*\Delta p)] \quad (\text{EXL 1})$$

Onde o valor de l é igual à média das espessuras de 3 a 5 pontos da amostra, e a é a área do filme que corresponde à área da célula.

O valor de Q é a inclinação da reta, que é definido como o y da equação da reta de tendências do gráfico plotado com as informações de; perda de massa a cada etapa de pesagem, inseridas no eixo Y, e as horas decorridas correspondentes às etapas do teste, inseridas no eixo X como demonstrado na Figura 19. Sendo assim Q é a variação de massa de água por hora de análise.

Figura 19 – Exemplo de gráfico com equação de reta para resultados de teste de WVP.

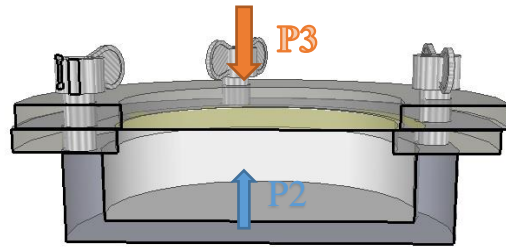


Fonte: próprio autor.

Para calcular o valor de Δp na equação 6, onde p_3 e p_2 , são respectivamente as pressões parciais de vapor de água da superfície externa e interna da amostra.

$$\Delta p = p_3 - p_2 \quad (6)$$

Figura 20 - Corte da célula de WVP.



$$[(p_1-p_2)] \quad (\text{EXL2})$$

$$p_1 = e_a \quad (6.1)$$

$$[=e_a] \quad (\text{EXL2.1})$$

$$U_r = \frac{e_a}{e_s} \quad (6.2)$$

$$[=(e_a/e_s)] \quad (\text{EXL2.2})$$

Fonte: Próprio autor

Onde U_r é a umidade relativa, e_a é a pressão parcial de vapor de água, e e_s é a pressão de saturação de vapor de água na temperatura do ST2, que pode ser calculada pela equação de Tetens (equação 6.3).

$$e_s = A \times \text{Exp}^{\frac{17,3 \cdot t}{237,3+t}} \quad (6.3)$$

$$[=A \cdot (\exp(17,3 \cdot t)/(237,3+t))] \quad (\text{EXL2.3})$$

Diferente de todas as fórmulas de física para gases, na equação de Tetens a temperatura T é aplicada em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$). O valor de A é 0,6108 kPa. Desta forma ao obter o valor de e_s , e ajustando a equação 6.2, é possível calcular a p_1 .

$$e_a = U_r \times e_s \quad (6.4)$$

$$[=(U_r \cdot e_s)] \quad (\text{EXL2.4})$$

Para calcular a p_2 foi necessário calcular a velocidade de transmissão do vapor de água (WVTR), pois as células do ST1 não possuem sensores no seu interior e não podem ser abertas durante os testes. Assim os valores de pressão parcial do ST2 foram obtidos através da equação 7, aceitando o valor de 1 atm convertido para kPa, como pressão atmosférica total denominada P_t , e o valor de e_s como p_1 .

$$\text{WVTR} = \frac{M_w \cdot D \cdot \ln[(P_t - p_2)/(P_t - p_1)]}{R \cdot T \cdot z} \quad (7)$$

M_w = Massa molecular da água

D = Coeficiente de difusão da água no ar

z = Altura da célula

R = Constante dos gases ideais

$$[(Mw \cdot D \cdot \ln((P_t - p_2)/(P_t - p_1)))/(R \cdot T \cdot z)] \quad (\text{EXL 3})$$

Para calcular WVTR pela equação 7, considerar $R = 8,2 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \cdot \text{atm} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ para P_t , p_2 e p_1 em atm, e z em decímetros, apenas para confirmar os próximos cálculos.

Considerando os dados do experimento a WVTR pode ser definida como sendo a razão entre a perda de massa por hora, pela área da amostra equação 7.1.

$$\mathbf{WVTR} = \frac{\mathbf{Q}}{\mathbf{a}} \quad (7.1)$$

$$[=Q/a] \quad (\text{EXL 3.1})$$

Obtendo o valor experimental de WVTR e adaptando matematicamente a equação 7, se torna possível calcular a P_2 .

$$\mathbf{p_2} = \mathbf{P_t} - \Delta_p \cdot \mathbf{exp} \frac{\mathbf{WVTR} \cdot \mathbf{R} \cdot \mathbf{z} \cdot \mathbf{T}}{\mathbf{D} \cdot \mathbf{Mw}} \quad (7.2)$$

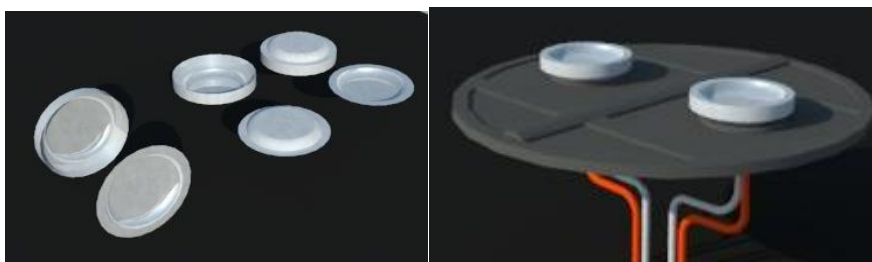
$$[=P_t - (P_t - p_1) \cdot \exp((wvtr \cdot R \cdot z \cdot T)/(D \cdot Mw))] \quad (\text{EXL 3.2})$$

Para calcular p_2 pela equação 7.2, considerar $R = 8,311 \text{ L} \cdot \text{kPa} / \text{K} \cdot \text{mol}$, e z em metros. O coeficiente de difusão de vapor de água no ar D é $9,36 \text{ m}^2/\text{h}$.

3.2.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de DSC consiste em aplicar calor constante a duas amostras, sendo uma a amostra do material a ser analisado e a outra, uma referência, que é uma capsula de alumínio vazia (figura 21). As duas amostras são mantidas à mesma temperatura, e o sistema de controle (Servo-sistema) aumenta a quantidade de energia fornecida para as amostras, dependendo do processo ser endotérmico ou exotérmico. A curva de DSC ou termograma é expressa/o em termos de fluxo de calor (mW) por temperatura ($^{\circ}\text{C}$) ou tempo (min) ⁵⁰.

Figura 21 - Ilustração das panelinhas de alumínio, e da parte interna do equipamento, compartimento das amostras.



Fonte: Próprio Autor

Todas as medidas de DSC foram realizadas em um equipamento de DSC da marca TA Instruments Q100. Cerca de 4 mg da amostra foram acondicionadas em painéis de alumínio, que foram seladas e alocadas no equipamento. As análises foram realizadas com rampa de aquecimento de 0 até 200 °C; razão de 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL/min.

3.2.9 Termogravimetria (TG e DTG)

A técnica de TG dinâmica ou convencional, permite, coletar os dados das alterações de massa ocorridas no material diante de aquecimento ou resfriamento, cuja temperatura varia de forma pré-determinada. A técnica de TG permite estabelecer parâmetros que relacionam as faixas de temperatura com os eventos ocorridos na estrutura do material analisado, tais como: oxidação, desidratação, decomposição e combustão.

A termogravimetria derivada (DTG) é a derivada primeira da curva de TG. É obtida matematicamente ou diretamente registrada através de software. e não possui informações a mais que as curvas TG obtidas sob as mesmas condições experimentais. O objetivo da obtenção de curvas de DTG é tornar os resultados visualmente mais perceptíveis e identificar prontamente as temperaturas T_{onset} , T_{offset} e de variação máxima da massa, T_{pico} , dos eventos associados a perdas de massas⁵¹.

As análises foram realizadas no aparelho TGA Q-500. Foram colocados 4 mg da amostra na panela de platina. O experimento utilizou programação de rampa de aquecimento de 20 até 700 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min para cada amostra. A vazão de ar sintético foi mantida em 60 mL/min.

3.2.10 Atividade Antibacteriana

O teste foi realizado segundo a metodologia reportada por OTONI⁵², de acordo com a norma CLSI 2012⁵³. Culturas de bactérias *E.coli* (ATCC 11229) e *S. aureus* (ATCC 6538) foram mantidas à -80°C até o crescimento em tubos com caldo de soja trípico conhecido como Tryptic soy broth (TSB) (Acumedia Manufactures, ind., Lasing, MI, EUA) até 37 °C por 24 h e, então, colocadas em diferentes tubos com TSB a 37 °C por 12 h. Colônias isoladas das culturas foram inoculadas com 0,85% (m/v) de solução de NaCl até que atingiram a turbidez do padrão McFarland 0,5, o que corresponde a aproximadamente 10⁸ UFC mL⁻¹. As suspensões foram depositadas em ágar solidificado. Os filmes foram cortados em discos de 6 mm de diâmetro e expostos a luz UV (110 V e 254 nm) por 2 min em cada lado antes de serem colocados nas placas de Petri, as quais foram previamente inoculadas com as culturas de bactérias e deixadas em período de incubação de 16-18 h a 37°C.

3.2.11 Microscopia Eletrônica de Varredura

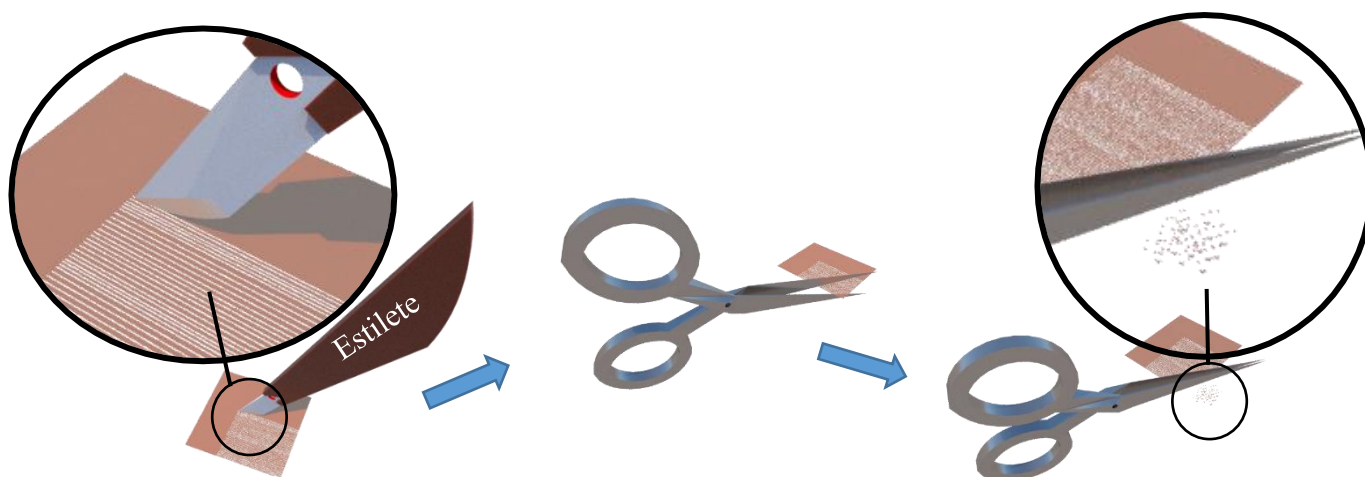
Com o objetivo de estudar as modificações na morfologia das séries dos filmes, os mesmo foram analisados utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV), da marca Zeiss, modelo EVO LS15, da UNESP campus de Ilha Solteira, que operou com voltagem de 5,00 kV a 10,00 kV (\cong 5 nm). Sobre as amostras foi depositada uma fina camada de ouro usando um *Sputter Coater*, depois de fixadas em um suporte com fita de carbono.

3.2.12 Espectroscopia do Infravermelho com Transformadas de Fourier (FT-IR)

Com o objetivo de apresentar dados mais sólidos sobre as possíveis interações das nanopartículas com a matriz de AS, a técnica de FT-IR foi aplicada em todas as amostras. Foi utilizado um espectrofotômetro NEXUS 670, Nicolet Instrument Corporation, da UNESP campus de Ilha Solteira, com faixa de comprimento de onda

entre 4000 e 400 cm^{-1} . As análises foram realizadas por técnica de disco prensado de brometo de potássio (KBr). Para a confecção das pastilhas de KBr contendo as amostras, além do uso de uma mini prensa, foi necessário segmentar os filmes com auxílio de um estilete e uma tesoura de precisão (figura 22).

Figura 22 - Sistema de segmentação das amostras de filmes para análise de FT-IR.



Fonte: Próprio autor

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Tamanho de partícula e potencial Zeta

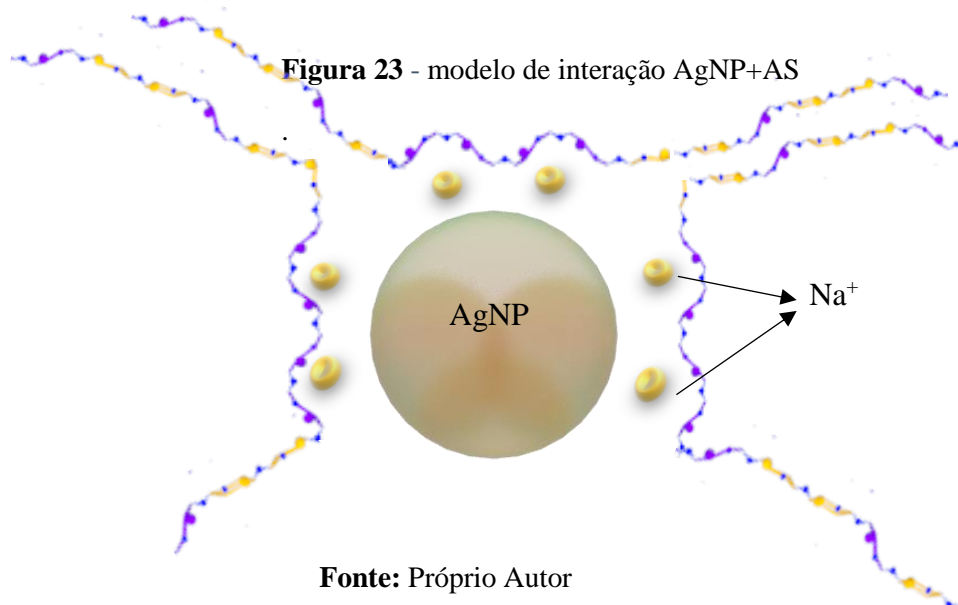
A tabela 4 lista o tamanho médio das AgNPs, de três baterias de sínteses, onde a síntese 1^o ocorreu um mês antes das demais. Esta separação temporal das sínteses foi apenas para constatar a estabilidade das AgNPs em solução.

Tabela 4 – Tamanho médio de AgNPs.

