

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE GALACTOMANANAS
DE *Adenantha pavonina* (CAROLINA) e *Delonix regia*
(FLAMBUOYANT) RETICULADAS COM TRIMETAFOSFATO DE
SÓDIO

FABRÍCIO CORDEIRO DE MATOS

ORIENTADOR: Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista

ARARAQUARA - SP

2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE GALACTOMANANAS
DE *Adenantha pavonina* (CAROLINA) e *Delonix regia*
(FLAMBUOYANT) RETICULADAS COM TRIMETAFOSFATO DE
SÓDIO

FABRÍCIO CORDEIRO DE MATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista

ARARAQUARA - SP

2008

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

M433c Matos, Fabrício Cordeiro de
Caracterização físico-química de galactomananas de *Adenantha pavonina* (CAROLINA) e *Delonix regia* (FLAMBUOYANT) reticuladas com trimetafosfato de sódio / Fabrício Cordeiro de Matos. – Araraquara, 2008.
102 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Orientador: Raul Cesar Evangelista

1.Galactomananas. 2.Trimetafosfato de sódio. 3.Reologia. I.Evangelista, Raul Cesar, orient. II.Título.

CAPES: 403000005

FABRÍCIO CORDEIRO DE MATOS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE GALACTOMANANAS
DE *Adenantha pavonina* (CAROLINA) e *Delonix regia*
(FLAMBUOYANT) RETICULADAS COM TRIMETAFOSFATO DE
SÓDIO

A comissão julgadora dos trabalhos de defesa da dissertação de mestrado, em sessão pública realizada em 24/9/2008, considera o candidato:

REPROVADO

APROVADO

1) Examinador (Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista) _____

2) Examinador (Prof. Dr. Osvaldo de Freitas) _____

3) Examinador (Prof^ª. Dra. Ana Dóris de Castro) _____

Araraquara, 24 de Novembro de 2008

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço aos meus pais José Everardo e Vânia pelo amor incondicional e total apoio que me deram e por sempre terem acreditado no meu potencial.

Aos meus irmãos Everardo e Djamile pela amizade e apoio.

A todos os meus familiares pela amizade e apoio.

A todos vocês o meu muito obrigado!!!!

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho envolveu a colaboração de muitas pessoas sem as quais a sua realização seria impossível.

A todos que, direta e indiretamente, contribuirão para realização deste trabalho meu muito obrigado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista pela amizade confiança e orientação.

A Prof^a. Dra. Maria Palmira D. Gremião por todo auxílio e amizade.

A Prof^a. Dra. Ana Dóris pela amizade e apoio.

Ao Prof. Dr. Anselmo Gomes de Oliveira pela amizade e apoio.

Ao Prof. Dr. Victor Hugo V. Sarmiento pelas análises realizadas IQ UNESP, pelo auxílio nas horas de aflição e principalmente pela amizade. Meu muito obrigado.

A Prof^a. Dra. Beatriz Stringhetti F. Cury pelo apoio e auxílio na discussão deste trabalho o meu muito obrigado.

A Prof^a. Dra. Leila Aparecida Chiavacci pelo auxílio na interpretação das análises de infravermelho e orientação.

A Prof^a. Dra. Sandra Maria Rocha – Universidade de Fortaleza pelas análises termogravimétricas, meu muito obrigado.

A minha colega Priscileila pelas conversas, idéias e especialmente pela amizade, meu muito obrigado.

Aos colegas da Pós graduação:

Arnobio, Gustavo, Ana Luiza, Flavia, Kelly, Cristina Franzine, Cristina Bruno, Gisele, Flavio, Hilris, pelas horas de descontração alegria e incentivo, meu muito obrigado a todos.

A Margareth e a Fátima pelo auxílio e presteza, meu muito obrigado.

As secretarias do programa da Pós-graduação Claudia, Laura e Sonia pela atenção e apoio.

Aos funcionários da biblioteca pelo auxílio e apoio.

A Capes pelo apoio financeiro.

Sumário.

	PAGINA
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTAS DE TABELA	vii
INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	4
1.1. Definição de gomas	4
1.1.1. Gomas de exsudados	4
1.1.2. Gomas de algas marinhas	5
1.1.3. Gomas de sementes.	5
1.2. Modificação química das gomas.	8
1.2.1. Polímeros reticulados	10
1.3. Descrição das espécies estudadas.	11
1.3.1. Delonix regia	11
1.3.2. Adenantha pavonina L.	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. MATERIAL E METODO.	16
3.1. Matérias-primas:	16
3.2. Equipamentos e acessórios	16
3.3 Métodos:	17
3.3.1. Obtenção da goma total das sementes	17
3.3.2. Obtenção dos polissacarídeos a partir da goma total	18
3.3.3. Caracterização dos polímeros.	20
3.3.3.1 Composição.	20
3.3.3.1.1 Determinação do teor de umidade.	20
3.3.3.1.2 Determinação do teor protéico.	20
3.3.4. Reticulação das galactomananas	21
3.3.5. Espectroscopia no infravermelho.	22

3.3.6. Distribuição granulométrica.	22
3.3.7. Determinação do comportamento viscoelástico das amostras.	23
3.3.8. Determinação do perfil de intumescimento.	23
3.3.9. Estimativa da densidade de reticulação apartir das medidas de ligação por azul de metileno	24
4. . RESULTADOS E DISCUSSÃO.	25
4.1. Reticulação das Galactomananas.	25
4.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	26
4.3. Determinação do Teor de Umidade.	35
4.4. Determinação do teor protéico.	36
4.5. Determinação do comportamento viscoelástico das amostras.	36
4.5.1. Carolina	37
4.5.2. Flamboyan	46
4.6. Distribuição Granulométrica.	49
4.7. Perfil de intumescimento	60
4.8. Avaliação da densidade de reticulação pela reação com azul de metileno	71
5. CONCLUSÕES	78
6. BIBLIOGRAFIA	80

RESUMO

Os polissacarídeos naturais vêm sendo extensamente usados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas para liberação prolongada de fármacos, fato demonstrado na literatura por inúmeros estudos de utilização de polissacarídeos como quitosana, pectina, sulfato de condroitina, ciclodextrinas, dextranas, inulina, amilose e galactomananas de goma de guar e de alfarroba.

Neste trabalho, os polímeros de galactomananas de flamboyant (*Delonix regia*) e de Carolina (*Adenantha pavonina*), que são vegetais pertencentes à família *Leguminosae*, foram estudados após serem reticuladas por reação com trimetafosfato de sódio, um agente reticulante adequado para o uso farmacêutico e alimentício e avaliou-se os diferentes graus de reticulação das gomas em função da variação do tempo de reação (30 min. a 4 horas) e da concentração de base no meio reacional (2% e 4%).

As técnicas analíticas empregadas mostraram-se úteis na avaliação do grau de reticulação das amostras, exceto a espectroscopia na região do infravermelho, que não permitiu estabelecer diferenças entre as estruturas obtidas com diferentes graus de reticulação.

A técnica da reologia apresentou-se como uma ferramenta importante na análise dos polímeros. Através das análises de viscoelasticidade foi possível observar mudanças significativas no comportamento viscoelástico dos polímeros reticulados quando comparados aos polímeros não-reticulados, oriundos do flamboyant ou da carolina. Para todos os tempos de reticulação, o módulo G' apresentou valores maiores para os polímeros reticulados em comparação aos polímeros não reticulados, para todos os tempos de reticulação.

A análise do grau de intumescimento das partículas aliada à reologia mostrou ser útil para a caracterização dos polímeros, permitindo observar que os produtos reticulados de ambas as origens tiveram sua capacidade de absorver água aumentada significativamente em relação ao não reticulado, formando um gel viscoso.

A mudança da natureza não iônica dos polímeros não-reticulados para aniônica após a reticulação com trimetafosfato de sódio ficou demonstrada nas medidas de densidade de reticulação com azul de metileno, nas quais foi possível estabelecer uma dependência entre a concentração de adsorção do azul de metileno ligado às partículas e o grau de reticulação.

Os resultados obtidos nos permitiram concluir que as gomas de Flambouyant e de Carolina são polímeros promissores para compor formulações para a liberação prolongada de fármacos.

Palavras chave: Galactomananas, Trimetafosfato de sódio, reticulação, reologia, *Delonix regia*, *Adenantha pavonina*, intumescimento.

ABSTRACT

The natural polysaccharides have been extensively used in the development of solid dosage forms for sustained release of drugs, a fact demonstrated by countless studies in the literature about the use of polysaccharides such as chitosan, pectin, chondroitin sulphate, cyclodextrins, dextran, syrup, starch and gum galactomannans of guar and carob.

In this work, the polymers of galactomannans of Flamboyant (*Delonix regia*) and Carolina (*Adenanthera pavonina*), which are plants belonging to the family Leguminosae, were studied after a cross-linked reaction with sodium trimetaphosphate, which is a cross-linked agent suitable for pharmaceutical and food use. Then, from this study, the different cross-linked degrees of gum depending on the variation of the reaction time (30 minutes to 4 hours) and the concentration of base in the middle reaction (2% and 4%) were analyzed.

The analytical techniques employed have proved useful in assessing the cross-linked degree of the samples, except in the infrared spectroscopy, which failed to establish differences between the structures obtained with different degrees of cross-linkage action.