Síntese	Tamanho da partícula (nm)	Desvio padrão (nm)
1	83,71	0,29
2	96,71	4,48
3	75,17	0,49

Fonte: Próprio autor

O valor de potencial zeta médio das AgNPs é de $-10,6 \pm 1,04$ mV. Este resultado indica que a superfície da nanopartícula pode interagir com cátions de sódio presentes nas regiões da cadeia polimérica de AS com predominância de monômeros G, e repelir regiões das cadeias de AS com maior quantidade de monômeros M em sequências contínuas, já que essas regiões têm densidade eletrônica maior devido à presença de radicais hidroxila em um número maior se comparado aos monômeros G. Esta interação nanopartícula+matriz polimérica pode estar formando uma estrutura semelhante a uma micela, como demonstrado na figura 23.



Com base nos resultados de tamanho de partícula apresentados na tabela 4, é possível supor que uma grande quantidade de íons sódio pode interagir com a superfície das AgNPs, devido ao fato do raio iônico do sódio ser 0,95 Å, sendo assim o raio da nanopartícula é quase 900 vezes maior, favorecendo a interação com um número elevado de cátions de sódio. Além disso o elevado volume das AgNPs em relação aos monômeros de AS pode influenciar na espessura dos filmes.

4.2 Medidas de espessura

Abaixo é apresentada a tabela 5, que contém as médias das espessuras dos filmes obtidos neste trabalho. Estas medidas foram realizadas nos filmes que foram destinados aos testes de tração e WVP.

Tabela 5- Espessuras dos filmes

Amostra	Espessura (µm)	Desvio padrão (µm)
ZERO	39,70	2,60
ZERO.S	41,85	3,53
CT10	35,33	1,33
CTS10	41,80	3,20
DAG12	49,44	2,74
DAGS12	56,16	1,73

Fonte: Próprio autor

Os dados apresentados na tabela 5 comprovam as suposições anteriores, de que o volume das nanopartículas poderiam gerar um aumento nas espessuras dos filmes. No entanto, o aumento na espessura só ocorreu nos filmes que tinham AgNPs e AgNP + sorbitol. Já nos filmes com nanoemulsão de titânio, CT10 e CTS10, em comparação aos filmes da série ZERO que são os filmes de referência, ocorreu uma redução na espessura.

A redução das espessuras nesses filmes, pode ser um indicativo de que as nanopartículas de titânio estão em um tamanho inferior às nanopartículas de prata, pois uma nanopartícula de menor volume teria menos interações com as cadeias de AS, resultando em uma maior compactação da matriz do polímero.

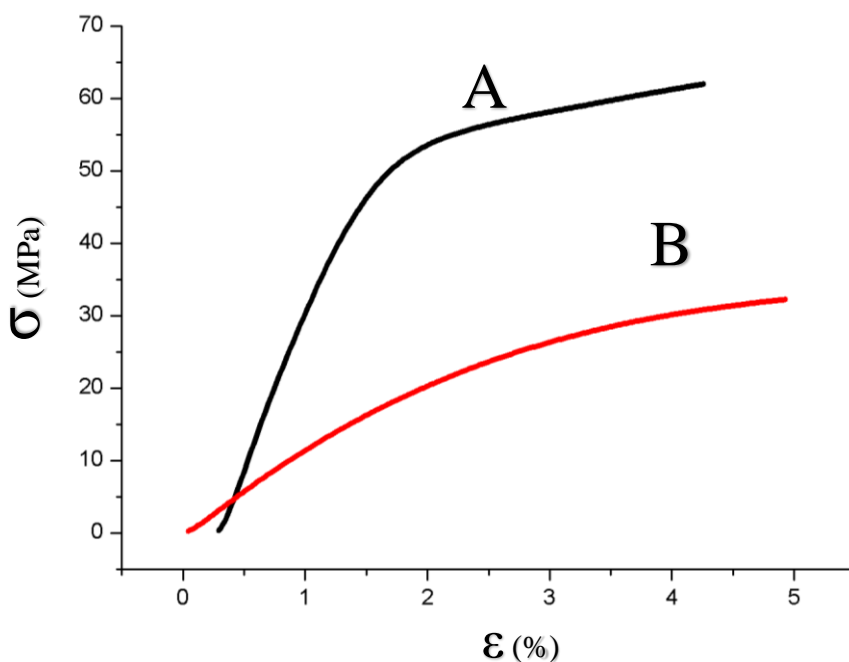
Todos os filmes que possuem sorbitol em sua composição apresentaram aumento nas espessuras, se comparados a amostra de referência ZERO. Este efeito é devido ao sorbitol agir como um agente plastificante, causando o afastamento das cadeias poliméricas⁵⁴.

4.3 Teste de tração

4.3.1 Tensão

Na figura 24 são apresentadas as curvas referentes ao teste de tração de duas amostras dos filmes analisados, apenas com a finalidade de demonstrar o efeito do agente plastificante no filme. Pode-se observar que o material que não continha agente plastificante em sua composição oferece uma resistência maior ao ser submetido a tração de 10 mm por minuto. Em contrapartida o filme com plastificante (B) tem uma maior deformação e módulo de elasticidade inferior ao do filme A.

Figura 24 – Curvas de tensão por deformação para um filme polimérico A e para um filme polimérico contendo plastificante B.

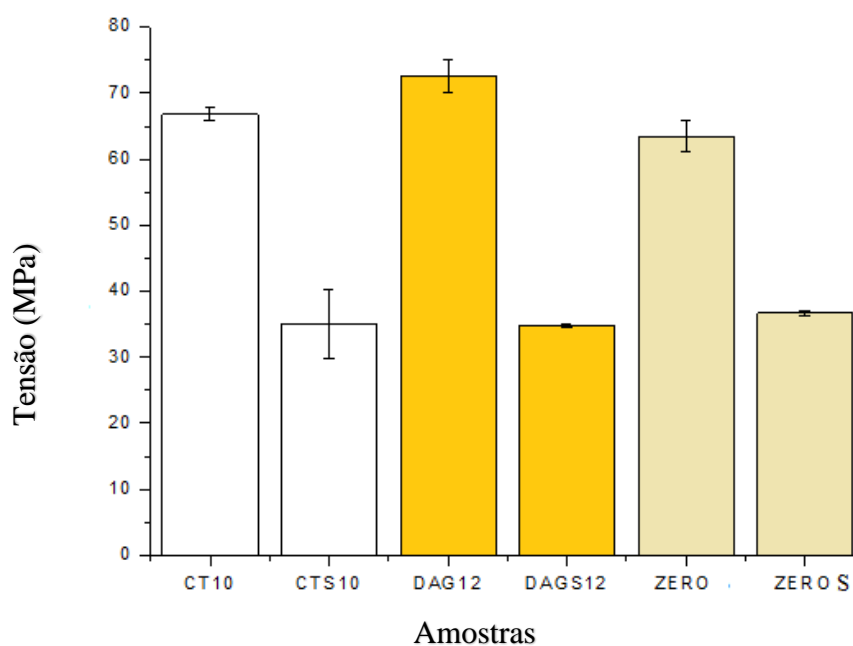


Fonte: Próprio autor

A diminuição apresentada na inclinação da curva do filme B é semelhante a inclinação das curvas das amostras CTS10, DAGS12 e ZERO.S devido à presença do agente plastificante sorbitol. Como dito anteriormente, o mesmo causa um afastamento entre as cadeias poliméricas, reduzindo a resistência à tração do material devido a poucas interações físicas ao longo da matriz, como consequência promove uma deformação maior antes da ruptura por conter em sua estrutura, interações de diferentes tipos com forças diferentes, conforme descrito por Lima, Andreani e Soldi (2007)⁵⁵.

A figura 25 apresenta o gráfico das tensões médias dos materiais no ponto de ruptura, onde nota-se que as amostras DAG12 apresentam uma resistência maior que os demais materiais.

Figura 25 – Gráfico em colunas das tensões médias no ponto de ruptura para cada amostra.

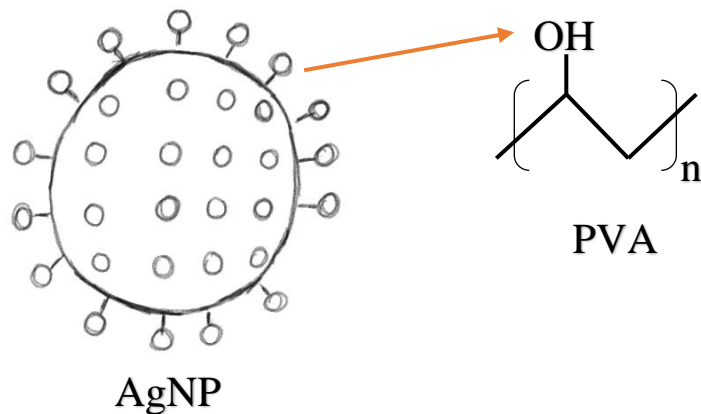


Fonte: próprio autor.

Através das análises, pode-se concluir que os filmes que continham sorbitol apresentaram uma menor resistência à tração. Já as amostras que continham NPs metálicas, tiveram um leve aumento na resistência à tração em comparação com a amostra ZERO. A resistência à tração apresentada pela amostra DAG12 e CT10, pode estar associada à interação das nanopartículas metálicas com regiões de cadeias poliméricas da matriz com predominância de monômeros G, interagindo fisicamente com cátions de Na^+ . Já a diferença de resistência à tração entre as amostras CT10 e DAG12 pode estar associada ao agente estabilizante das nanopartículas.

Como descrito anteriormente, as TiNP foram estabilizadas por dispersão de ultrassom, e as AgNP foram obtidas por síntese química e estabilizadas com PVA. Nos filmes CT10 e CTS10, a região da matriz com mais monômeros G e cátions Na^+ podem estar interagindo fisicamente com o campo elétrico que estabiliza as TiNP. Já nos filmes DAG12 e DAGS12, as regiões da matriz com repetições contínuas de monômeros G, podem estar interagindo com os radicais hidroxila (OH) que ficam na parte externa da estrutura de AgNP em forma de esfera, como demonstrado na figura 26.

Figura 26 - Ilustração de modelo de nanopartícula de prata estabilizadas com PVA.

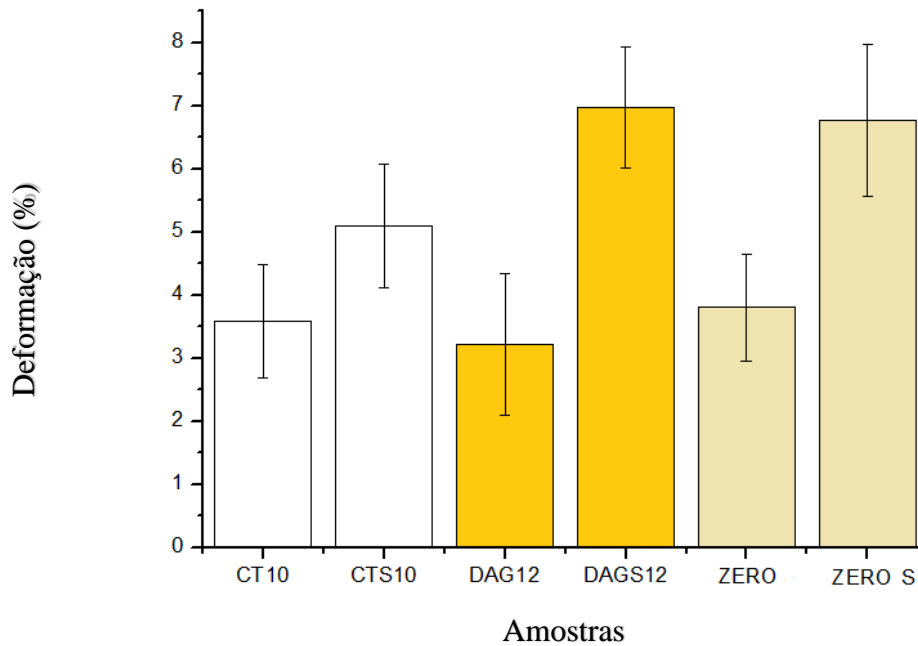


Fonte: Próprio autor

4.3.2 Deformação.

A figura 27 apresenta os valores da deformação máxima para as mesmas amostras anteriormente testadas. Observando as colunas, é possível notar que todas as amostras que contêm sorbitol tiveram uma deformação maior. No entanto, a amostra DAGS12 apresentou uma deformação um pouco maior que a mostra ZERO.S, embora fosse esperado que a presença das nanopartículas diminuísse a deformação causada pelo plastificante. Esse efeito pode estar associado ao aumento na quantidade de interações físicas na matriz causado pelo sorbitol, que poderia estar impedindo que parte das cadeias poliméricas interajam com a superfície da AgNP.

Figura 27 – Gráfico em colunas de deformação (máxima) (até o ponto de ruptura).



Fonte: próprio autor.

Observando-se o gráfico, nota-se uma redução entre as deformações dos materiais CT10, DAG12, em relação a ZERO. A redução na deformação pode ser mais um indício da interação das nanopartículas metálicas com a matriz que formaria uma estrutura com regiões mais organizadas, além da maior resistência à tração apresentada anteriormente.

4.3.3 Módulo de elasticidade

A Tabela 6, apresenta os valores encontrados nas médias dos módulos de elasticidade dos filmes.

Tabela 6 - Módulos de elasticidade das amostras.

Amostra	Módulo (MPa)	Desvio padrão (MPa)
Zero	41,56	0,29
Zero S	12,32	0,03
CT10	44,39	0,27
CTS10	12,47	0,07
DAG12	48,50	0,17
DAGS12	10,67	0,05

Fonte: Próprio autor

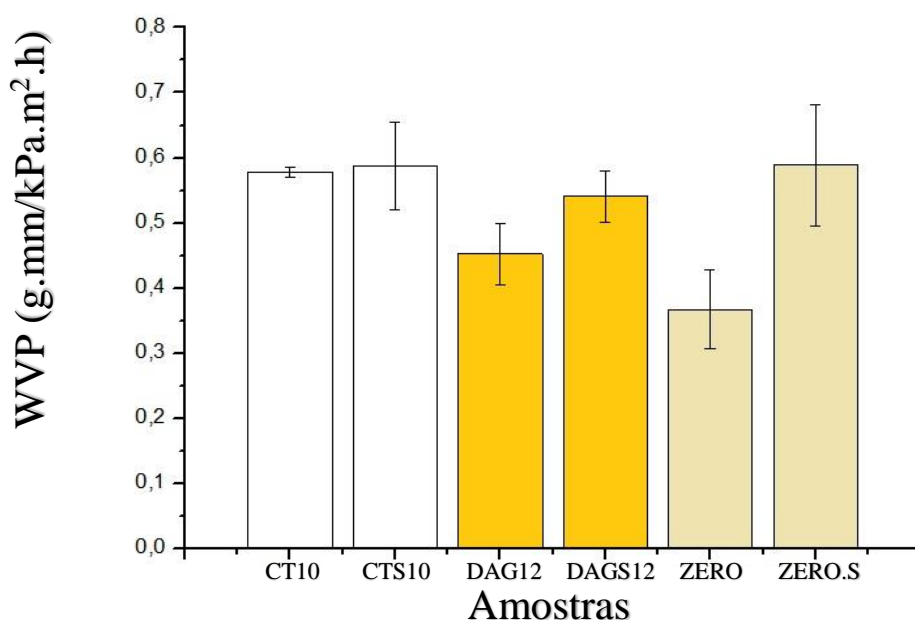
É possível relacionar os valores dos módulos com os resultados de deformação da figura 27 e deduzir que de fato pode estar ocorrendo a interação das nanopartículas metálicas com a matriz, pois era esperado um valor menor no módulo de elasticidade na amostra ZERO se comparada a DAG12, já que a amostra ZERO apresentaria uma matriz mais amorfa com menos interações físicas que as amostras DAG12. Já o valor do módulo de elasticidade dos filmes CT10 é um indicio de que as nanopartículas metálicas menores oferecem menos resistência à tração. As TiNPs foram obtidas pelo método descrito por Moura em 2017⁵⁶, que reporta o tamanho médio da nanopartícula de titânio sendo quase 9 vezes menores que as nanopartículas de prata, e também possuem um potencial zeta maior.