The rheology technique presented itself as an important tool in the analysis of polymers. Through the viscoelasticity analysis it was possible to see significant changes in the viscoelastic behavior of cross-linked polymers when compared to non-cross-linked polymers, from the Flamboyant or the Carolina. For all times of reticulation, the module G had higher values for the cross-linked polymers when compared to non-cross-linked polymers, for all times of cross-linkage actions.

The analysis of the degree of swelling of the particles combined with rheology has shown to be useful for the characterization of polymers, enabling the observation that the cross-linked products of both origins had their ability to absorb water increased significantly in relation to non-cross-linked, forming a viscous gel.

The change in the nature of non-ionic cross-linked polymer for non-anion after a cross-linked reaction with sodium trimetaphosphate was demonstrated in measures of cross-linked density with methylene blue, which could establish a dependency between the concentration of adsorption of methylene blue on the particles and the degree of cross-linkage action.

The results have enabled us to conclude that the gums of Flamboyant and Carolina are promising polymers to compound formulations for extended release of drugs.

Key words: galactomannans, Trimetafosfato sodium, reticulation, rheology, *Delonix regia*, *Adenanthera pavonina*, swell.

LISTA DE FIGURAS

	PAGINA
Figura 1: exemplo da estrutura de gomas de sementes Galactomanana de <i>Locust bean</i> (alfarroba).	7
Figura 2: Representação esquemática da reação típica entre Trimetafosfato Sódio e grupos hidroxila da Goma Guar (GLIKO KABIR <i>et al.</i> , 2000).	11
Figura 3: Árvore do Flambuoyant (<i>Delonix regia</i>).	12
Figura 4: Semente, vagem e flores do Flambuoyant.	13
Figura 5: Folhagem e sementes da Carolina (<i>Adenanthera pavonina</i> , L.)	13
Figura 6: Sementes Carolina (<i>Adenanthera pavonina</i> , L).	14
Figura 7. Esquema de obtenção da galactomanana obtida das sementes,	19
Figura 8: Dispositivo de Enslin para determinação da quantidade de água absorvida.	23
Figura 9: Espectro na região do infravermelho da galactomanana <i>Adenanthera pavonina</i> (Carolina) e sua ampliação na região de 1400 a 400cm ⁻¹ .	27
Figura 10: Estrutura esperada para as galactomananas (COVIELLO, et al., 2007).	27
Figura 11: Espectro na região do infravermelho da galactomanana de <i>Delonix regia</i> (Flambuoyant) e sua ampliação na região de 1400 a 400cm ⁻¹ .	28
Figura 12: Espectro na região do infravermelho do trimetafosfato de sódio.	29
Figura 13: Estrutura do trimetafosfato de sódio (GLIKO—KABIR <i>et al.</i> , 2000).	29
Figura 14: Espectro na região do infravermelho da mistura física da galactomanana de <i>Adenanthera pavonina</i> (Carolina) com o trimetafosfato de sódio.	30
Figura 15: Espectro vibracional na região do infravermelho da mistura física da galactomanana de <i>Delonix regia</i> (Flambuoyant) com o trimetafosfato de sódio.	31
Figura 16: Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Carolina nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 2% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas.	32

- Figura 17:** Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Carolina nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 4% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas. **33**
- Figura 18:** Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Flambuoyant nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 2% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas. **34**
- Figura 19:** Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Flambuoyant nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 4% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas. **35**
- Figura 20.** Comportamento reológico de galactomananas reticuladas obtidas a partir da Carolina em meio aquoso básico de NaOH 2% (a) e 4% (b) para reticulação nos tempos de 0,5h, 1h, 2h e 4h. A galactomanana sem reticulação foi usada como referência. **38**
- Figura 21:** Evolução dos módulos de armazenagem G' e de perda G'' da galactomanana sem reticulação extraída da Carolina. **39**
- Figura 22:** Evolução temporal dos módulos de armazenagem G' e de perda G'' da galactomanana reticulada de Carolina em meio alcalino (NaOH 2%) para diversos tempos de reação utilizando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante. **40**
- Figura 23:** Evolução temporal dos módulos de armazenagem G' e de perda G'' da galactomanana reticulada de Carolina em meio alcalino (NaOH 4%) para diversos tempos de reação. **41**
- Figura 24:** Evolução dos módulos de armazenagem G' em função do tempo de reação de reticulação com trimetafosfato de sódio para as amostras preparadas com NaOH 2% e 4%. Os valores de G' foram obtidos a uma frequência de 1Hz. Como referência, adotou-se a Carolina nativa como tempo 0. **42**
- Figura 25:** Variação da viscosidade complexa em função da frequência em vários tempos de reação de reticulação com trimetafosfato de sódio para amostras preparadas em meio alcalino com NaOH 4%. **43**

- Figura 26:** Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Carolina preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% em meio de suco gástrico simulado. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio). **44**
- Figura 27:** Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% em tampão fosfato simulando o meio entérico. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio). **45**
- Figura 28.** Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Flambouyant em meio aquoso alcalinizado com NaOH a) 2% e b) 4%. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio). **47**
- Figura 29.** Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Flambouyant preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% e em meio de suco gástrico. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio). **48**
- Figura 30.** Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir do Flambouyant preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% em meio de tampão fosfato. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio). **49**
- Figura 31:** Diâmetro de Feret na direção horizontal (0°) **50**
- Figura 32:** Distribuição de tamanho de partículas das amostras de Carolina reticuladas em NaOH 2%. A) Carolina não reticulada, B) 2%/0,5h, C) 2%/1h, D) 2%/2h, E) 2%/4h. **52**
- Figura 33:** Distribuição de tamanho de partículas — Amostras de Carolina reticuladas em NaOH 4%. A) 4%/0,5 B) 4%/1h C) 4%/2h D) 4%/4h. **54**
- Figura 34:** Distribuição de tamanho de partículas — Amostras de galactomanana de Flambouyant não reticulada e reticulada em NaOH 2%. A) Flambouyant não reticulada, B) 2%/0,5h, C) 2%/1h, D) 2%/2h, E) 2%/4h. **55**

- Figura 35:** Distribuição de tamanho de partículas — Amostras de galactomanana de Flambuoyant reticulados em NaOH 4%. A) 4%/ 0,5h, B) 4%/ 1h, C) 4%/ 2h, D) 4%/ 4h. **56**
- Figura 36:** Fotomicrografia das galactomananas reticuladas com ampliação de 80x. **59**
- Figura 37:** Intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizado com NaOH 2% em Tampão Fosfato pH 7,4. **63**
- Figura 38:** Intumescimento de galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizado com NaOH 4% em Tampão Fosfato pH 7,4. **64**
- Figura 39:** Intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio alcalinizado com NaOH 2%, em Suco Gástrico pH 1,2. **65**
- Figura 40:** Intumescimento galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio alcalinizada com NaOH 4% em Suco Gástrico pH 1,2. **66**
- Figura 41:** Intumescimento da galactomanana de Flambuoyant não reticulado e reticulado com trimetafosfato de sódio, alcalinizado com NaOH 2% em tampão fosfato pH 7,4. **67**
- Figura 42:** Intumescimento de galactomanana de Flambuoyant, alcalinizada com NaOH 4% em tampão fosfato pH 7,4. **68**
- Figura 43:** Intumescimento da galactomanana de Flambuoyant, alcalinizada com NaOH 2% em suco gástrico pH 1,2. **69**
- Figura 44:** Intumescimento da galactomanana de Flambuoyant, alcalinizada com NaOH 4% em suco gástrico pH 1,2. **70**
- Figura 45:** Relação entre a concentração de adsorção do azul metileno na galactomanana de Carolina reticulada, em NaOH 2% e não reticulada em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h. **73**
- Figura 46:** Relação entre a concentração de adsorção do azul metileno na galactomanana de Carolina reticulada em NaOH 4% e, não reticulada em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h. **74**

- Figura 47:** Relação entre a concentração de adsorção do Azul Metileno da galactomanana de Flambuoyant reticulada em NaOH 2% e não reticulado, em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h. **76**
- Figura 48:** Relação entre a concentração de adsorção do Azul Metileno da galactomanana de Flambuoyant reticulado em NaOH 4% e não reticulado em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h. **77**

LISTA DE TABELAS.

	PAGINA
Tabela 1: Amostras reticuladas nas diferentes concentrações NaOH, e tempos de reação.	25
Tabela 2: Valores de circularidade de formas geométricas regulares (MIKLI <i>et al.</i> ,2001).	57
Tabela 3: Fator de circularidade da galactomanana de Carolina nativa e reticulada.	58
Tabela 4: Fator de circularidade da galactomanana de Flambuoyant nativa e reticulada.	59

Introdução

Os medicamentos são sistemas de liberação de fármacos, ou seja, constituem um meio de administrar um fármaco de maneira segura, eficiente, reprodutível e prática ao organismo. Os vários tipos de medicamentos incluem desde soluções relativamente simples até sistemas de liberação complexos, dependendo do uso apropriado de adjuvantes de formulação ou excipientes. Especificamente, são os adjuvantes de formulação que permitem, entre outras funções, solubilizar, suspender, espessar, conservar, emulsionar, modificar a solubilidade, favorecer a compressibilidade e corrigir características organolépticas do fármaco, possibilitando a obtenção de diversas preparações ou formas farmacêuticas (AULTON, 2005).

Recentemente, tem aumentado o interesse pelo delineamento de formulações capazes de liberarem fármacos em sítios-alvo específicos dentro do organismo (p. ex., lipossomas e nanopartículas), assim como de suprir fármacos durante longos períodos de tempo com velocidade controlada (AULTON, 2005). Existem muitas vantagens na liberação controlada de fármacos. As principais vantagens destes sistemas são a melhora da eficácia e diminuição da toxicidade, a redução dos efeitos colaterais, a redução da dose de fármaco administrada e da frequência de administração, aumento da adesão do paciente ao tratamento, além da otimização da administração de produtos oriundos da biotecnologia, tais como vacinas, peptídeos e proteínas entre outros (KUMAR e KUMAR, 2001; SILVA et al., 2002).

Lordi (2001) cita a definição de Ballard (1978) para liberação controlada:

“O termo ‘liberação controlada’ tem sido associado aos sistemas a partir dos quais os fármacos são liberados a velocidades pré-definidas, por um período de tempo prolongado após a sua administração. Produtos deste tipo têm sido formulados para administração oral, injetável e tópico, incluindo implantes que podem ser colocados em várias partes do corpo” (BALLARD, 1978).

Entre as regiões para vetorização de fármacos, encontra-se o cólon. Os sistemas para liberação colônica de fármacos têm sido foco de muito interesse nestas últimas décadas devido à importância recentemente reconhecida desta região no trato gastrointestinal (TGI), não somente para terapia local, mas também sistêmica. A liberação específica de fármacos para o cólon é considerada uma importante alternativa para o tratamento de doenças inflamatórias, como a doença de Crohn e a colite ulcerativa, doenças infecciosas, como colites espasmódicas, amebianas, bacteriana, viral e carcinomas. Por outro lado, a absorção sistêmica específica na região colônica oferece interessantes

possibilidades para o tratamento de doenças, tais como, asma, artrite ou inflamação. O cólon tem sido descrito também como um sítio favorável para absorção de proteínas e peptídeos (YAMAMOTO et al., 2000; LUCINDA-SILVA e EVANGELISTA, 2001).

O cólon é rico em uma vasta microbiota, a qual pode ser usada para o direcionamento do sistema de liberação. Sua atividade enzimática é menor do que a do estômago ou do intestino delgado. A lentidão do trânsito colônico prolonga o tempo de retenção das formas farmacêuticas, propiciando uma excelente oportunidade para absorção de fármacos com ação sistêmica ou específica na mucosa (KINGET et al., 1998; CORA et al., 2005).

Os polissacarídeos naturais são hoje extensamente usados para o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas para liberação de fármacos no cólon. A fundamentação para o desenvolvimento de um sistema de liberação colônica baseado em polissacarídeos é a presença de grandes quantidades de polissacaridases no cólon humano, uma vez que a região é habitada por um grande número e variedade de bactérias, que secretam muitas enzimas, como β -D-glicosidase, β -D-galactosidase, amilase, pectinase, xilanase, β -D-xilosidase, dextranase, etc. Estas enzimas poderão metabolizar estes polissacarídeos da forma farmacêutica e liberar o fármaco para absorção. (SINHA e KUMRIA, 2001; SEMDÉ et al., 1998; RUBINSTEIN et al. 1993; RATHBONE et al.,2003).

Uma grande quantidade de polissacarídeos já foi estudada por seus potenciais como sistemas transportadores de fármacos cólon-específico, tais como a quitosana, a pectina, o sulfato de condroitina, as ciclodextrinas, as dextranas, a inulina, a amilose, a goma guar e a goma de alfarroba (que contêm galactomananas) (SINHA e KUMRIA, 2001; SEMDÉ et al., 1998; RUBINSTEIN et al. 1993; RATHBONE et al.,2003).

Galactomananas, como a de *Mimosa scabrella*, também foram relatadas como tendo sido usadas em sistemas para a liberação controlada de fármacos (UGHINI, et al. 2004). No entanto, a literatura não relata a utilização de galactomananas de Flambuoyant (*Delonix regia*) e de Carolina (*Adenanthera pavonina* L.).

A investigação de fontes de galactomananas constitui assunto de grande importância, tanto do ponto de vista acadêmico como industrial. Países tropicais, como o Brasil, apresentam grande potencial como produtores de recursos renováveis que ainda não foram suficientemente explorados, tendo vastas regiões apropriadas ao cultivo de leguminosas. Essas leguminosas constituem uma das principais fontes de galactomananas, como tem sido comprovado por pesquisas que as identificaram em inúmeras espécies desta família. Podem ser encontradas em algumas espécies das famílias

Annonaceae, Convolvulaceae, Ebenaceae, Loganiaceae e Palmae (DEA e MORRISON, 1975; DEY, 1978).

Entre as galactomananas de espécies nativas do Brasil sob investigação encontra-se a *Mimosa scabrella* Bentham, conhecida como bracinga, da família Mimosaceae. Suas sementes fornecem 20-30% de galactomanana com uma relação Manose:Galactose de 1,1: 1 (GANTER et al., 1992).

Segundo Azero (1999), a demanda no Brasil por hidrocolóides e por polímeros biocompatíveis é crescente e, apesar das condições favoráveis à sua produção, as empresas nacionais dependem das importações desses produtos. Dentre os produtos de maior interesse estão as galactomananas e as carragenanas. As galactomananas dão origem a soluções aquosas de viscosidade elevada, mesmo a baixas concentrações (0,5 a 1%) o que as torna comercialmente úteis principalmente como agentes espessantes na indústria de alimentos e como veículo para fins de liberação oral controlada de fármacos (GLIKO-KABIR et al., 2000).

Um sistema de liberação de fármacos na forma de comprimidos contendo xantana e goma de alfarroba (que contém galactomanana), comercialmente conhecido como TIMERx[®], foi desenvolvido por Penwest Pharmaceuticals Company (BAICHWALL e NEVILLE, 2002). O sistema é baseado na interação sinérgica de heteropolissacarídeos (1:1 a 50% de concentração) que, na presença de dextrose (50%), forma com a água um gel fortemente ligante, no qual a interação química entre as moléculas é suficientemente forte para resistir a uma taxa de cisalhamento. O potencial de liberação controlada do fármaco *in vitro e in vivo* foi demonstrado em trabalhos realizados por (STANIFORTH e BAICHWALL, 1993; McCALL e BAICHWALL, 1994; GLIKO-KABIR, 1998; KRISHNAIAH, 2002; LACK 2004; CHAURASIA, 2006) que relatam a utilização de hidrogeis contendo galactomananas de goma guar.

A goma de Carolina (*Adenantha pavonina* L.), identificada por Tavares (1998), apresenta a composição clássica das galactomananas; é constituída por uma cadeia principal formada por unidades de D-manopiranosose unidas por ligações $\beta(1\rightarrow4)$ apresentando ramificações de unidades D-galactopiranosose unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow6)$, com relação mananose:galactose (man:gal) 1,8:1 (MATOS, 2000). A relação manose:galactose dos polissacarídeos das sementes de *Delonix regia*, obtidos por Kapoor (1972) é de 1,8:1, portanto com uma estrutura provavelmente semelhante à da goma de Carolina. Podemos concluir que as gomas das duas espécies são semelhantes, mas com diferenças estruturais que podem fornecer resultados diferenciados na utilização como excipientes de fármacos.

Estes fatos demonstram a importância de se estudar e desenvolver novos sistemas de liberação de fármacos, principalmente com a utilização de materiais alternativos e regionais, entre os quais as gomas de sementes contendo galactomananas, que podem vir a serem excelentes matérias-primas para este fim.

1. Revisão bibliográfica

1.1. Definição de gomas

Segundo Whistler e BeMiller (1993), as gomas são moléculas hidrofóbicas ou hidrofílicas de alto peso molecular, geralmente com propriedades coloidais que em um solvente ou agente intumescente adequado produzem géis, suspensões altamente viscosas ou soluções com baixa concentração de matéria seca. Assim, o termo goma é aplicado a uma ampla variedade de substâncias com características “gomosas” e que não podem ser definidas com precisão.

Matos (2000) define gomas como hidrocolóides vegetais que podem ser classificados como polissacarídeos aniônicos, não iônicos ou como sais de polissacarídeos. São substâncias translúcidas e amorfas freqüentemente produzidas pelas plantas superiores como proteções após uma agressão. Muitas plantas que crescem em condições semi-áridas produzem exsudatos gomosos em grandes quantidades quando seu córtex é agredido; isso serve para vedar o corte e evitar a desidratação. As gomas de sementes são hidrocolóides contidos em algumas sementes embrionárias que servem como reserva de alimentos polissacarídicos. Várias algas contêm gomas marinhas como componentes de suas paredes celulares e de suas membranas, ou então em regiões intracelulares, onde funcionam como reserva de alimento.

1.1.1. Gomas de exsudatos

As gomas conhecidas no mundo antigo são principalmente exsudatos de plantas. A maioria das famílias de plantas inclui espécies que exsudam gomas, principalmente, as espécies das famílias

Leguminosas, Combretáceas e Anacardiáceas (TAVARES, 1998). As gomas podem ser exsudadas em quantidades muito pequenas e não serem facilmente percebidas ou podem ser produzidas abundantemente, formando incrustações grandes e visíveis. As exsudações produzidas em grandes quantidades constituem as gomas do mundo antigo e mesmo hoje ainda representam um segmento significativo (10-15%) das gomas naturais comerciais (MATOS, 2000).

São exemplos de gomas de exsudatos: o tragacanto (exsudato gomoso dessecado do *Astragalus gummifer* Labillardière, ou de outras espécies asiáticas de *Astragalus-Faam-Fabaceae*), a arábica da espécie *Acácia senegal*, e as gomas exsudadas de caju (*Anacardium occidentale*) e angico (*Anadenanthera macrocarpa*) e que segundo Paula (1990), estão sendo empregadas no Brasil como substitutas para a goma arábica.