O valor do módulo das amostras CT10 é menor que da amostra DAG12, ou seja, a inclinação da reta da região elástica da curva de tração por deformação é menos inclinada indicando que o material é menos resistente a tração, mas tem menos interações físicas devido à superfície da TiNE ser menor que da AgNP, portanto, sofre uma deformação maior.

4.4 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Através da figura 28 é possível notar que todas as amostras contendo sorbitol em suas formulações, tiveram WVP maior se comparado com as amostras da mesma série que não continham sorbitol. Esse efeito já era esperado pois o sorbitol afasta as cadeias do polímero, aumentando o tamanho dos poros e facilitando o fluxo de moléculas de vapor de água ao longo da matriz.

Figura 28 – Valores médios de WVP para cada amostra.



Fonte: Próprio autor

As amostras contendo NPs metálicas, apresentaram um aumento na permeabilidade se comparados à amostra ZERO que continha apenas a matriz de AS. As amostras que continham TiNE apresentaram uma permeabilidade muito próxima à da amostra que continha a matriz e sorbitol (ZERO.S). A diminuição na WVP das amostras contendo nanopartículas metálicas e sorbitol, em comparação à amostra ZERO.S talvez esteja associada ao volume das nanopartículas, uma vez que os filmes contendo AgNP tiveram uma menor permeabilidade que os filmes contendo TiNP. O fator que converge para essa possível conclusão é que os filmes que não tinham sorbitol também apresentaram aumento crescente da WVP na ordem ZERO, DAG12 e CT10. Isso é um

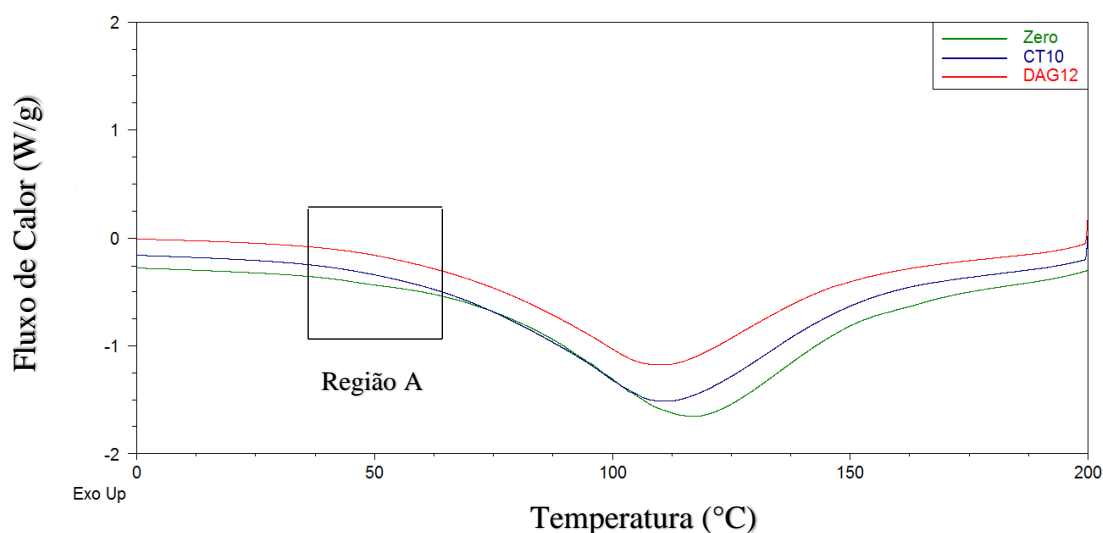
indício de que o aumento das interações físicas na matriz aumenta a permeabilidade, mas, o aumento do volume das nanopartículas diminui a permeabilidade ao vapor de água, assim como descrito por Pires e Moura em 2016¹⁷.

A estrutura dos filmes pode conter lacuna, devido ao aprisionamento de ar atmosférico na etapa de agitação, que se transforma em poros durante o processo de secagem. As nanopartículas de prata são mais volumosas em cerca de 9 vezes que as nanopartículas de titânio, desta forma, pode ocorrer a formação de poros menores devido à compactação da matriz pela grande quantidade de interações com a superfície da nanopartícula. Isso pode ser o motivo da redução na WVP se compararmos CT10 à DAG12.

4.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A figura 29 apresenta o termograma de DSC das amostras que não continham sorbitol. O único evento facilmente observável na faixa de temperatura de 40 a 160 C°, é um pico de absorção de energia.

Figura 29 - Termograma de DSC das amostras Zero, CT10 e DAG12.

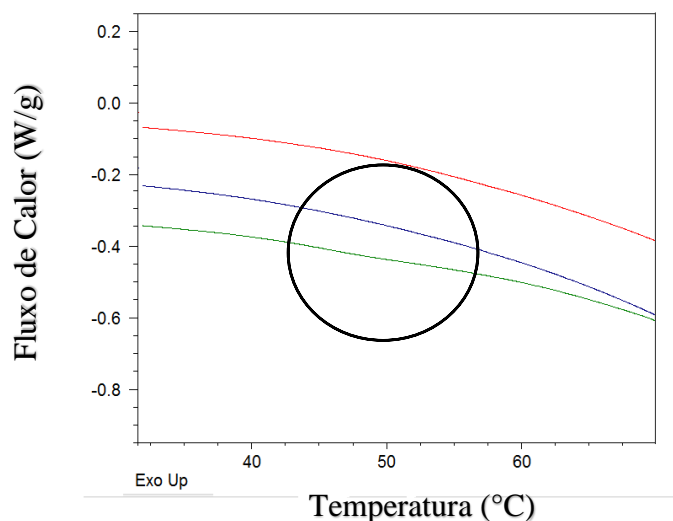


Fonte: Próprio autor

Os picos endotérmicos da figura 22 são eventos associados à perda de moléculas de água aprisionadas na matriz polimérica dos filmes. Além disso o termograma da amostra Zero apresenta uma discreta mudança na linha base, que representa uma transição

vítrea (T_g) da matriz. Tal evento pode ser observado com mais facilidade na figura 30, que se trata da ampliação da região A.

Figura 30 - Ampliação da região A de ocorrência da T_g da amostra zero no termograma de DSC da figura 22.



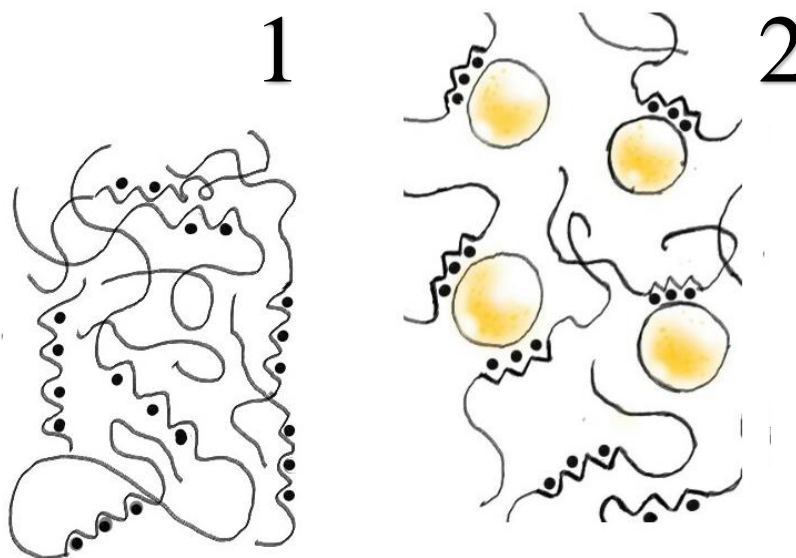
Fonte: Próprio autor

A T_g pode ser observada com uma certa dificuldade, apenas na amostra zero, e é imperceptível nas demais amostras. É provável que as regiões da cadeia polimérica do alginato com predominância de monômeros G (gulurônicos) estejam interagindo fisicamente com as nanopartículas, uma vez que essas regiões apresentam interações físicas com cátions de sódio.

Estas ligações reduzem o efeito da negatividade dos radicais OH^- dos monômeros G, resultando na incapacidade de repulsão promovida pelas nanopartículas de potencial negativo.

Ao mesmo tempo os monômeros G podem estar sofrendo efeito de atração devido ao deslocamento do reduzido campo elétrico dos íons de Na^+ , esse comportamento pode deixar o núcleo dos átomos de sódio mais próximos ao limite de sua eletrosfera do lado que não está interagindo com os radicais OH^- da cadeia de alginato, resultando na interação com as nanopartículas, como mostrado na figura 31.

Figura 31 - Representação das cadeias de alginato de sodio puro (1) e AS + nanoparticulas de prata (2).



Fonte: Próprio Autor

A possível interação da cadeia de alginato com as nanopartículas de prata, podem estar favorecendo a presença de regiões mais organizadas na matriz, e este fato justificaria a ausência de transição vítrea nas amostras CT10 e DAG12. Indício dessa interação são os resultados dos testes de propriedades mecânicas dos filmes, onde as amostras CT10 e DAG12, apresentaram uma tensão maior que a amostra Zero, e um alongamento menor.

Os eventos endotérmicos das amostras, observados na figura 30, estão descritos na tabela 7. Onde é possível notar com mais facilidade que os picos das amostras CT10 e DAG12 se deslocaram para a esquerda, em temperaturas discretamente mais baixas que da amostra de Zero.

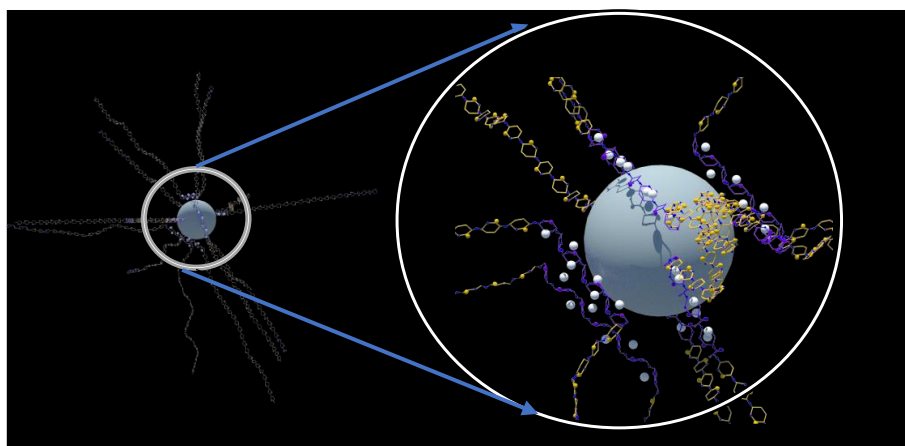
Tabela 7 – Valores de entalpia e temperatura dos eventos desidratação das amostras Zero, CT10 e DAG12.

Amostra	ΔH (J/g)	Pico (°C)
Zero	408,9	117,8
CT10	404,5	112,04
DAG12	337,8	110,91

Fonte: Próprio autor.

A menor estabilidade térmica das amostras CT10 e DAG12 em relação a amostra zero, se deve exclusivamente à presença de nanopartículas metálicas, as mesmas promovem o afastamento das cadeias semelhante ao efeito dos plastificantes, fazendo com que a energia se dissipe com maior facilidade no interior da matriz. Uma observação pertinente à diminuição das temperaturas de desidratação dos filmes, associada à presença de nanopartículas de prata na matriz, foi descrita por EGHBALIFAM et al.(2015), em seu trabalho⁵⁷. Outro fato observado é a diminuição da energia do fluxo de calor na amostra DAG12, onde ocorreu um leve estreitamento do pico endotérmico. Isto pode estar associado à presença de regiões mais organizadas na matriz, devido a interação das AgNP com as regiões de predominância de monômeros G das cadeias do alginato, como mostrado na figura 32.

Figura 32 - interação NP+ AS Na⁺.



Fonte: Próprio Autor

As amostras que continham sorbitol em sua estrutura apresentaram um pico endotérmico com variação de entalpia menor que das amostras sem sorbitol (Zero, CT10 e DAG12) conforme mostra a tabela 8.

Tabela 8 - Valores de entalpia de amostras que continham sorbitol.