1.1.2. Gomas de algas marinhas

A extração de gomas de algas marinhas originalmente praticada em países orientais, espalhou-se para muitas partes do mundo onde águas salobras e algas marinhas são abundantes. Devido aos sólidos princípios de engenharia empregados em processos de extração relativamente simples, que removem uma grande parte da matéria seca como material bastante puro, os custos finais dos extratos de algas marinhas são distribuídos entre a coleta e o processamento. Estas gomas são componentes estruturais das paredes celulares, têm presença sazonal, variando de acordo com a temperatura da água, o acesso aos nutrientes e com a intensidade de iluminação solar (TAVARES, 1998).

1.1.3. Gomas de sementes

Sementes são também fontes de gomas. A maioria das sementes contém amido como alimento principal estocado para uso pela planta embrionária em seu crescimento inicial. Todos esses amidos, que diferem entre si na aparência física e no comportamento físico, têm sido usados

como gomas quando dispersos em água. Atualmente, somente os amidos de custo mais baixo têm larga aplicação devido à forte competição econômica (TAVARES, 1998).

Muitas outras sementes contêm reservas alimentícias de polissacarídeos que não são amidos e algumas destas sementes são colhidas para produzir gomas de semente de interesse industrial. As mais antigas gomas de sementes eram extraídas de sementes de marmelo, *psyllium*, linho, e alfarroba e, algumas delas ainda são importantes hoje em dia. As gomas de sementes que são propícias à produção agrícola devem ser as mais baratas. Estas são sementes de plantas anuais com uma estação de crescimento normal que podem ser cultivadas em terras agrícolas por métodos normais. Um exemplo é a galactomanana da goma guar. Esta planta não foi usada para gomas de sementes senão após a II Grande Guerra. A planta era cultivada como alimento para o gado na Ásia, particularmente na Índia e no Paquistão (WHISTLER e BeMILLER, 1992).

Com a descoberta de que a goma de guar era semelhante à de sementes de Alfarroba (Figura 1), seu cultivo foi aumentado na Ásia e iniciado nos Estados Unidos. A planta é uma leguminosa anual que se assemelha à soja, com vagens de sementes ao longo do caule vertical. O plantio e a colheita podem ser feitos com máquinas agrícolas comuns. Parece, portanto, que as sementes de guar podem ser produzidas por práticas agrícolas convencionais e podem assim ser obtidas a baixo custo. Isto explica a observação de que sementes de guar têm tomado a maior parte do mercado em expansão de gomas de galactomanana (MATOS, 2000).

As gomas de sementes ou endospermicas mais utilizadas atualmente são as de *Cyamopsis tetragonolobus* (goma de guar, man:gal 2:1), *Ceratonia siliqua* (goma carobe ou alfarroba, man:gal 2:1) (representado na Figura 1) e *Caesalpinia spinosa* (goma tara, man:gal 3:1), todas elas constituídas basicamente de galactomananas (MATOS, 2000; MAIER *et al.*, 1993).

Galactomananas são polissacarídeos, tendo sido definidas por Aspinall (1982) como sendo mananas contendo mais de 5% de D-galactose. O grau de substituição normalmente varia de acordo com a fonte do polissacarídeo. Normalmente galactomananas de sementes possuem uma cadeia principal com unidades de β -D-manopiranoses ligadas glicosidicamente (1 \rightarrow 4), tendo cadeias laterais de α -D-galactopiranosose ligadas (1 \rightarrow 6).

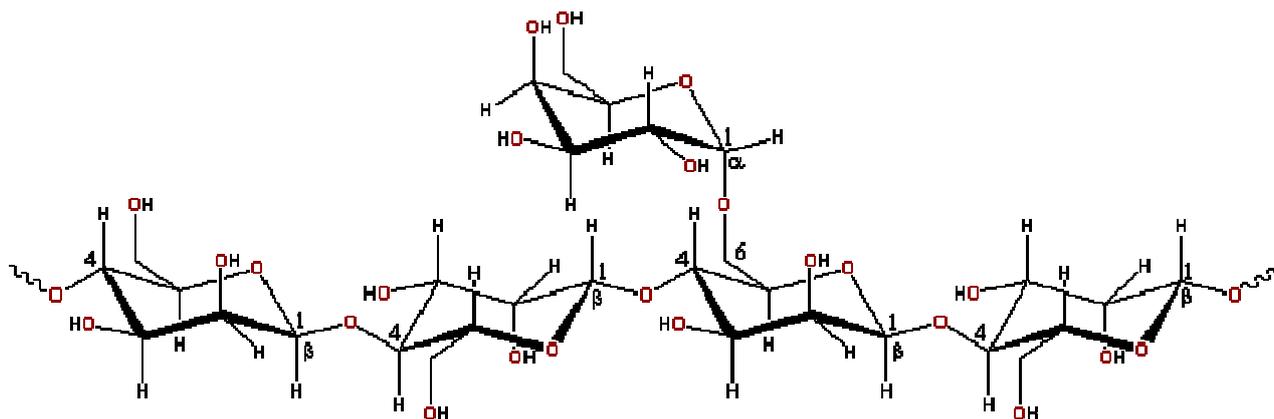


Figura 1: Exemplo da estrutura de galactomananas de gomas de sementes de *Locust bean* (alfarroba) (SITTIKIYOTHIN, et al.,2005).

As galactomananas de sementes têm uma estrutura química típica, com um esqueleto (1→4) ligado β-D-manopiranosil (manose) substituído em vários graus em O-6 com resíduos de unidade simples α-D-galactopiranosil (Galactose) (DEA e MORRISON, 1975). Em sistemas aquosos simples, elas são espessantes eficazes, uma propriedade que é essencialmente controlada pelo tamanho molecular e, quando associadas a outros polissacarídeos, tais como xantanas, podem produzir géis (MORRIS et al., 1977). O nível de substituição e a distribuição de galactose desempenham um papel importante na formação do gel (BRESOLIN et al.,1997, 1999).

A heterogeneidade dos componentes macromoleculares das gomas com relação a razão manose:galactose e à massa molecular foi demonstrada através de várias técnicas como a de eletroforese, fracionamento em decorrência de sua solubilidade em água e em função da temperatura (AZERO, 1999). De acordo com a origem e espécie da galactomanana, podem ser observadas diferenças na razão manose:galactose, no peso molecular e na distribuição de peso molecular.(AZERO, 1999).

A proporção manose:galactose e a forma como os substituintes estão distribuídos ao longo da cadeia principal são fatores extremamente importantes para estabelecer uma relação entre a estrutura do polímero e suas propriedades em solução, principalmente quanto à sua capacidade de solubilização e interação molecular (AZERO, 1999).

A solubilidade do polissacarídeo em água diminui com a diminuição do conteúdo de galactose. Assim, a eficiência de extração aquosa depende da composição das galactomananas. Seu rendimento pode variar com o método de extração e com o tempo envolvido no processo. Devido à

sua estrutura, as galactomananas são hidrofílicas e formam soluções mucilaginosas de alta viscosidade (MATOS, 2000).

Os níveis de galactomananas nas leguminosas variam, existindo sementes desta família que não as contêm. A relação man:gal foi estudada em 70 espécies, variando de 1:1 (*Lótus penduclatus*, subfamília Faboideae), a 5,26:1 (*Sophora japônica*, subfamília Faboideae) (LEITNER, 1991).

As galactomananas podem também ser encontradas em fontes microbianas, leveduras e fungos, assim como a D-manose e a D-galactose são encontradas em outros polissacarídeos de planta, como glucomananas, mananas e galactanas (LEITNER, 1991).

1.2. Modificação química das gomas

Os polissacarídeos naturais são freqüentemente modificados com substâncias químicas, para alterar suas propriedades e conferir-lhes uma aplicação mais ampla (MATOS, 2000). Às vezes, a modificação pode ser feita em etapas, dando um leque de novos produtos com propriedades bastante diferentes das do material original. É possível, inclusive, dar a um polissacarídeo as propriedades de um outro, permitindo a substituição de uma goma de alto preço por uma goma modificada de preço menor (MATOS, 2000).

É surpreendente o quão amplamente podem ser modificadas as propriedades de um polissacarídeo neutro introduzindo-se uma pequena derivação. Como exemplo, podemos citar a agregação de um grupo acetila em cada 100 unidades de glicose ao amido (grau de substituição, GS, de 0,01): observa-se melhoria na estabilidade e no processo de congelamento-descongelamento; ou quando a celulose é convertida numa goma solúvel, altamente viscosa e, portanto, muito útil, pela introdução de 3 grupos carboximetila em cada 10 unidades de glicosila. Os polissacarídeos com ramificações laterais ou com grupos carregados que tendem a ser solúveis são, usualmente, menos alterados pela derivação. Os casos nos quais os derivados de tais materiais têm provado ser comercialmente viáveis, usualmente provêm de um efeito específico, como, por exemplo, melhorar a união ou atividade superficial de uma proteína (MATOS, 2000).

A cristalinidade ocorre naturalmente na maioria dos polissacarídeos lineares insolúveis, tendendo a dificultar sua modificação química. Para efetuar uma substituição uniforme, é necessário primeiramente romper as zonas cristalinas, expondo assim as hidroxilas para reação. Isto é

usualmente cumprido usando solventes protônicos não reativos, os quais concorrem pelos lugares de união do hidrogênio e rompem gradualmente zonas cristalinas, ou usando álcalis aquosos. A maceração de um polissacarídeo em álcalis aquosos causa uma rápida expansão e quase solubilização e, nesse ponto, a adição de agentes alquilantes adequados, tais como haletos ou óxidos de alquila, resulta na derivação, geralmente com eficiências surpreendentemente altas (WHISTLER e BeMILLER, 1993).

Em média, estão disponíveis para substituição três hidroxilas em cada unidade de açúcar anidro. Porém, a reatividade relativa delas varia consideravelmente, devido à acessibilidade dentro das regiões cristalino-amorfas e aos efeitos posicionais. Ainda numa condição completamente solvatada, os grupos hidroxila que apresentam diferentes taxas de reação são influenciados por vários fatores, incluindo efeitos indutivos, efeitos estéricos de conformação. Na celulose e no amido, o grupo hidroxila mais reativo está em C-6. Por exemplo, algodão mercerizado OH-2 é aproximadamente 30% mais reativo que OH-3 ou OH-6. As taxas relativas podem ser alteradas pelas condições de reação. Quando o amido é metilado a um alto DS com sulfato de dimetila numa solução concentrada de hidróxido de sódio, a taxa de substituição em C-2, C-3 e C-6 é de 6:1:7; para tanto a metilação num álcali mais diluído a um DS de só 0,6 dá uma taxa de C-2, C-3 e C-6 de 10:1:4. A força do álcali também tem um papel significativo na determinação das propriedades do produto final. Por isso, as carboximetilceluloses preparadas da mesma celulose inicial e substituídas ao mesmo nível, mas variando com respeito à concentração do álcali ou ao tempo durante o intumescimento inicial, podem ter diferentes propriedades de solução. Esta diferença é atribuída a diferenças no padrão de substituição, afetada pelas quantidades relativas de regiões cristalinas *versus* amorfas disponíveis durante a reação; as hidroxilas nas regiões amorfas reagem a uma velocidade maior (WHISTLER e BeMILLER, 1993).

Um vasto conjunto de derivados baseados quase exclusivamente em amido e celulose está disponível correntemente, muitos deles estão aprovados para uso em alimentos e medicamentos. O uso do guar como material de início para derivação está crescendo também, mas o uso de muitas outras gomas como materiais de início, mesmo que referido na literatura, é inviável por causa de um preço não competitivo ou falta de benefícios desejáveis para garantir sua fabricação (MATOS, 2000).

1.2.1. Polímeros reticulados

A obtenção de um polímero semi-sintético a partir da reticulação de um polissacarídeo natural é um modo de criar grandes moléculas que têm algumas das características de cada polímero individual, obtendo-se um polímero semi-sintético. O amido tem sido um dos polissacarídeos mais pesquisados em processos de reticulação pela sua disponibilidade, baseada em quantidade e baixo custo (WHISTLER e BeMILLER, 1993).

Os amidos com regiões reticuladas são usados em alimentos, quando é necessária uma pasta estável, de alta viscosidade, especialmente se as dispersões têm que ser expostas a alto cisalhamento, alta temperatura, baixo pH, ou combinações deles. As tendências à cocção contínua requerem uma maior resistência ao cisalhamento e estabilidade durante a exposição a superfícies quentes, como, por exemplo, nas condições encontradas durante a cocção por extrusão. Os amidos reticulados mostram estabilidade melhorada e um espessamento efetivo em temperos para salada nos quais a exposição a pH baixo por períodos de tempo prolongado é comum. As ligações cruzadas, combinadas com certos tipos de técnicas de secagem, tal como secagem em tambor, têm sido usadas para dar propriedades especiais aos alimentos, tais como polposidade ou textura e sensação bucal gordurosa. Este tipo de produto está se tornando especialmente importante nos produtos para dieta hipogordurosa, atualmente em voga. Já estão disponíveis comercialmente vários amidos com propriedades baseadas em algumas das modificações discutidas (MATOS, 2000).

Agentes de reticulação de natureza mais geral, os quais, em teoria, podem ser aplicados a quase qualquer sistema de polissacarídeos, incluem a epícloridrina, a vinilsulfona, os disotiocianatos e vários diepóxidos e diolefinas, tais como o 1,2:5,6-hexadieno e o trimetafosfato de sódio. A epícloridrina é um gerador de ligações cruzadas muito efetivo para grânulos de amido e, em níveis suficientemente altos de tratamento, rende um grânulo completamente resistente à ruptura, mesmo sob condições de autoclavagem. Aplicado ao guar, torna o material insolúvel, mesmo a um nível muito baixo de ligações cruzadas. Infelizmente, este é um problema bastante comum, quando se deseja aumentar a viscosidade e melhorar as propriedades através de uniões cruzadas, se poucas uniões entre as cadeias são necessárias para mudar o balanço entre solubilidade e insolubilidade nas soluções de polímeros lineares de tão alto peso molecular. Uma solução para este problema poderia ser ligar estes polímeros através de seus grupos terminais. Esta estratégia tem sido tentada por químicos de polímeros sem sucesso (WHISTLER e BeMILLER, 1993; GLIKO KABIR, 2000).

O trimetafosfato de sódio foi bem relatado como sendo um agente reticulante efetivo para gomas (KASEMSUWAN, BAILEY, e JANE, 1998; MUHAMMAD et al., 2000; WOO e SEIB, 1997). O trimetafosfato de sódio é um sal de baixa toxicidade não ocasionando efeito adverso em humanos. Nos Estados Unidos, este agente pode ser usado legalmente na reticulação de gomas de grau alimentícios. (DULONG et al., 2004).

Gliko Kabir (2000) relata que reticulou a goma guar com quantidades crescentes de trimetafosfato de sódio para reduzir suas propriedades de intumescimento para uso como veículo em formulações orais de liberação, especialmente em sistemas que liberam o fármaco nas porções distais do intestino delgado. O trimetafosfato de sódio é um agente reticulante não tóxico, usado para reticular amido na indústria alimentícia. Em pH básico, forma-se um éster fosfato complexo com duas unidades de polímero a partir da goma guar e trimetafosfato sódio (Figura 2). O produto de baixo intumescimento esperado poderia potencialmente ser usado como plataforma melhorada para a liberação cólon-específica de fármacos.

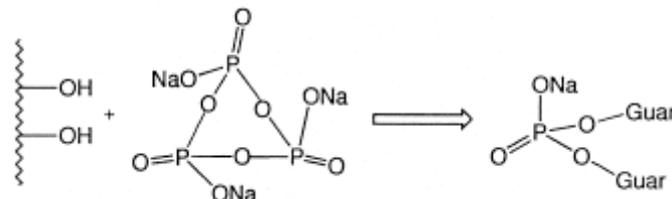


Figura 2: Representação esquemática da reação típica entre trimetafosfato de sódio e grupos hidroxila da goma guar (adaptado de GLIKO KABIR et al. 2000).

1.3. Descrição das espécies estudadas

1.3.1. *Delonix regia*

O Flambuoyant (*Delonix regia*, Bojer), pertencente à família *Leguminosae*, é uma árvore de porte médio que cresce em regiões quentes e úmidas da Índia, África e América. É uma espécie de leguminosa cultivada em zonas tropicais, empregada na arborização de parques e jardins, e muito apreciada pelas qualidades ornamentais de suas flores. As folhas, pecioladas, apresentam de 10 a 14 pares de pinas opostas e dispõem-se em racemos estreitos. Suas vagens são compridas, largas e

grandes, curvas e falconadas, contendo em média 20 sementes, com valvas que se enroscam e abrem na maturação, lançando as sementes a curta distância (Figuras 3 e 4).



Figura 3: Árvore do Flambuoyant (*Delonix regia*).

Existe registro de seu uso alimentício na África do Sul e em medicamentos indígenas e recomendações para várias doenças na Índia (KAPOOR, 1972), podendo ser consideradas as sementes de *Delonix regia* fontes potenciais de proteínas e carboidratos, sendo constituídas por cerca de 37% de goma endospermica, formada por galactomanana (MATOS, 2000).

As sementes de *Delonix regia* (Figura 4) apresentam um tegumento cinza escuro com marcas longitudinais mais claras em um endosperma gomoso e espesso. As dimensões médias das sementes (n = 100) são, aproximadamente, 0,47g de massa, 2,06 cm de comprimento, 0,63 cm de largura e 0,45 cm de espessura (MATOS 2000).



Figura 4: Semente, vagem e flores do Flambouyant.

1.3.2. *Adenanthera pavonina*

A Carolina (*Adenanthera pavonina*, L.), pertencente à família *Leguminosae* (*Fabaceae*) subfamília *Mimosoideae*, é uma planta nativa da Ásia e África tropical, que foi transplantada para toda América tropical. No nordeste do Brasil se apresenta como árvore inerme e glabra de até 15 metros de altura e é empregada na arborização de parques e jardins. As folhas, pecioladas e paripinadas, apresentam de dois a cinco pares de pinas opostas, com seis a dez folíolos curtos e peciolados. Suas flores, amarelo-pálidas ou raramente brancas, dispõem-se em ráceros estreitos em forma de espiga. Suas vagens são compridas, estreitas, curvado-falconadas, com valvas que se enroscam na maturação lançando as sementes à curta distância, (BAILEY, 1954; BRAGA, 1976) como pode ser percebido nas figuras 5 e 6.



Figura 5: Folhagem e sementes da Carolina (*Adenanthera pavonina*, L.)