Amostra	ΔH (J/g)
Zero S	252,2
CTS10	301,1
DAGS12	287,0

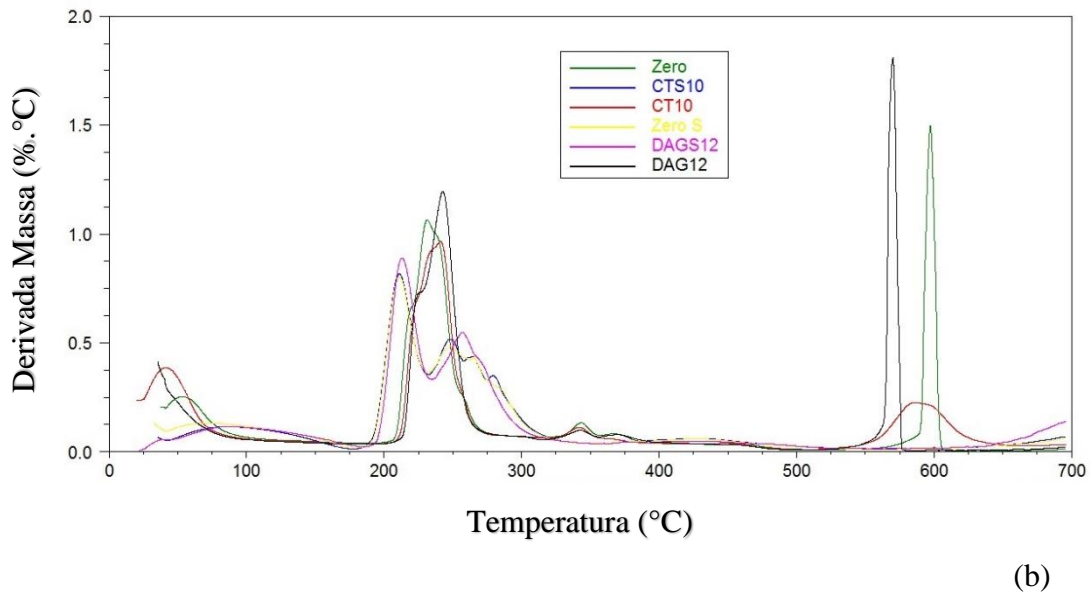
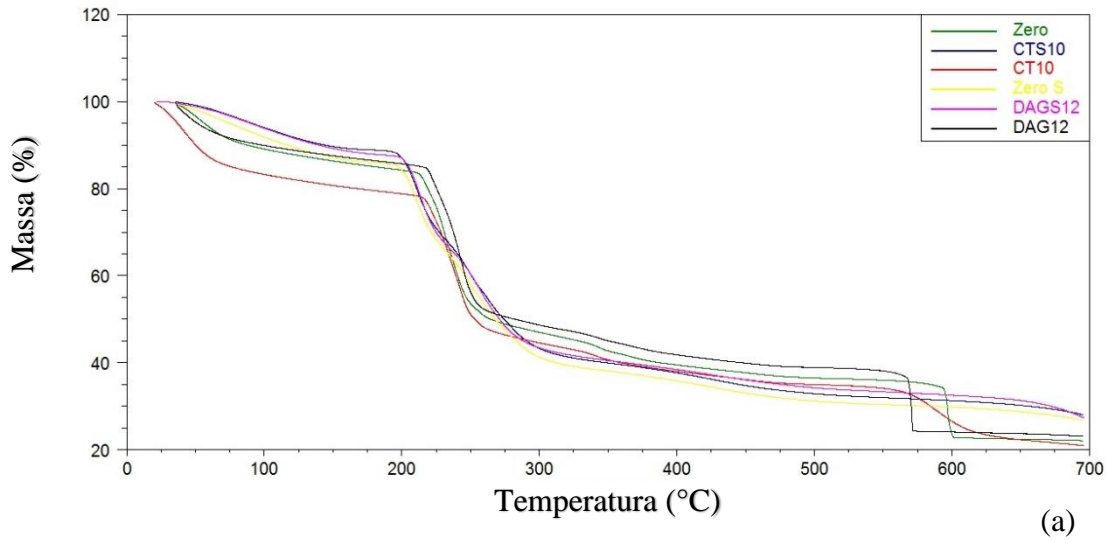
Fonte: Próprio autor

O efeito plastificante do sorbitol facilita a dissipação do calor ao longo da matriz, logo essa é a justificativa para o baixo fluxo de calor nas temperaturas de desidratação nas amostras que continham sorbitol. Este efeito já era esperado assim como a redução na tensão e aumento no alongamento constatados no teste de tração⁴⁶. Além disso a fusão do sorbitol puro ocorre próximo de 90° e sua degradação próximo a 120 °C. Com isso, pode ser que o pico endotérmico tenha uma área maior que das amostras sem sorbitol, e durante o desprendimento de moléculas de água, é possível que estejam sendo desprendidas moléculas de CO₂. Tal evento pode ser constatado nas análises termogravimétricas.

4.6 Termogravimetria (TG e DTG)

O comportamento da estrutura do material diante do aumento de temperatura é demonstrado na figura 33, onde são apresentadas as curvas de perda de massa (%) em função da temperatura (°C) TG e DTG respectivamente.

Figura 33 - Curvas de TG e DTG das amostras listadas.



Fonte: Próprio autor

A tabela 9 apresenta as principais etapas de perda de massa para todas as amostras, onde consta a temperatura Onset (T_i), a temperatura do pico de DTG associado ao evento ($T_{m\acute{a}x}$) e a temperatura final (T_f).

Tabela 9 – Temperaturas em °C associadas aos eventos das curvas de TG e DTG.

AMOSTRA	1° EVENTO			2° EVENTO			3° EVENTO			4° EVENTO		
	T_i (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	T_f (°C)	T_i (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	T_f (°C)	T_i (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	T_f (°C)	T_i (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	T_f (°C)
ZERO	22,8	42,0	98,2	212,3	241,2	273,6	322,5	342,4	354,3	526,3	587,2	613,2
ZERO S	43,0	95,8	180,3	185,6	211,4	340,4						
CT10	41,3	54,5	90,3	198,1	231,2	272,9	327,2	343,7	355,6	560,0	597,8	609,7
CTS10	44,6	95,0	176,3	180,7	211,4	341,0						
DAG12		50,1	74,4	200,8	241,8	278,2	320,6	343,7	392,0	533,6	570,0	577,3
DAGS12	47,5	96,5	185,5	183,0	213,4	345,7						

Fonte: Próprio autor

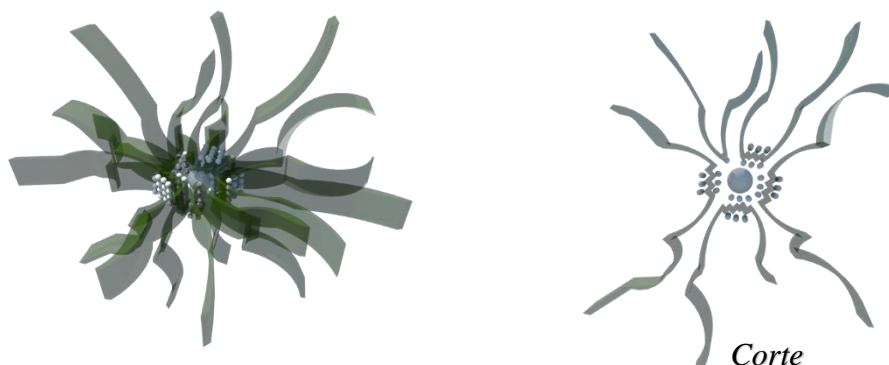
4.6.1. Primeiro evento TG/DTG

O primeiro evento ocorre em todas as amostras em temperaturas inferiores a 200 °C e pode estar associado à desidratação, onde ocorre a evaporação de moléculas de água que ficaram aprisionadas durante o processo de secagem dos filmes. Nas amostras Zero, CT10 e DAG12, ocorre entre 40 e 90 °C, com perdas entre 14 e 20% em massa. É importante destacar que a amostra que só continha AS (ZERO) tem a menor temperatura de início deste evento, próximo a 25 °C com pico próximo a 45 °C, e também possui a maior perda de massa registrada para as amostras na primeira etapa, 19,6%. A diferença observada na amostra ZERO pode estar associada à ausência de nanopartículas na matriz, embora o resultado seja inconclusivo, por falta de informação pertinente a amostra DAG12 que, necessitando de uma segunda análise, pode-se associar o resultado dos filmes ZERO aos filmes CT10 que tiveram uma redução na perda de massa e o evento se deslocou para temperaturas mais elevadas, como demonstrado na tabela 9.

Como dito anteriormente, a presença de nanopartículas metálicas com potencial zeta negativo na matriz do filme pode estar causando compactação em regiões da cadeia

polimérica que interagem com cátions Na^+ , formando uma estrutura semelhante a uma micela figura 34.

Figura 34 - Ilustração do modelo de interação da matriz de AS com NP.



Fonte: Próprio autor

A estrutura em forma de aranha justificaria o aumento da quantidade de poros em escala nanométrica. Em concordância com esse modelo, os resultados de WVP comprovam que as moléculas de água permeiam com mais facilidade pelos filmes que possuem nanopartículas metálicas, o que pode ser um indício da ocorrência desse tipo de estrutura. Além disso, devido à maior ocorrência de poros e à presença de regiões mais compactas na matriz, seria necessária mais energia para iniciar as transformações térmicas das cadeias poliméricas.

Nas amostras que continham sorbitol; Zero S, CTS10 e DAGS12, a desidratação teve início em uma faixa de temperatura entre 40 °C e 190 °C, e a perda de massa está entre 9 e 14%. As primeiras etapas de desidratação destes filmes podem estar ocorrendo de forma mais lenta devido à presença de sorbitol. Esse agente plastificante pode estar interagindo com moléculas de água durante as primeiras etapas de preparo do filme, realizando ligações de hidrogênio. Esta interação também justificaria a menor massa despreendida mesmo em temperaturas maiores.

4.6.2 Segundo evento TG/DTG

O segundo evento que ocorre em todos filmes em temperaturas entre 180 °C e 350 °C, pode estar associado à degradação da cadeia polimérica do alginato de sódio. No entanto, ocorre em uma etapa rápida nos filmes ZERO, CT10 e DAG12, além de apresentar indícios de sobreposição de picos. Nas amostras de filmes que continham sorbitol (ZERO.S, CTS10 e DAGS12), este evento ocorreu em duas etapas sobrepostas. Além disso, ocorrem de forma mais lenta em uma faixa de temperatura maior que nos demais filmes, assim pode-se concluir que a estabilidade térmica aumentou, embora as temperaturas iniciais sejam abaixo das demais amostras, os picos e temperaturas finais são mais elevadas. É importante destacar que nas amostras de filmes que continham nanopartículas metálicas (CT10 e DAG12) a etapa de degradação ocorreu de forma mais lenta que na amostra ZERO. O fato da degradação das cadeias do alginato ocorrerem em temperaturas mais elevadas e de forma mais lenta pode ser mais um indício da ocorrência da estrutura em forma de aranha, como justificado anteriormente.

4.6.3 Terceiro evento TG/DTG

O terceiro evento ocorre de forma bem discreta, lenta e em temperaturas bem elevadas, A este evento estão associadas as menores perdas de massa, e nas amostras que não continham sorbitol ocorrem em duas etapas uma lenta e uma mais longa. É provável que este evento esteja associado à degradação de subprodutos resultantes da degradação principal (segundo evento).

4.6.4. Quarto evento TG/DTG

O último evento pode ser atribuído a formação de carbonato de sódio (Na_2CO_3). Nas amostras contendo nanopartículas metálicas este evento ocorre mais rápido, isso pode ser associado ao afastamento dos planos poliméricos, que é resultado da interação física entre as nanopartículas metálicas e a matriz de alginato, tal efeito pode induzir a formação de poros ao longo da matriz e facilitar a dissipação de calor.

Há indícios de que as amostras com sorbitol tiveram os picos do quarto evento deslocados para temperaturas mais elevadas, superando os limites do termograma, que, no nosso trabalho foi até 700 °C.

4.7 Atividade antibacteriana

Após o período de incubação, uma análise visual foi realizada a fim de identificar quais amostras apresentavam halos de inibição (HIN). Como os filmes são higroscópicos, eles se dissolveram completamente no substrato, então, o que foi observado ao final do teste não eram halos, e sim áreas. Desta forma para realizar os cálculos, foi considerado o diâmetro de 6 mm da amostra inicial (equação 1), para se comparar com a áreas de inibição (AIN) do final do teste. As áreas que eram em formato de elipsoide (equação 2), como mostrado na figura 28, amostras de 5 a 8, foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital.

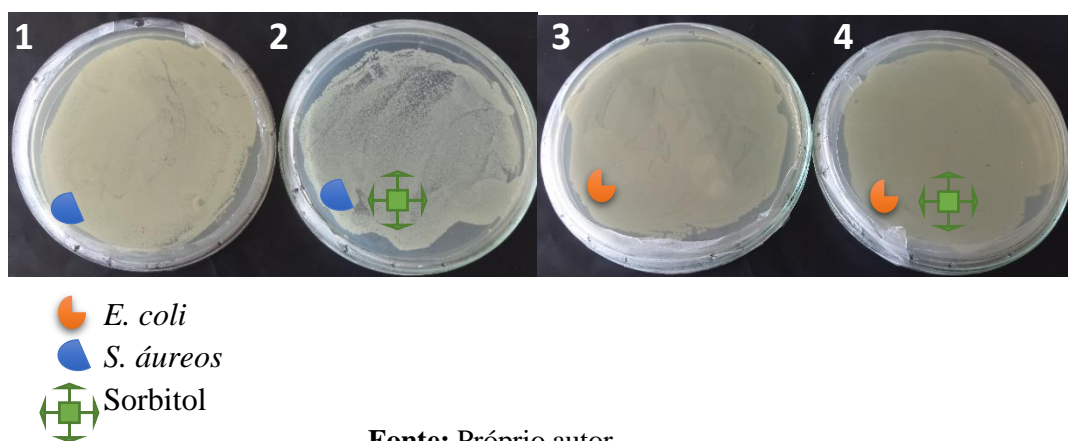
$$A^2 = \pi \cdot r^2 \quad (1)$$

$$E^2 = \pi \cdot (D_2) \times (D_1) \quad (2)$$

Onde D_1 é o diâmetro menor e D_2 é o diâmetro maior.

Conforme pode-se observar com clareza na figura 35, os filmes das placas 1, 2, 3 e 4 não apresentaram halos de inibição, portanto não exerceram atividades contra as colônias. A sequência numérica de placas de 1 a 4 continha amostras de filmes compostos apenas por AS e AS + sorbitol.

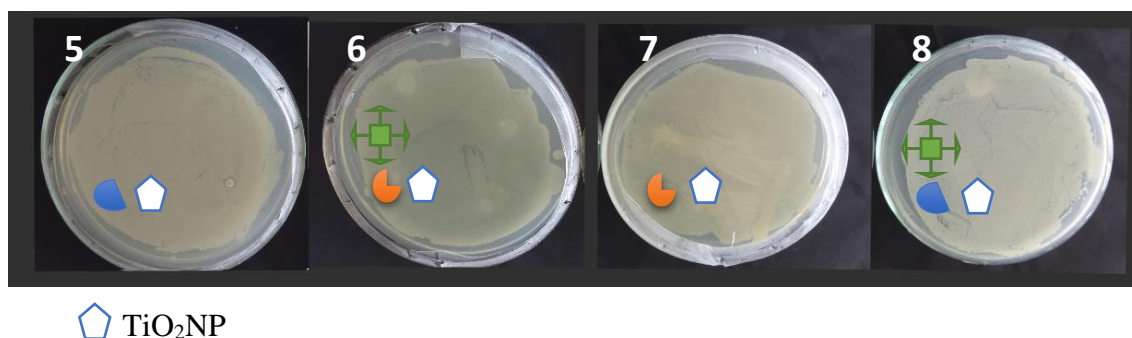
Figura 35 – placas contendo amostras de filmes da série ZERO, em culturas de *E.coli* e *S. aureos*



Fonte: Próprio autor

As amostras da série C que continham TiNE, não apresentaram halos de inibição conforme pode-se observar na figura 36.