A madeira pode ser usada na construção civil, marcenaria de luxo; as folhas são adstringentes, tônicas, anti-reumáticas e úteis contra diarreia e inflamação das mucosas (LUCYSZYN, 1994).

As sementes de *Adenanthera pavonina*, L. apresentam um tegumento vermelho brilhante e um endosperma gomoso e espesso. As dimensões médias (n=100) das sementes são 0,93 cm de comprimento; 0,90 de largura; 0,62 cm de espessura (TAVARES, 1998). As sementes possuem uma relação de man:gal de aproximadamente 1,8:1 (TAVARES, 1998).



Figura 6:Sementes de Carolina (*Adenanthera pavonina*, L).

2. Objetivos

2.1 - Objetivo geral

Caracterizar galactomananas extraídas de *Adenantha pavonina* e *Delonix regia* e reticuladas com trimetafosfato de sódio visando a possível utilização do produto em sistemas de liberação controlada de fármacos

2.2. Objetivos específicos

Promover a reticulação das galactomananas de Flambuoyant e de Carolina em diferentes graus, utilizando como agente reticulante o trimetafosfato de sódio sob condições reacionais controladas e mais amenas do que as apresentadas na literatura.

- Obter, purificar e caracterizar quimicamente as gomas endospermicas de Flambuoyant e da Carolina.
- Reticular as galactomananas de Flambuoyant e da Carolina em diferentes graus, utilizando como agente reticulante o trimetafosfato de sódio.
- Avaliar o grau de reticulação por meio das técnicas de análise elementar, espectroscopia no infravermelho e ensaios reológicos
- Caracterizar morfológica e granulometricamente as partículas obtidas.
- Avaliar o comportamento viscoelástico das amostras.
- Avaliar a capacidade de intumescimento dos produtos obtidos em meios com diferentes valores de pH;
- Determinar a densidade de reticulação das galactomananas reticuladas

3. Material e Métodos

3.1. Matérias-primas

- Sementes:

Sementes de Flambuoyant (*Delonix regia*) e de Carolina (*Adenanthera pavonina* L.) foram coletadas no Campus da Universidade de Fortaleza – UNIFOR, (Fortaleza - Ceará) e no Campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP (Araraquara – SP). Após serem devidamente selecionadas, foram acondicionadas em frascos de vidro à temperatura ambiente, até posterior utilização.

- Galactomananas – obtidas das sementes de Flambuoyant (*Delonix regia*) e de Carolina (*Adenanthera pavonina* L.);
- Trimetafosfato de sódio (Sigma)
- Acetona p.a. – SYNTH;
- Ácido Clorídrico p.a. – Merck;
- Hidróxido de sódio – Merck;
- Álcool etílico 92,8° INPM;
- Álcool etílico 99,5° GL p.a.

3.2. Equipamentos e acessórios

- Agitador magnético – SELECTA MULTIMATIC 9S;
- Balança analítica – OHAUS – AS 200S e AP250D;
- Bomba a vácuo – Tecnal – TE- 058;

- Espectrofotômetro de infravermelho – Shimadzu 8300;
- Espectrofotômetro UV/VIS – HITACH – mod. U-2000;
- Estereoscópio – LEICA – mod. MZ APO;
- Liofilizador EDWARDS – mod. Modulyo Pirani 10;
- Microscópio óptico mod. Jenamed2
- Ultra centrifuga HITACHI mod. CP 80β
- Peagômetro – Quimis, mod. Q-400M;
- Purificador de água Millipore – mod. Milli-QPlus;
- Banho de ultrassom – SONICLEAN, mod. SNC 5036 D.M.C.
- Equipamento para análise elementar. CE Instruments Mod. - EA 1110
- Estufa à vácuo. Tecnal mod. TE-395
- Reometro mod. Carri-Med CSL-100

3.3 Métodos:

3.3.1. Obtenção da goma total das sementes

Cerca de 150g de sementes foram deixados em 500ml de água deionizada fervente por 30 min. Em seguida, retirou-se a água fervente e adicionou-se 500ml de água deionizada à temperatura ambiente, deixando as sementes intumescerem por 12 h. A seguir, as sementes foram lavadas para retirada da teca, foram abertas e retirou-se o endosperma. Este foi lavado com álcool para desidratação e retirada de traços de pigmentos. O endosperma foi triturado em liquidificador e seco em estufa a vácuo por 72 horas a 37°C (MATOS, 2000).

3.3.2. Obtenção dos polissacarídeos a partir da goma total

A goma (endosperma) foi dissolvida em água deionizada a 100°C sob agitação por 2 h. A operação foi repetida até obtenção de um gel viscoso. O gel foi centrifugado (10.000 g, por 20 min) e a galactomanana foi precipitada pela adição de álcool etílico a 92,8° INPM, na proporção de 2 partes de etanol para 1 parte da suspensão da goma. Em seguida, o material foi filtrado em tecido de nylon e o precipitado foi lavado com acetona p.a. para retirada do excesso de água; o sólido obtido foi pulverizado em processador e seco em estufa a vácuo por 72 h a 37°C. A Figura 7 esquematiza os procedimentos descritos (MATOS, 2000).

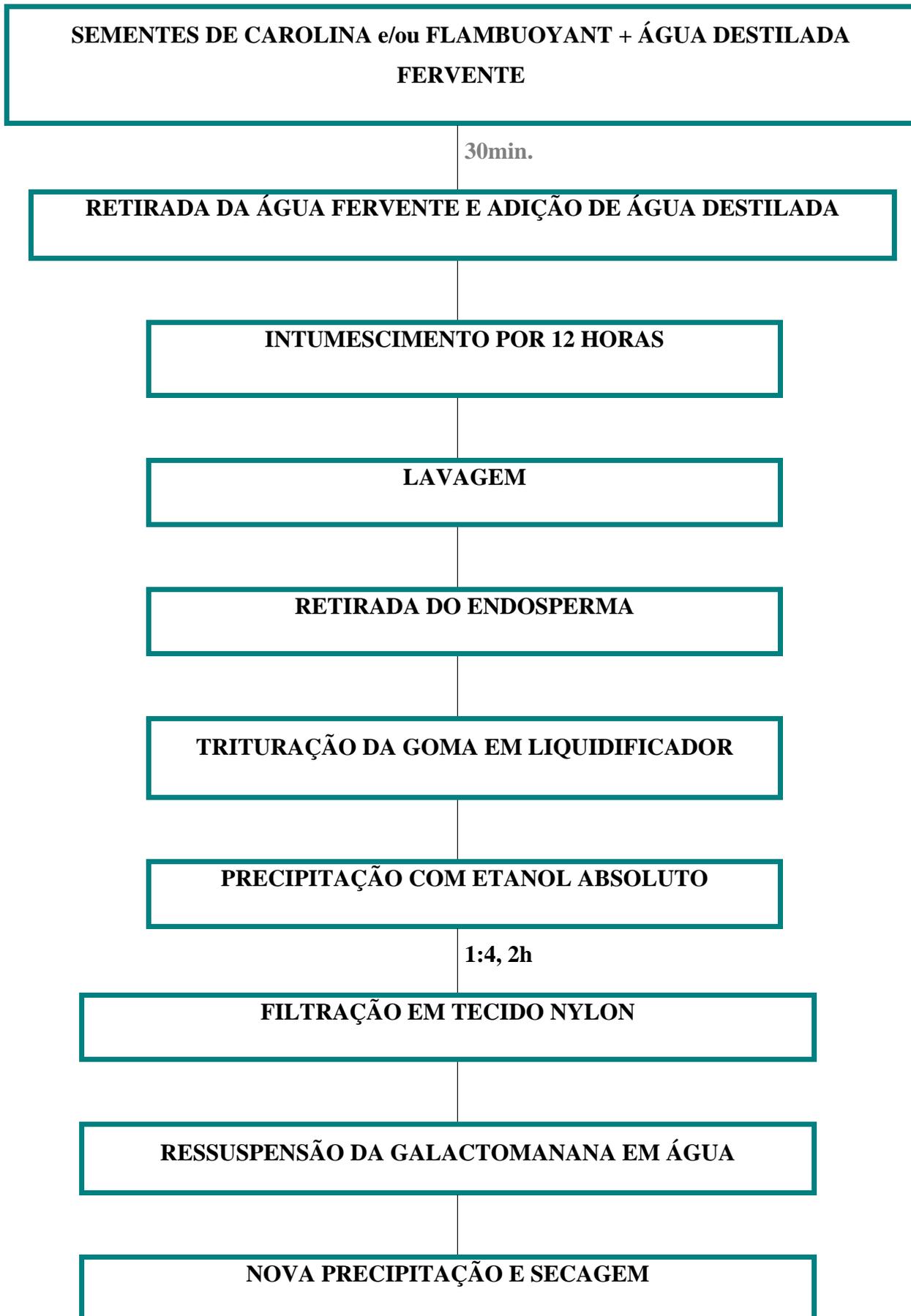


Figura 7. Esquema de obtenção da galactomanana das sementes.

3.3.3. Caracterização dos polímeros

3.3.3.1 Composição

3.3.3.1.1 Determinação do teor de umidade

Aproximadamente 1 grama da amostra foi pesado e colocado em um prato de alumínio previamente dessecado e tarado, sendo submetido à secagem em balança com sistema de secagem por infravermelho. As medidas foram tomadas de 15 em 15 min à temperatura de 110°C até peso constante. Os resultados foram expressos em % p/p, média de três determinações (REDESCHI 2006).