Figura 36 - Placas com amostras de filmes da série C



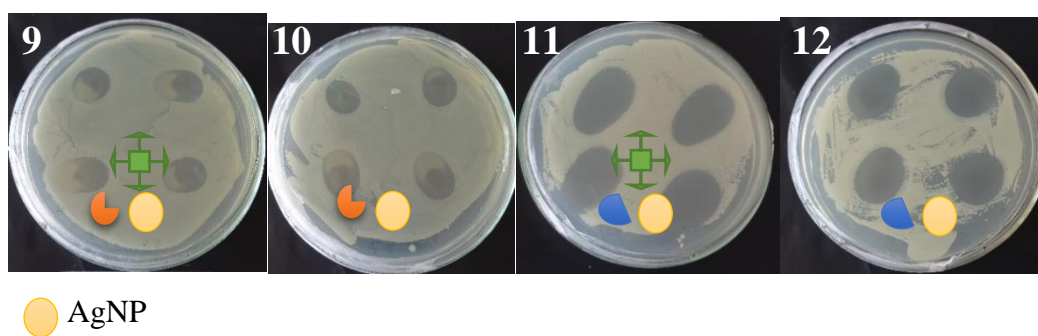
Fonte: Próprio autor

O dióxido de titânio na forma anatase é um agente que apresenta atividade fotocatalítica, e uma das funcionalidades da fotocatalise é inibir a atividade de algumas bactérias como descrito por Montanhera 2017⁵⁸. O que pode ter ocorrido nas amostras da série C, deve estar relacionado com a forma como foi realizado o teste, mais especificamente o período de incubação, que é realizado ao abrigo de luz. O dióxido de titânio anatase absorve luz UV para que o elétron da banda de valência salte para a banda de condução. Não ocorrendo a emissão de radiação UV, as nanopartículas de dióxido de

titânio presentes na matriz não apresentaram atividade fotocatalítica. Sendo assim, todas as amostras enumeradas de 5 a 8 não apresentaram halos de inibição.

Em contraste todos os filmes da série D, das placas numeradas de 9 a 12 apresentaram halos de inibição. Isso comprova a influência das nanopartículas de prata contra a atividade das bactérias *E. coli* e *S. aureus* mesmo sob o abrigo de luz, ou na ausência de emissão de fontes de radiação (figura 37).

Figura 37 – Placas que contem amostras dos filmes da serie D, em colônias de *E. coli* e *S. áureos*.



Fonte: Próprio autor

Além disso os filmes das placas 9 e 11 continham também sorbitol como agente plastificante. Estas amostras demonstraram uma atividade um pouco maior de ataque das AgNP contra as bactérias, conforme demonstrado na Tabela 10. Isto talvez esteja associado ao fato de o sorbitol interagir com os radicais hidrofílicos dos monômeros G e M, promovendo o afastamento das cadeias da matriz polimérica, aumentando a superfície de contato das nanopartículas com o substrato, ou facilitando a migração das AgNP para o meio, conforme descrito por PIRES e MOURA²².

Tabela 10 -Informações referentes as amostras das Figuras 35, 35 e 36, e resultados das medias de área de inibição dos filmes.

Placas	Conteúdo do filme	Amostra	Cultura	Área do halo (mm ²)	Desvio Padrão
1	AS	Zero	<i>S. aureus</i>	0,000	±0,000
2	AS + Sorbitol	Zero S	<i>S. aureus</i>	0,000	±0,000
3	AS	Zero	<i>E. coli</i>	0,000	±0,000
4	AS + Sorbitol	Zero S	<i>E. coli</i>	0,000	±0,000
5	AS + TiNE	CTS10	<i>S. aureus</i>	0,000	±0,000
6	AS + Sorbitol + TiNE	CTS10	<i>E. coli</i>	0,000	±0,000
7	AS + TiNE	CT10	<i>E. coli</i>	0,000	±0,000
8	AS + Sorbitol + TiNE	CT10	<i>S. aureus</i>	0,000	±0,000
9	AS + Sorbitol + AgNP	DAGS12	<i>E. coli</i>	793,286	±79,8603
10	AS + AgNP	DAG12	<i>E. coli</i>	754,629	±82,2229
11	AS + Sorbitol + AgNP	DAGS12	<i>S. aureus</i>	1709,81	±70,8888
12	AS + AgNP	DAG12	<i>S. aureus</i>	1260,81	±99,839

Fonte: Próprio autor

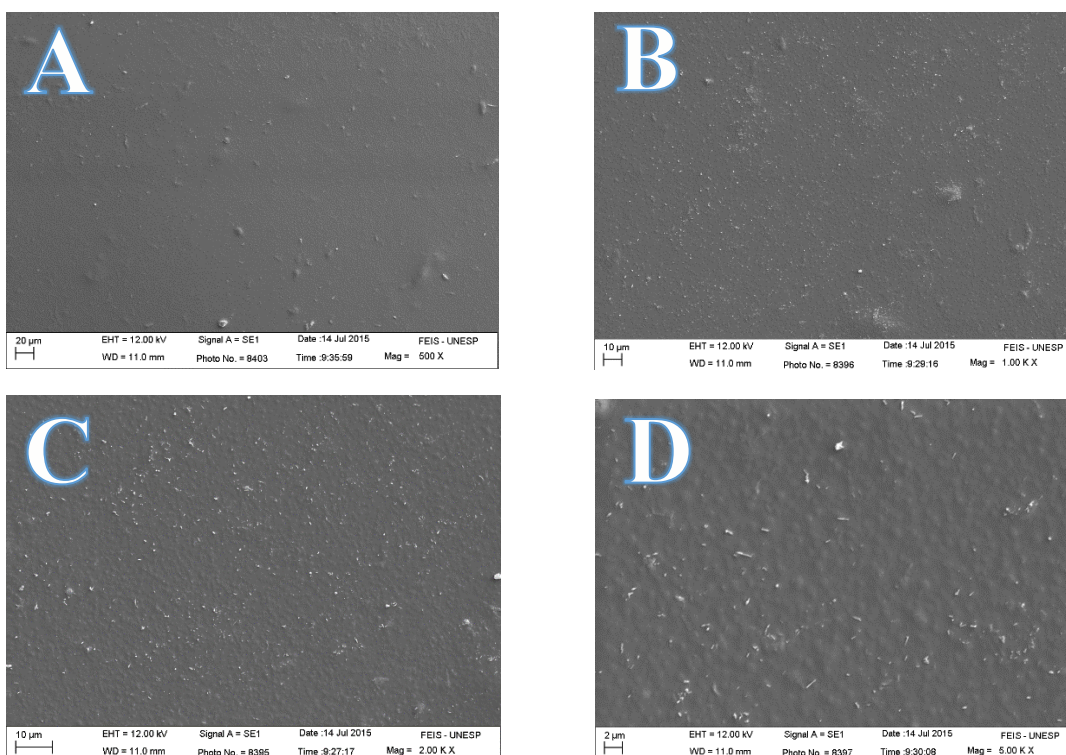
É possível observar também que as placas 11 e 12, apresentam halos maiores. Isto se deve ao fato de o substrato destas placas conterem colônias de bactérias *S. aureus*, que ao contrário da *E. coli*, é uma bactéria gram-positiva, ou seja, ela possui uma parede celular menos espessa. Uma vez que as AgNP agem na membrana celular, conforme descrito por J. Yan³², este fator certamente amplifica a ação das AgNP.

4.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Devido à fragilidade das amostras dos filmes de alginato de sódio, não foi possível a realização das análises em ampliações maiores que 5000 X.

A figura 38 apresenta as micrografias dos filmes da série ZERO, que são constituídos apenas de AS e água. Nas proporções de 3% m/m, os filmes da série ZERO são bases para comparação para as demais séries, que contém também nanopartículas metálicas e sorbitol, inseridos na matriz de AS.

Figura 38- Microscopia das amostras serie ZERO, A 500X, B 1.00KX, C 2.00KX e D 5.00KX

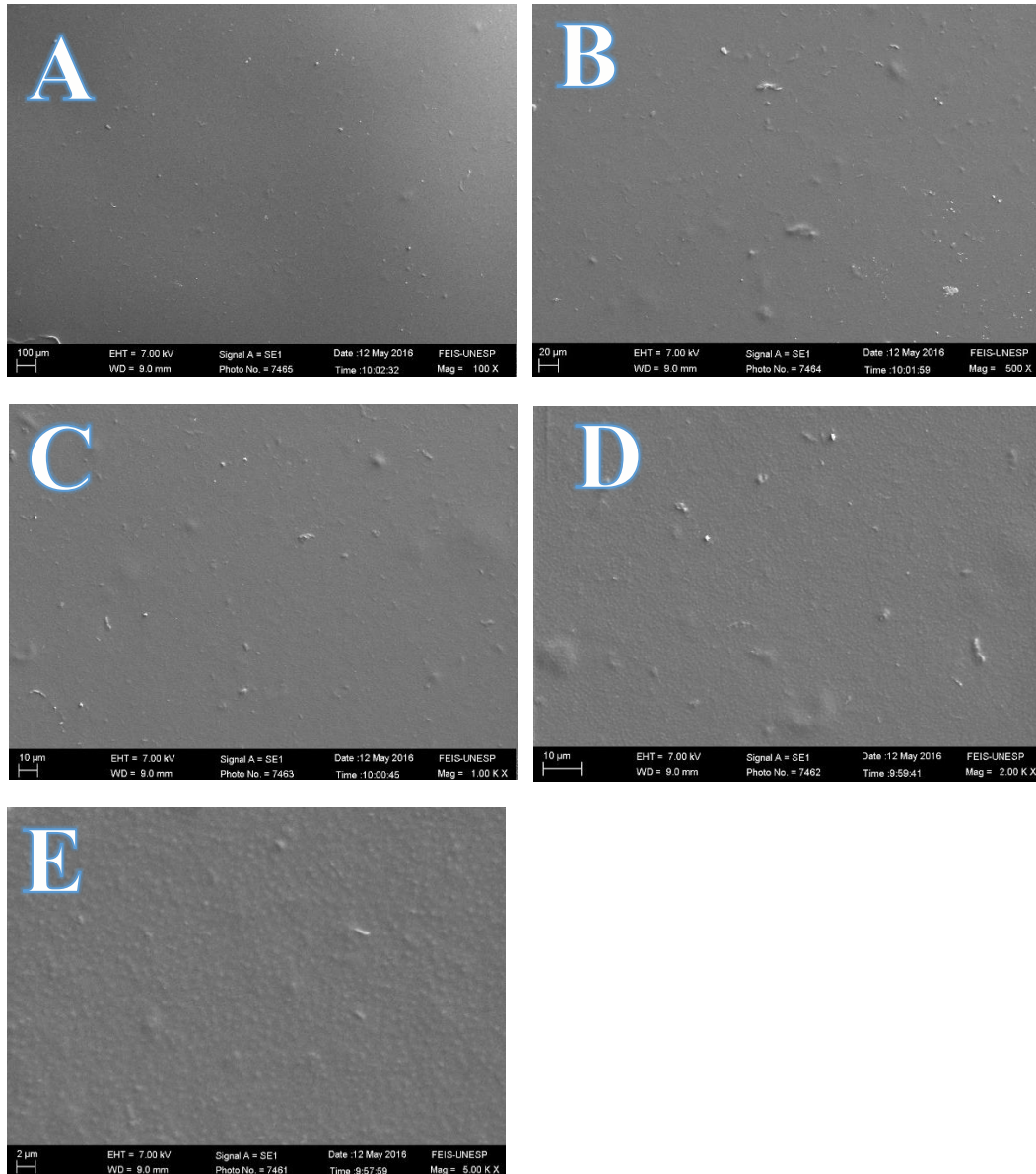


Fonte: Próprio autor.

A figura 39 apresenta as microscopias dos filmes da série ZERO.S que apresentam sorbitol, além da formulação base de alginato e água. Através das micrografias de 2.00 KX e de 5.00 KX é possível notar que não há uma diferença visual significativa nas superfícies das amostras ZERO e ZERO.S. Contudo, é importante ressaltar que ocorreu diferença nas espessuras conforme constatado anteriormente no capítulo 4.2 deste trabalho. Já que não existe uma mudança visível na superfície, é

possível que o sorbitol esteja totalmente disperso na matriz, formando uma matriz contínua e homogênea .

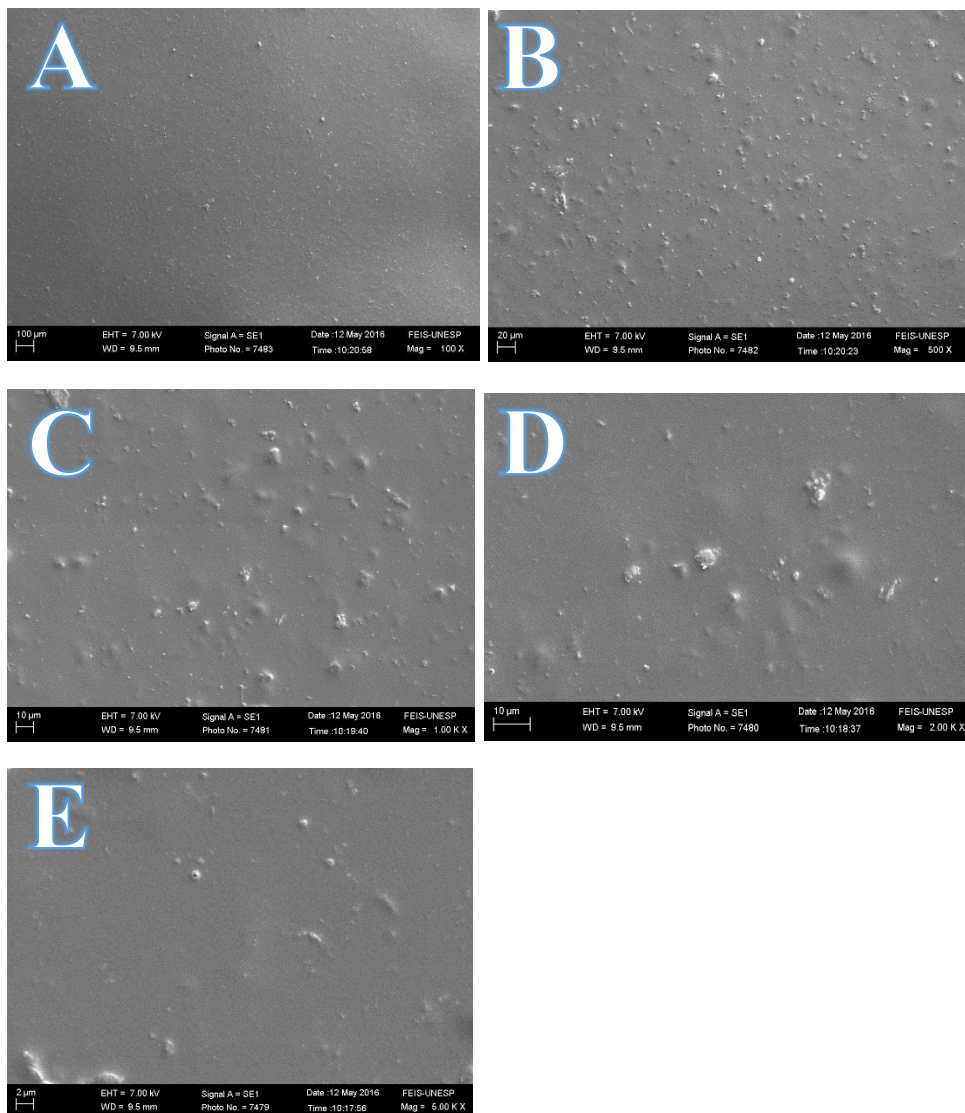
Figura 39 - Micrografias das amostras da série ZERO.S, A 100X, B 500X e C 1.00KX, D 2.00KX e 5.00KX.



Fonte: Próprio autor.

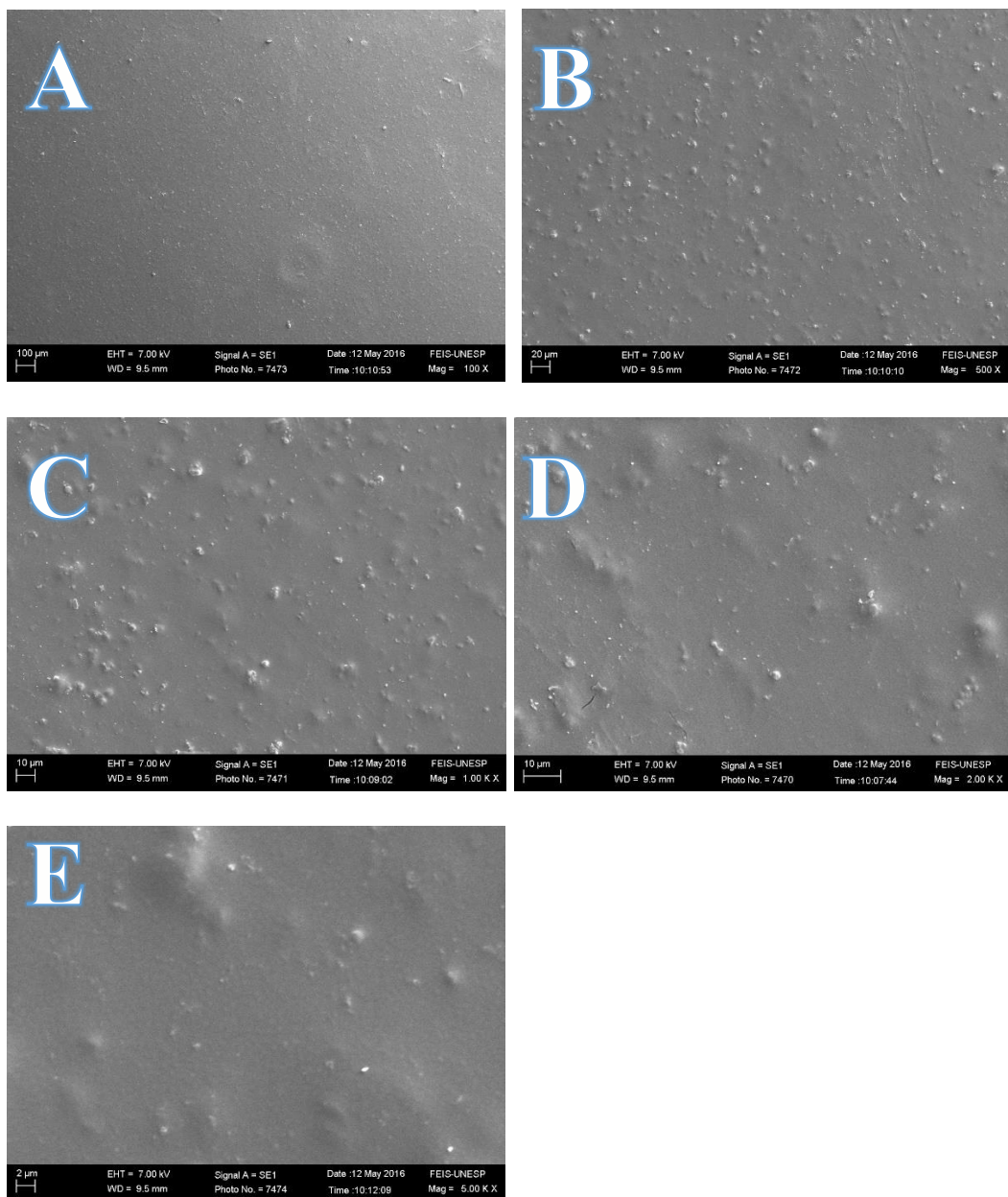
As figuras de 40 a 43 apresentam as micrografias das amostras CT10, CTS10, DAG12 e DAGS12 respectivamente.

Figura 40 - Micrografias dos filmes da série CT10, A 100X, B 500X , C 1.00KX, D 2.00KX e E 5.00KX



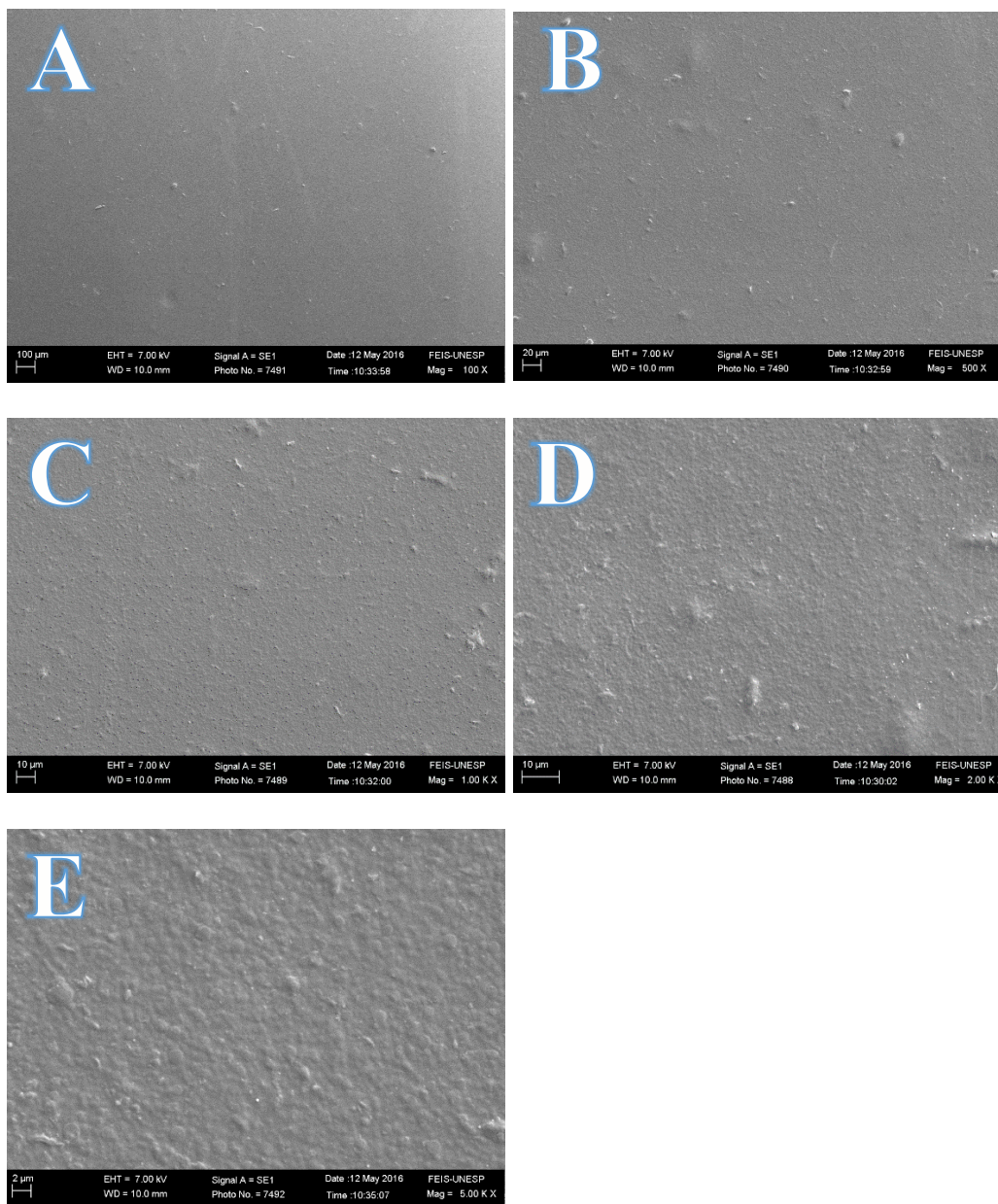
Fonte: Próprio autor.

Figura 41 - Micrografias de 100X, 500X, 1.00KX, 2.00KX e 5.00KX, da amostra CTS10.



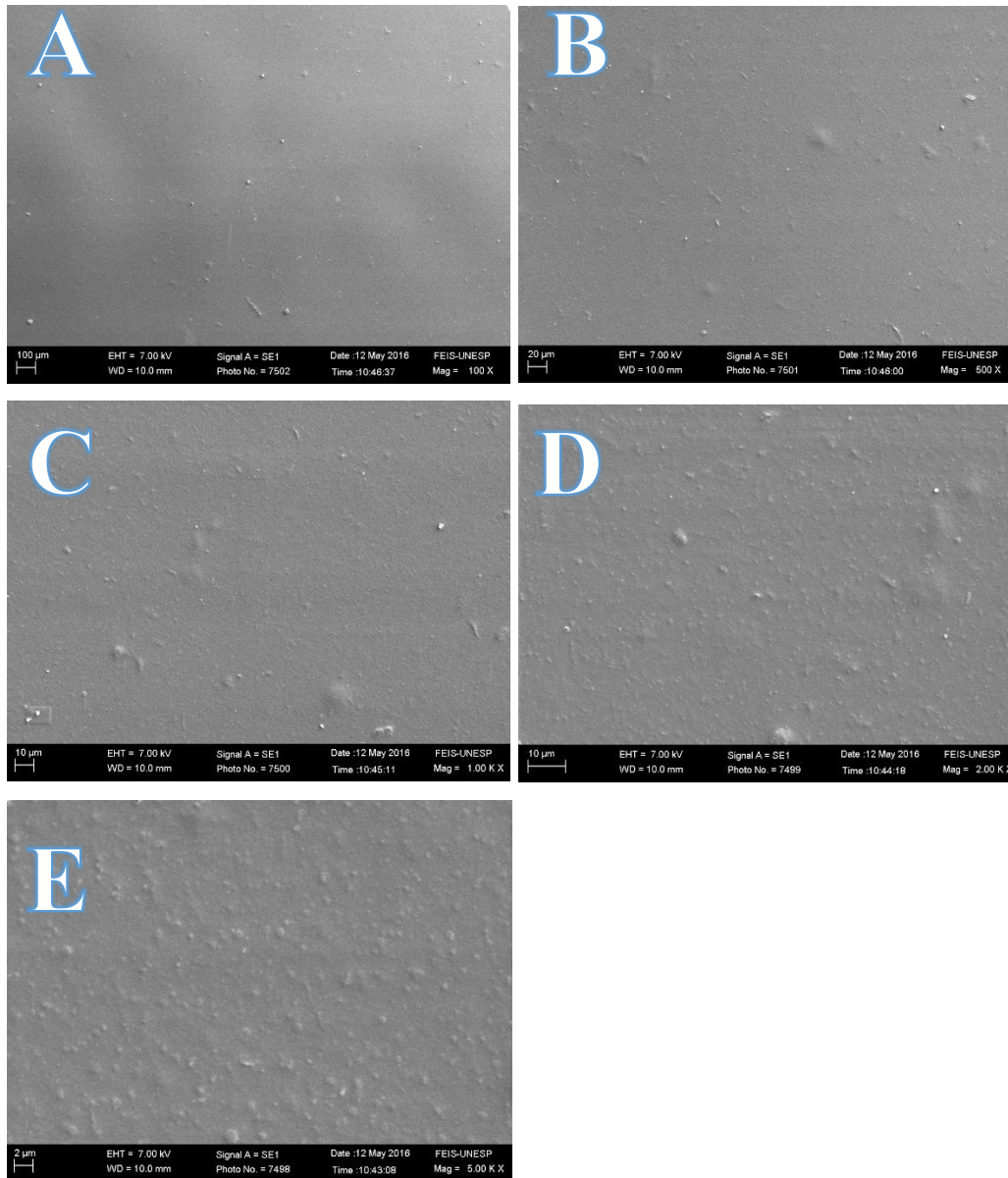
Fonte: Próprio autor.

Figura 42 - Micrografias 100X, 500X, 1.00KX, 2.00KX e 5.00KX, da amostra DAG12.



Fonte: Próprio autor

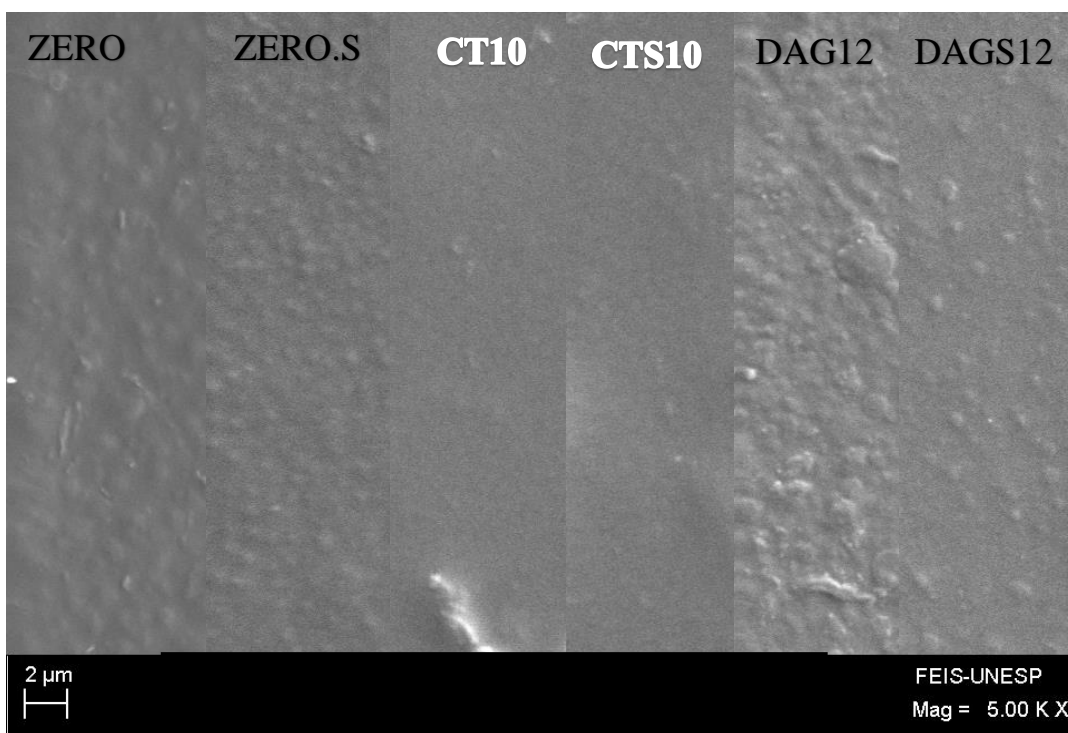
Figura 43 - Micrografias de 100X, 500X, 1.00KX, 2.00KX e 5.00KX da amostra DAGS12.