3.3.3.1.2 Determinação do teor protéico

O teor protéico foi obtido pela determinação de nitrogênio total segundo o método de Kjeldahl (Cecchi, 1999).

Foi pesado em triplicada 1,0 a 1,5g das amostras com precisão analítica. As amostras foram colocadas no frasco de digestão/destilação. Então, foram adicionados 9 g de Na₂SO₄ anidro, 1 g de CuSO₄ e 15 ml de H₂SO₄ concentrado. Os frascos foram colocados na unidade de digestão, aumentando-se gradualmente a temperatura do bloco aquecedor (50 °C a cada 15 min.), até a temperatura de 400°C. Após 3 h de digestão à temperatura de fervura do ácido sulfúrico foram adicionados 50 mL de água em cada frasco para dissolver quaisquer resíduos sólidos ou precipitados.

Posteriormente, foi realizada a destilação do nitrogênio, coletando-se o destilado em um erlenmeyer de 250 mL contendo a solução receptora constituída por 50 mL de solução padronizada de HCl 0,02N (v/v), e 3 a 4 gotas do indicador vermelho de metila. A solução receptora foi titulada com a solução padronizada de NaOH 0,1N até a viragem do indicador. Foi calculado o percentual de nitrogênio na amostra. O fator 6,25 (100/16) é usado para converter o nitrogênio total em proteína total.

3.3.4. Reticulação das galactomananas

A reação de reticulação foi realizada em meio aquoso alcalinizado com NaOH até pH 12, utilizando como agente reticulante o trimetafosfato de sódio. As concentrações de base utilizadas foram 2% e 4% e, para cada concentração, os tempos de reação foram de 30 min, 1h, 2h e 4h. De acordo com a concentração de NaOH e o tempo reacional empregado, as amostras foram denominadas como se segue:

(2%/30min), (2%/1h), (2%/2h), (2%/4h)

(4%/30min), (4%/1h), (4%/2h), (4%/4h)

Para a obtenção de cada uma das amostras citadas dispersou-se cerca de 1g de galactomanana em 100ml de água destilada alcalinizada com NaOH a pH 12. Em seguida, adicionou-se trimetafosfato de sódio na quantidade suficiente para que perfizesse 30% da massa do polímero utilizado.

As amostras foram submetidas à agitação mecânica pelos períodos de tempo estabelecidos. Após o período de agitação estabelecido, foi adicionada solução de HCl 1 mol.L⁻¹ até se atingir pH 6, a fim de cessar completamente a reação. Em seguida, as amostras foram lavadas com misturas de água:álcool nas seguintes proporções 50:50 e 30:70 (v/v), por repetidas vezes, para retirada do excesso de base e fosfato livres e com acetona para obtenção do sistema particulado. As lavagens foram realizadas sobre papel em funil de Büchner em sistema de filtração a pressão reduzada. O produto final obtido foi seco em estufa de circulação forçada, pulverizado e tamisado em tamis malha n° 50. A metodologia descrita foi baseada no procedimento de reticulação de alta amilose com trimetafosfato de sódio proposto por CURY (2005) com algumas modificações.

3.3.5. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Foram preparadas pastilhas com as seguintes composições: galactomananas, trimetafosfato de sódio, galactomananas reticuladas nos diversos graus de reticulação e mistura física constituída de galactomanana e trimetafosfato de sódio. Para tanto, foi utilizado KBr como diluente e prensa hidráulica para obtenção das pastilhas. As condições de preparo de amostra foram de 3mg de amostra para 300mg de KBr; as pastilhas foram então submetidas à análise no espectrofotômetro infravermelho – Shimadzu 8300 no intervalo de 400-4500cm⁻¹.

3.3.6. Distribuição granulométrica

A análise de distribuição granulométrica das partículas de galactomananas reticuladas foi realizada em estereoscópio através da contagem de cerca de 800 partículas, com a digitalização de imagens em computador, utilizando o programa analisador de imagem *Leica Qwin*. Foi determinado o diâmetro de Feret a 0°, que corresponde à distância entre duas linhas verticais, paralelas e imaginárias, tangentes a uma partícula, sendo a medida, portanto, tomada na direção horizontal (STANIFORTH, 2005). Amostras de galactomananas não reticuladas e reticuladas nos diferentes graus foram cuidadosamente dispostas sobre lâminas, sem sobreposição de lamínula. As imagens das partículas das amostras reticuladas foram captadas com aumento de 80x.

3.3.7. Determinação do comportamento viscoelástico das amostras

O comportamento viscoelástico das amostras foi analisado por medidas reológicas, utilizando-se um reômetro de tensão controlada Carri Med CSL 100 com um dispositivo cone-placa de 40 mm de diâmetro e 2° de inclinação. A distância mínima entre a placa e o cone foi de 55 µm e a temperatura foi mantida constante a 25°C com o auxílio de um dispositivo “Peltier”. Todas as amostras foram mantidas em repouso por 3 min antes de iniciar as medidas. As propriedades reológicas desses sistemas foram avaliadas por ensaios de escoamento e solicitações oscilatórias.

No ensaio de escoamento, realizou-se um estudo da tensão de cisalhamento em função da velocidade de cisalhamento na região de 0 a 400 s^{-1} . Nos ensaios reológicos por solicitação oscilatória, as medidas foram realizadas em função da frequência (0,01–10 Hz) aplicando-se uma tensão oscilatória constante de 1 Pa (região de viscoelasticidade linear). As amostras foram preparadas na concentração de 1% (p/v) em água purificada.

3.3.8. Determinação do perfil de intumescimento

O perfil de intumescimento das galactomananas de Carolina e Flambouyant não reticuladas e reticuladas nos diferentes graus, em função do tempo, foi determinado em dispositivo de Enslin adaptado (Figura 8) (VOIGT 2000).

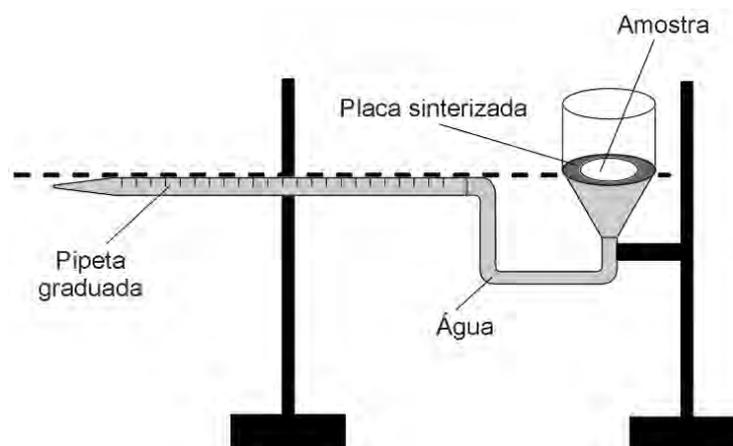


Figura 8: Dispositivo de Enslin para determinação da quantidade de água absorvida

Para realização deste ensaio foram utilizadas amostras de 0,05g de pó e o volume de solvente (tampão fosfato e suco gástrico simulado sem pepsina) absorvido pelas amostras de galactomananas não reticuladas e reticuladas foi medido nos intervalos de 5, 15, 30, 60, 90, e 120 min. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em % de solvente absorvidos em relação à massa inicial da amostra (CURY, 2005).

3.3.9. Estimativa da densidade de reticulação a partir das medidas de ligação com azul de metileno

Amostras reticuladas e não reticuladas de galactomananas Flambuoyant e de Carolina foram retiradas alicotas de aproximadamente 20mg e colocadas em tubos para centrifugação e adicionados 5ml de uma solução de azul de metileno na concentração de 5 μ g/ml; os tubos foram agitados por um minuto em um agitador de tubos vórtex e deixados em repouso e ao abrigo da luz por um período de 24, 48 e 72 horas.

Após este período, as amostras foram ultracentrifugadas a 35000 rpm ou 100000g por meia hora. Após a ultracentrifugação, foi coletado o sobrenadante das amostras e medidas a absorbância máxima em espectrofotometro UV/V em $\lambda=665\text{nm}$, cada amostra foi ensaiada em triplicata.

O cálculo da concentração do sobrenadante foi feito a partir da equação da reta: $y = 0,185341x + 0,024063$ (**r = 0,99864**).

Este método é uma adaptação do método proposto por GLICO-KABIR et al., 2000.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Reticulação das galactomananas.

As galactomananas de Flambouyant e Carolina foram reticuladas conforme o método descrito em 3.3.4. e foram obtidas as seguintes amostras identificadas na tabela abaixo.

Tabela 1: Amostras reticuladas com trimetafosfato de sódio alcalinizadas em diferentes concentrações de NaOH, e diferentes tempos de reação.

Amostra	Galactomanana. 1,0%	NaOH 2%	NaOH 4%
1	Carolina	0,5 h	
2	Carolina	1 h	
3	Carolina	2 h	
4	Carolina	4 h	
5	Carolina		0,5 h
6	Carolina		1 h
7	Carolina		2 h
8	Carolina		4 h
9	Flambouyant	0,5 h	
10	Flambouyant	1,0 h	
11	Flambouyant	2,0 h	
12	Flambouyant	4,0 h	
13	Flambouyant		0,5 h
14	Flambouyant		1,0 h
15	Flambouyant		2,0 h
16	Flambouyant		4,0 h

4.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A análise por espectroscopia na região do infravermelho permite observar e classificar algumas bandas relativas a vibrações dos grupos funcionais presentes no composto.