Fonte: Próprio autor

Observa-se a partir da figura 44 uma redução na rugosidade da amostra CT10 e CTS10 em relação às amostras ZERO e ZERO.S, assim como um aumento na rugosidade das amostras DAG12 e DAGS12 quando comparadas as respectivas amostras ZERO. É possível observar também um aumento nos tamanhos dos grânulos nas amostras da série DAG12 em comparação com os filmes da série ZERO.

Figura 44 - Comparação entre as micrografias de 5.00 KX das amostras ZERO, ZERO.S,CT10, CTS10, DAG12 e DAGS12.

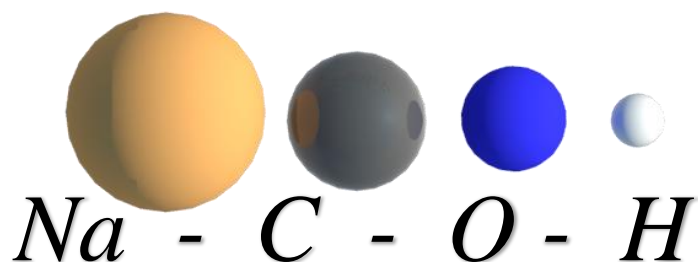


Fonte: Próprio autor

Com relação à variação na rugosidade da superfície dos filmes, é difícil afirmar que estejam relacionadas à presença ou não das nanopartículas. Pois este efeito é observado também nos filmes da série ZERO que não continham nanopartículas. Dessa forma, os grânulos ou protuberâncias podem indicar as regiões da matriz polimérica de AS que tem predominância de monômeros G. Assim, a presença de cátions de sódio nessas regiões poderia causar um aumento de volume. A figura 45 apresenta uma representação da comparação de tamanho entre os átomos que compõem a estrutura

química do AS. Já o aumento na rugosidade nas amostras da série DAG12, pode estar associado a regiões com presença de nanopartículas aglomeradas em volumes que podem variar entre 10 e 20 nanopartículas, considerando as medidas realizadas.

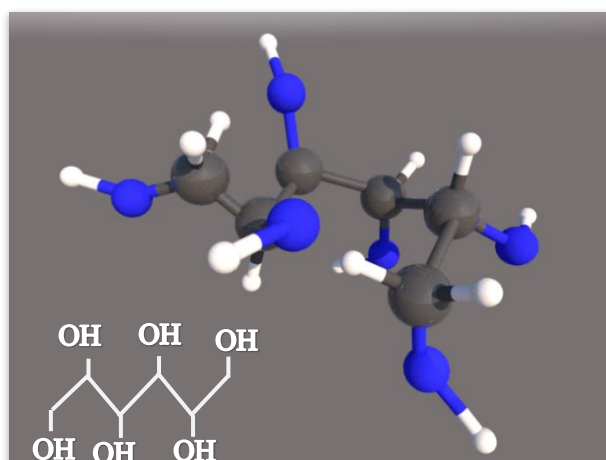
Figura 45 - Representação dos tamanhos dos átomos da estrutura química do alginato de sódio (AS)



Fonte: Próprio autor

Um outro fator importante, com relação às imagens de MEV observadas é que em todos os filmes onde foi inserido sorbitol (ZERO.S, CTS10 e DAGS12) ocorreu uma redução na rugosidade. Isso pode estar ocorrendo devido às moléculas de sorbitol (figura 46) possuírem um número elevado de grupos hidroxila (OH). Logo, os cátions de Na⁺ podem estar interagindo preferencialmente com os grupos OH da molécula de sorbitol, resultando em uma dispersão maior desses na matriz. Podendo, portanto, suavizar a superfície do filme.

Figura 46 – Representação da molécula de sorbitol

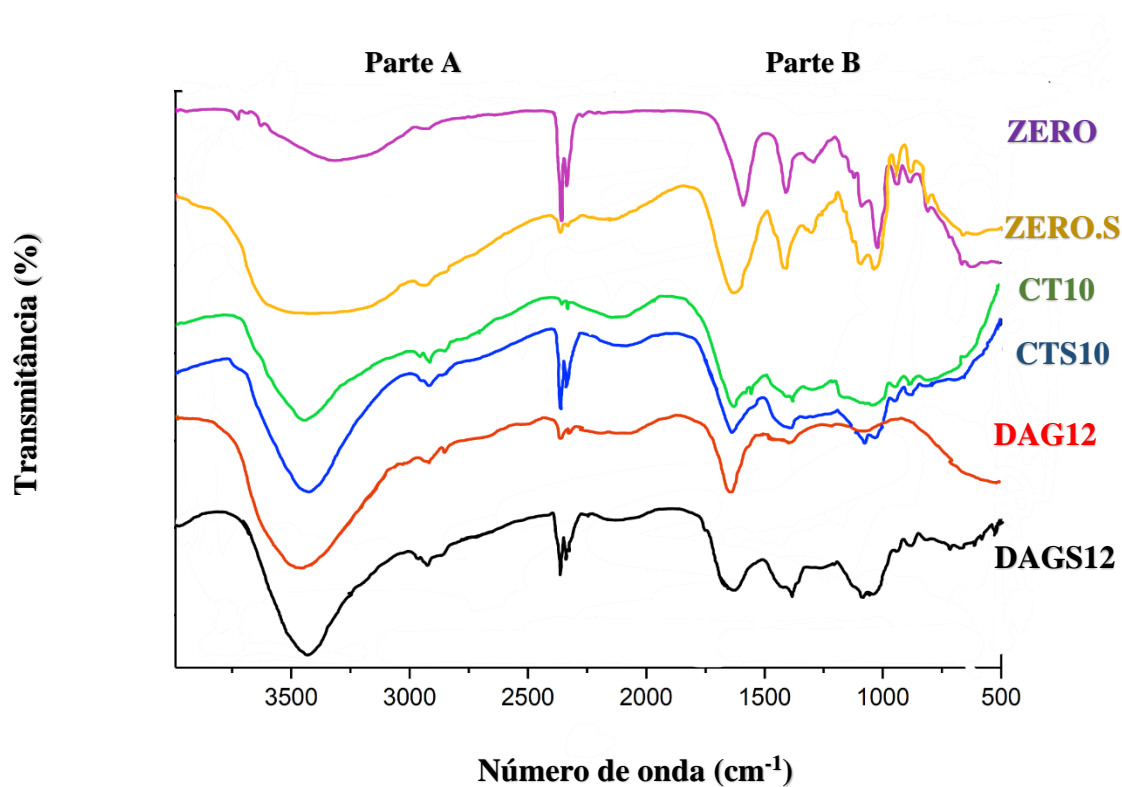


Fonte: Próprio autor

4.9 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

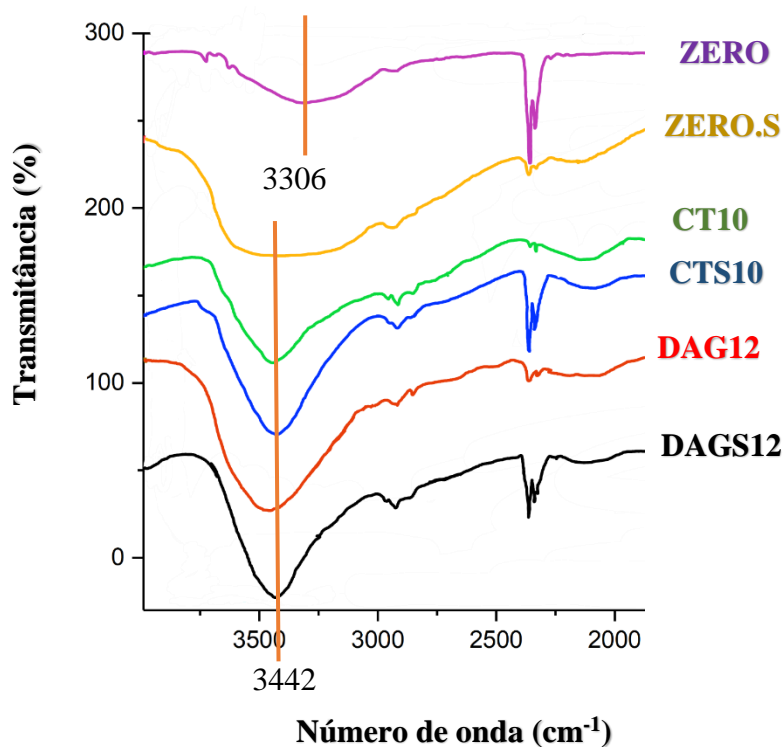
A Figura 47 mostra os espectros de FTIR para todas as amostras de filmes desenvolvidas neste trabalho. Para facilitar a interpretação dos resultados, tal figura foi dividida em parte A e parte B, e posteriormente apresentada como figura 48 e 49.

Figura 47- Espectros de FTIR para as amostras de filmes de alginato de sódio e alginato de sódio e nanopartículas metálicas.



Fonte: Próprio autor

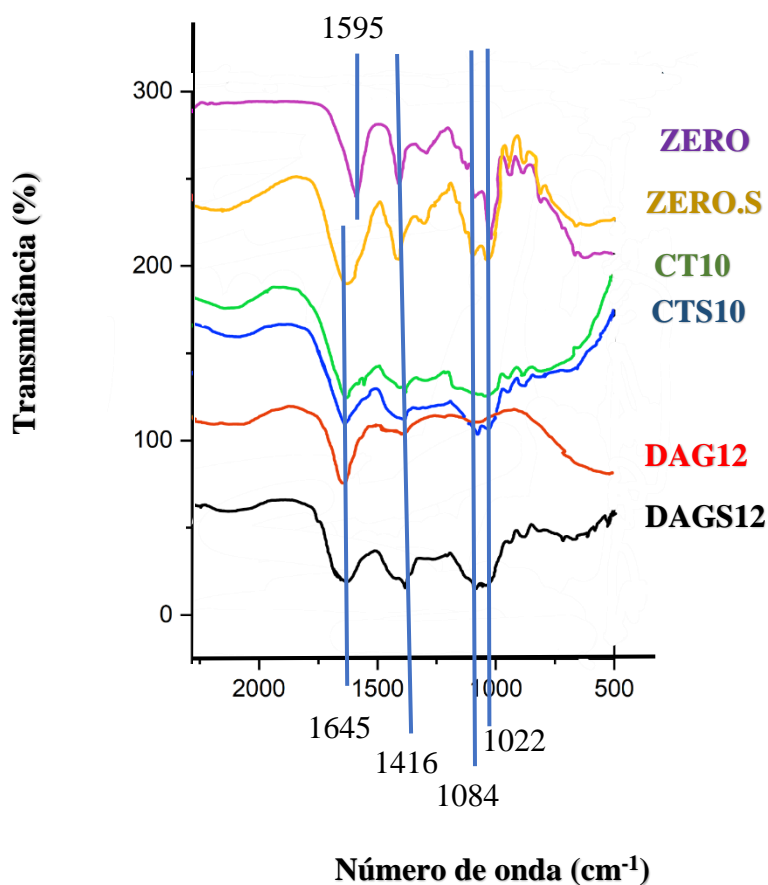
Figura 48 – Parte A do espectro de FTIR dos filmes de AS para análise das bandas 4000 cm^{-1} até 2500 cm^{-1}



Fonte: Próprio autor

A banda espectroscópica observada em 3442 cm^{-1} é atribuída à hidroxila (OH^-) na estrutura das moléculas de AS. Na amostra ZERO, essa banda está em números de onda menores, aproximadamente 3306 cm^{-1} . O deslocamento das bandas correspondentes as hidroxilas, talvez esteja associado a interações com as nanopartículas de TiO_2 , no caso dos filmes CT10 e CTS10, e nanopartículas de prata nos filmes DAG12 e DAGS12. No filme ZERO.S o alargamento da banda pode estar associado a interação das hidroxilas da matriz de alginato com as hidroxilas das moléculas de sorbitol.

Figura 49 – Parte B do espectro de FTIR dos filmes de alginato para análise das bandas de 2500 cm^{-1} até 500 cm^{-1} .



Fonte: Próprio autor

A figura 49 indica que o pico em 1595 cm^{-1} , correspondendo à vibração de alongamento simétrico COO^- na amostra ZERO, sofre grande deslocamento para aproximadamente 1645 cm^{-1} nas demais amostras. O pico em 1416 cm^{-1} está relacionado a vibração assimétrica COO^- . As bandas em 1084 cm^{-1} e em 1023 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento de C-O-C das unidades manurônico e gulurônico, respectivamente. Como descrito no trabalho de Sellimi et al. (2015)⁵⁹, a razão da intensidade entre essas duas bandas pode fornecer uma relação entre as quantidades dos monômeros M/G. Alginatos com baixa relação M / G (<1) possuem um número de blocos de monômeros G mais elevado do que os blocos M, formando filmes mais resistentes à tração; enquanto a alta relação M / G (> 1) está relacionada a valores baixos de blocos de monômeros G, produzindo filmes menos resistentes à tração com maior deformação.

Pode-se observar, ainda a diminuição da intensidade da banda em 1023 cm^{-1} e intensificação de banda em 1084 cm^{-1} do filme ZERO, se comparado aos demais filmes. Isso indica que os possíveis pontos de interação das nanopartículas e sorbitol ocorrem preferencialmente nas unidades gulurônicas. Ainda, o deslocamento dos picos espectroscópicos para números de ondas maiores nas amostras ZERO.S, CT10, CTS10, DAG12 e DAGS12, em relação à amostra ZERO, pode ser associado à interação da matriz de alginato de sódio com moléculas de sorbitol e nanopartículas metálicas.

CONCLUSÃO

Ao fim da aplicação das técnicas, e a cada etapa de análise dos dados do material, o modelo de interação NP metálica-matriz (forma de aranha), foi ganhando resolução. A construção deste modelo foi se tornando a peça fundamental para justificar os eventos sofridos pela estrutura do material diante das condições impostas por cada procedimento de caracterização.

O principal objetivo do trabalho era apresentar os efeitos da inserção de nanopartículas metálicas e sorbitol na matriz dos filmes. Todos os filmes contendo NPs metálicas apresentam uma melhor resistência à tração em relação aos filmes de referência. Além disso, apresentam melhores propriedades de barreira, de acordo com o esperado para um material para uso como curativo, atingindo um dos objetivos do trabalho no quesito propriedades mecânicas e de barreira.

Com relação a propriedades adicionais, o trabalho teve o objetivo de criar um material que não apenas seja capaz de substituir um curativo convencional, mas que também tenha funcionalidade. Os testes microbiológicos apresentaram a capacidade que os filmes DAG12 e DAGS12 têm de inibir a atividade das bactérias *E. coli* e *S. aureus*, semelhante ao efeito da sulfadiazina de prata. Desta forma, estes filmes são materiais com potencial para aplicação no tratamento de lesões decorrentes de queimaduras.

Os filmes foram facilmente preparados, não apresentando quaisquer dificuldades nas etapas de confecção. As microscopias de todos os filmes proporcionaram visualizar as superfícies, onde foi possível constatar que não ocorreu uma mudança significativa na morfologia da superfície dos filmes. Quanto à manuseabilidade, não foram constatados pontos negativos. É de certa relevância ressaltar que os filmes que continham AgNP e TiNE, além de espessuras maiores, apresentavam coloração característica. Desta forma deve-se considerar a aplicação de técnica UV-vis em trabalhos futuros, uma vez que a luz visível tem impacto no tratamento de algumas lesões e pode ativar a ação fotocatalítica do TiO₂ presente nos filmes CT10 e CTS10.

Ao término do trabalho, o material se mostrou um substituto promissor para as ataduras ou gazes usadas como curativos, uma vez que testes biológicos mostraram a eficiência do material.

REFERÊNCIA

-
- ¹ **DAI, Jianlong; DONG, Hezhong.** Intensive cotton farming technologies in China: Achievements, challenges and countermeasures. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 155, p.99-110, jan. 2014
- ² **Guimarães, Marcio Cesar.** Feridas e curativos: uma forma simples e prática de tratar. Rio de Janeiro. Editora Rubio, 2011.
- ³ **Elbadawy A. Kamoun, El-Refaie S. Kenawy, Xin Chen.** A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings Review Article. *Journal of Advanced Research*, Volume 8, Issue 3, May 2017, Pages 217-233.
- ⁴ **PEREIRA, Ângela Lima; BACHION, Maria Márcia.** Tratamento de feridas: análise da produção científica publicada na Revista Brasileira de Enfermagem de 1970-2003. **Rev. bras. enferm.**, Brasília , v. 58, n. 2, p. 208-213, Apr. 2005.
- ⁵ **EL-FEKY, Gina S. et al.** Using chitosan nanoparticles as drug carriers for the development of a silver sulfadiazine wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 158, p.11-19, fev. 2017.
- ⁶ **TURRER, Clarissa Leite; FERREIRA, Felipe Pacheco Martins.** Biomateriais em Cirurgia Craniomaxilofacial: princípios básicos e aplicações - revisão de literatura. **Rev. Bras. Cir. Plást**, Belo Horizonte, Mg., v. 23, n. 3, p.234-239, fev. 2008. Disponível em: <<http://www.rbcp.org.br/details/419/pt-BR>>. Acesso em: 24 ago. 2017.
- ⁷ **DREWNOWSKA, O. et al.** Chitosan – a promising biomaterial in veterinary medicine. **Polish Journal Of Veterinary Sciences**, [s.l.], v. 16, n. 4, p.843-848, 1 jan. 2013.
- ⁸ **CALLISTER, William D.; RETHWISCH, David G.** **Ciência e Engenharia de Materiais: Materiais Avançados.** 8. ed. Rio de Janeiro: Gen, 2012. 10 p. Tradução de: *Materials science and engineering: an introduction*, 8th ed.
- ⁹ **PIRES, Ana Luiza R.; BIERHALZ, Andréa C. K.; MORAES, Ângela M.** BIOMATERIAIS: TIPOS, APLICAÇÕES E MERCADO. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 38, n. 7, p. 957-971, Aug. 2015.
- ¹⁰ **PESQUISA FAPESP: Próteses de mamona.** São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (fapesp), n. 91, set. 2003. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/quem-somos/>>. Acesso em: 23 ago. 2017.
- ¹¹ **HAN, J. H.** Antimicrobial food packaging. *Food Technology Chicago*, v.54, n. 1, 56-65p. 2000.

-
- ¹² **LANDIM, ANA PAULA.** Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. Departamento de Tecnologia de Alimentos – DTA, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Seropédica, RJ, Brasil, 2015.
- ¹³ **LOREVICE, Marcos V.; MOURA, Marcia R. de; MATTOSO, Luiz H. C..** NANOCOMPOSITE OF PAPAYA PUREE AND CHITOSAN NANOPARTICLES FOR APPLICATION IN PACKAGING. *Química Nova*, p.931-936, 2014.
- ¹⁴ **B. Thu, O. Smidsrød, G. Skjåk-Bræk.** Alginate gels some structure-function correlations relevant to their use as immobilization matrix for cells. R.H. Wijffels, R.M. Buitelaar, C. Bucke, J. Tramper (Eds.), *Progress in biotechnology*, Elsevier (1996).
- ¹⁵ **MULLER, José Miguel; SANTOS, Renata Lopes dos; BRIGIDO, Riveli Vieira.** Produção de alginato por microrganismos. *Polímeros*, São Carlos, v. 21, n. 4, p. 305-310, 2011.
- ¹⁶ **GACESA, Peter.** Alginates. *Carbohydrate Polymers*, [s.l.], v. 8, n. 3, p.161-182, jan. 1988.
- ¹⁷ **ST Moe, KI Draget, G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrød.** Alginato Stephen (Ed.), *Food polysaccharides and their applications*, Marcel Dekker, Nova Iorque, pp. 245-286, 1995.
- ¹⁸ **ERTESVÁG, H., VALLA, S.** Biosynthesis and applications of alginates, *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 85-91, 1998.
- ¹⁹ **KAWAGUTI, Haroldo Yukio; SATO, Hélia Harumi.** Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana. *Química Nova*, [s.l.], v. 31, n. 1, p.134-143, 2008.
- ²⁰ **Atkins, E. D. T., Niedusynski, I. A., Mackie, W., Parker, D. K. & Smolko, E. E.**(1973). *Biopolymers*, 12, 1879.
- ²¹ **TURBIANI, Franciele Rezende Barbosa; KIECKBUSCH, Theo Guenter.** Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio. *Brazilian Journal Of Food Technology*, [s.l.], v. 14, n. 02, p.82-90, 10 maio 2011.
- ²² **ZHU, Yanbing et al.** Characterization of an extracellular biofunctional alginate lyase from marine *Microbulbifer* sp. ALW1 and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates. *Microbiological Research*, v. 182, p.49-58, jan. 2016.
- ²³ **J. Preiss, G. Ashwell.** *J Biol Chem*, 237 (1962), págs. 309-316
- ²⁴ **H.K. Holme, L. Davidsen, A. Kristiansen, O. Smidsrod.** *Kinetics and mechanisms of depolymerization of alginate and chitosan in aqueous solution.* *Carbohydr. Polym*, 73, pp. 656–664, 2008.
- ²⁵ **GUPTA, V., JHA, B., KUMARI, P., KUMAR, M., REDDY, C. R. K., PRASAD, K., SINGH R. P.** Purification and partial characterization of an extracellular alginate lyase from *Aspergillus oryzae* isolated from brown seaweed. *J Appl Phycol.*v.23,

p.755–762., 2011.

²⁶ **PIRES, Viviane; MOURA, Márcia.** Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial. **Química Nova**, p.1-5, 20 jul. 2016.

²⁷ **A THOMAS,.** Alginates from wound dressings activate human macrophages to secrete tumour necrosis factor- α . **Biomaterials**, v. 21, n. 17, p.1797-1802, set. 2000.

²⁸ **PASSE, E.r. Garnett; BLAINE, George.** ALGINATES IN ENDAURAL WOUND DRESSING. **The Lancet**, v. 252, n. 6530, p.651-651, out. 1948.

²⁹ **CHEONG, M.; ZHITOMIRSKY, I.** Electrodeposition of alginic acid and composite films. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 328, n. 1-3, p.73-78, out. 2008.

³⁰ **ALGINATOS: OS ALGINATOS E SUAS MÚLTIPLAS APLICAÇÕES. OS ALGINATOS E SUAS MÚLTIPLAS APLICAÇÕES.** **Food Ingredients Brasil**, São Paulo, Sp - Brasil, n. 26, p.34-38, 2013. Disponível em: <http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060847415001464961683.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2017.

³¹ **FERNANDES, Renan da Silva; MOURA, Marcia R. de; AOUADA, Fauze Ahmad.** Otimização da síntese de hidrogéis nanocompósitos intercalados para possível aplicação na área médica. **Química Nova**, p.60-67, 15 ago. 2016.

³² **NICOLOSI, J.G; MORAIS, A. M.** Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: Estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados. Campinas, jul. 2005. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Disponível em: < <http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/tBT42.pdf>>. Acesso em: 17 de julho. 2017.

³³ **KIM, Jong Oh et al.** Development of polyvinyl alcohol–sodium alginate gel-matrix-based wound dressing system containing nitrofurazone. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 359, n. 1-2, p.79-86, jul. 2008.

³⁴ **TONG, Tiezheng et al.** Effects of Material Morphology on the Phototoxicity of Nano-TiO₂ to Bacteria. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 21, p.12486-12495, 5 nov. 2013.

³⁵ **NOGUEIRA, Raquel F.p.; JARDIM, Wilson F..** A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, São Paulo, Sp - Brasil, v. 1, n. 21, p.69-72, 1998.

³⁶ **YAN, Jinhua et al.** Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized In-situ by solution spraying onto cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p.500-508, ago. 2016.

³⁷ **PAULA, Marcos Marques da Silva et al.** Evaluation of the permeability of silver nanoparticles in polymer films of sulfonated polystyrene-co-acrylic acid. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 520, p.78-84, maio 2017.

-
- ³⁸ **CHO, Kyung-hwan et al.** The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 5, p.956-960, nov. 2005.
- ³⁹ **SHRIVASTAVA, Siddhartha et al.** Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 18, n. 22, p.1-9, 4 maio 2007.
- ⁴⁰ **KHODASHENAS, Bahareh; GHORBANI, Hamid Reza.** Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. **Arabian Journal Of Chemistry**, p.1-16, jan. 2015.
- ⁴¹ **KUMARI, Madhuree et al.** Tailoring shape and size of biogenic silver nanoparticles to enhance antimicrobial efficacy against MDR bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p.346-355, abr. 2017.
- ⁴² **XU, Jie; CHENG, Guo-an; ZHENG, Rui-ting.** Controllable synthesis of highly ordered Ag nanorod arrays by chemical deposition method. **Applied Surface Science**, v. 256, n. 16, p.5006-5010, jun. 2010.
- ⁴³ **Y. Chang, Y. Lu, K. Chou.** Diameter control of silver nanowires by chloride ions and its application as transparent conductive coating. *Chem. Lett.*, 40, pp. 1352–1353, 2011.
- ⁴⁴ **AHERNE, Damian et al.** Optical Properties and Growth Aspects of Silver Nanoprisms Produced by a Highly Reproducible and Rapid Synthesis at Room Temperature. **Advanced Functional Materials**, v. 18, n. 14, p.2005-2016, 23 jul. 2008.
- ⁴⁵ **WILEY, Benjamin J. et al.** Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructures through Shape-Controlled Synthesis. **The Journal Of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 32, p.15666-15675, ago. 2006.
- ⁴⁶ **NEUMANN, Miguel G.; QUINA, Frank H..** A fotoquímica no Brasil. **Química Nova**, [s.l.], v. 25, p.32-38, maio 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000800007>.
- ⁴⁷ **ASTM-** Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (1997). D882-97. In Annual book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, USA, PA: ASTM.
- ⁴⁸ **ASTM -** Standard test method for water vapor transmission of materials (1980). E96-80. In: Annual Book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, USA, PA: ASTM.
- ⁴⁹ **GENNADIOS, Aristippos; WELLER, Curtis L.; GOODING, Charles H..** Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. **Journal Of Food Engineering**, v. 21, n. 4, p.395-409, jan. 1994.
- ⁵⁰ **Hatakeyama, T. e Quinn, F. X.** – “ Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science”, John Wiley & Sons Ltd, New York, 1994.
- ⁵¹ **CANEVAROLO JÚNIOR, S. C.** Ciência dos polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Carlos: Artliber, 2006. 174 p.

-
- ⁵² **OTONI, Caio G. et al.** Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids*, [s.l.], v. 41, p.188-194, dez. 2014.
- ⁵³ **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012).** Performance standards for antimicrobial disk Susceptibility tests; approved standard (11th ed). Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M02eA11 www.clsi.org
- ⁵⁴ **LIMA, Aline Margarete Furuyama et al.** Influência da adição de plastificante do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. *Química Nova*, v. 30, n. 4, p.832-837, ago. 2007.
- ⁵⁵ **LIMA, Aline Margarete Furuyama et al.** Influência da adição de plastificante do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. *Química Nova*, [s.l.], v. 30, n. 4, p.832-837, ago. 2007. FapUNIFESP (SciELO).
- ⁵⁶ **MOURA, Márcia R de et al.** Efficiency Improvement of Cellulose Derivative Nanocomposite Using Titanium Dioxide Nanoparticles. *Journal Of Nanoscience And Nanotechnology*, [s.l.], v. 17, n. 3, p.2206-2211, 1 mar. 2017.
- ⁵⁷ **EGHBALIFAM, Naeimeh; FROUNCHI, Masoud; DADBIN, Susan.** Antibacterial silver nanoparticles in polyvinyl alcohol/sodium alginate blend produced by gamma irradiation. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 80, p.170-176, set. 2015.
- ⁵⁸ **MONTANHERA, Maykon André.** *Atividade fotocatalítica de pó de TiO2 obtido por uma nova rota sintética.* 2017. 76 f. Dissert (Mestrado) - Curso de Ciência do Materiais, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Ilha Solteira, 2017.
- ⁵⁹ **SELLIMI, Sabrine et al.** *Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed.* *International Journal Of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 72, p.1358-1367, jan. 2015. Elsevier BV.