Os espectros na região do infravermelho das galactomananas isoladas *Adenantha pavonina* (Carolina) e de *Delonix regia* (Flambuoyant) e reticuladas; do trimetafosfato de sódio, assim como das suas misturas físicas são mostrados nas figuras de 9 a 19.

A figura 9 mostra o espectro na região do infravermelho da galactomanana da *Adenantha pavonina* (Carolina). A banda em 820 cm^{-1} refere-se à unidade de ligação α -D-galactopiranoose, a banda em 870 cm^{-1} refere-se à unidade de ligação β -D-manopiranoose (FIGUEIRÓ, et al.,2004; KAPOOR, et al., 1971), a banda na região de 890 a 920 cm^{-1} pode ser atribuída a deformação C1—H (WANG e SOMASUNDARAN, 2006), a banda em 974 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial (C—OH) do C-4 (FIGUEIRÓ, et al.,2004). A banda em 1027 cm^{-1} pode ser relacionada à torção vibracional do CH_2 e a banda em 1076 cm^{-1} pode ser devida ao estiramento do álcool primário — CH_2OH (WANG e SOMASUNDARAN, 2006). Já a banda em 1160 cm^{-1} pode ser atribuída à ligação do módulo tensão angular vibracional $\delta(\text{C—O})$ devido ao anel de piranoose (FIGUEIRÓ, et al.,2004). Em adição, a região de 1350 a 1450 cm^{-1} é atribuída a deformações simétricas dos grupos CH_2 e COH (WANG e SOMASUNDARAN, 2006). Já as bandas referentes ao estiramento do anel de galactose e manose aparecem de 1640 a 1657 cm^{-1} (WANG e SOMASUNDARAN, 2006). A banda em 2930 pode ser referida ao estiramento C-H do grupamento CH_2 e a banda de 3448 cm^{-1} ao estiramento vibracional do grupamento O-H.

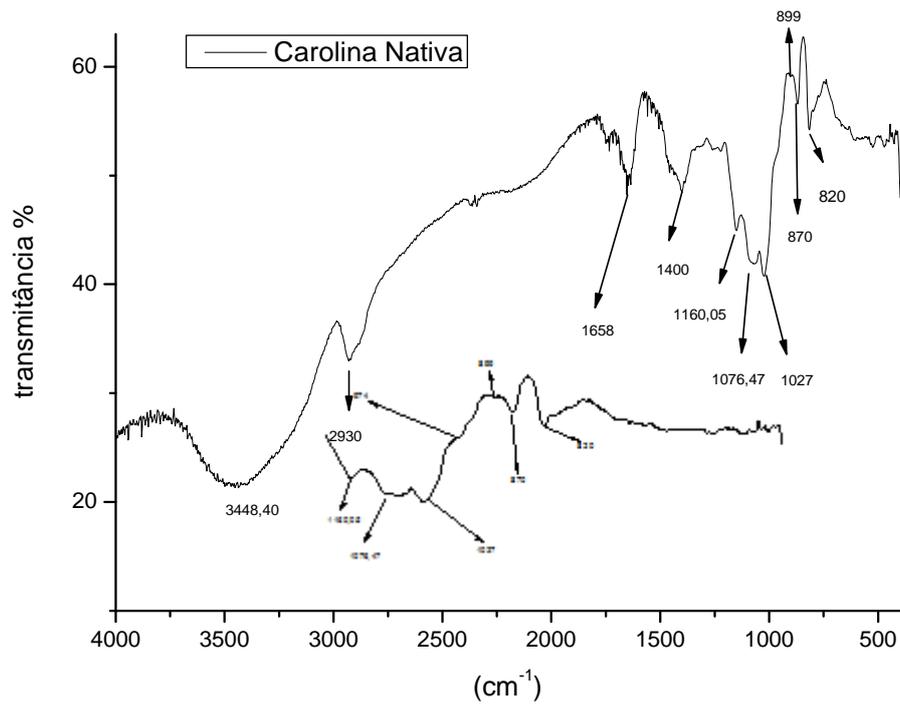


Figura 9: Espectro na região do infravermelho da galactomanana *Adenantha pavonina* (Carolina) e sua ampliação na região de 1400 a 400 cm^{-1} .

O espectro da galactomanana de *Delonix regia* (Flambuoyant), Figura 11, pode ser interpretado da mesma maneira do que a da Carolina, pois ambos são galactomananas de estruturas semelhantes e da mesma família de leguminosa, diferenciando-se somente na razão manose:galactose. Temos na figura 10, a estrutura molecular esperada para as galactomananas.

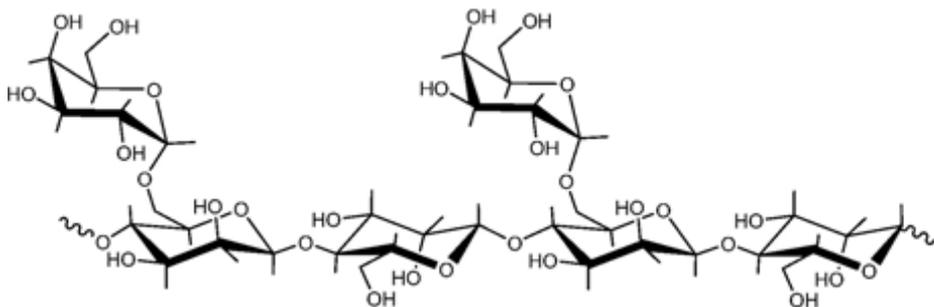


Figura 10: Estrutura esperada para as galactomananas (COVIELLO, et al., 2007).

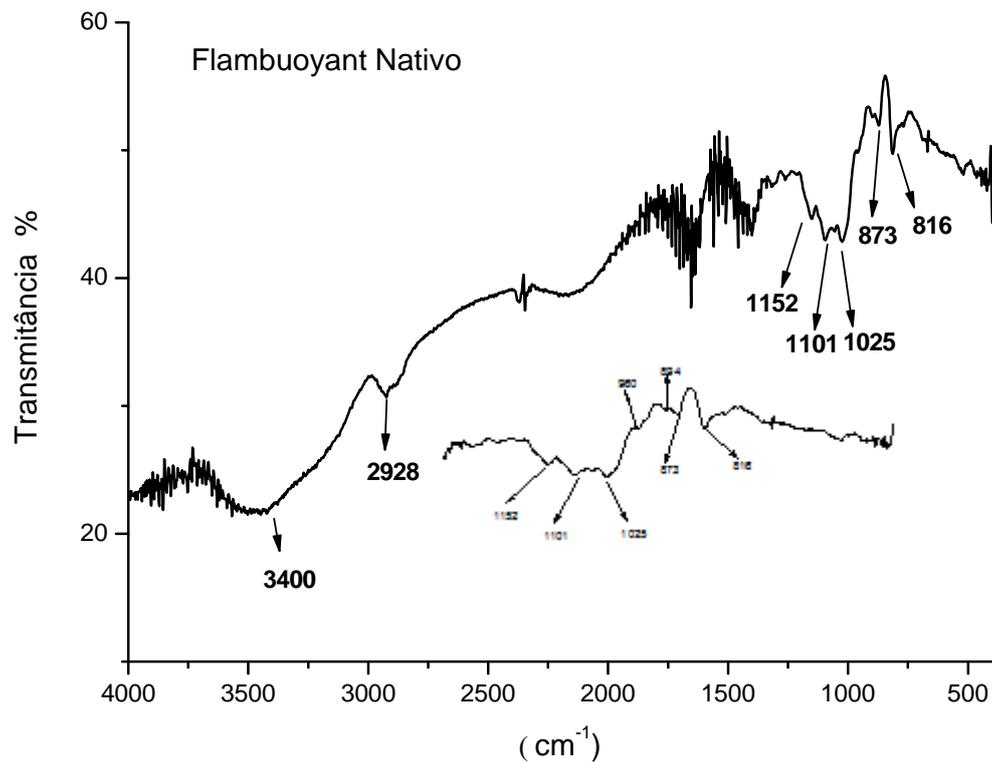


Figura 11: Espectro na região do infravermelho da galactomanana de *Delonix regia* (Flambouyant) e sua ampliação na região de 1400 a 400 cm^{-1}

A Figura 12 mostra o espectro na região do infravermelho do reticulante trimetafosfato de sódio, cuja estrutura é mostrada na figura 13. As bandas na região de 474 e 521 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento vibracional fora do plano das pontes do fósforo, $\delta(\text{O—P—O})$ e /ou $\delta(\text{P=O})$ (MOUSTAFA e EL-EGILI, 1998). As bandas de baixa intensidade que aparecem na região de 618 a 688 cm^{-1} são atribuídos ao estiramento simétrico do grupo (O—P—O) (DAS, et al., 2002). As bandas na região de 750 a 780 cm^{-1} podem ser referentes ao fosfato cíclico ou ao estiramento simétrico (P—O—P) (MOUSTAFA e EL-EGILI, 1998, DAS, et al., 2002). A forte banda na região de 930 a 1030 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento vibracional assimétrico (P—O—P) ligado ao pequeno anel metafosfato como ciclotrifosfato $[\text{P}_3\text{O}_9^{3-}]$ (MOUSTAFA e EL-EGILI, 1998). As bandas na região de 1100 a 1130 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento assimétrico do grupo (PO_2^-) (MOUSTAFA e EL-EGILI, 1998). As bandas na região de 1160 a 1200 cm^{-1} podem ser referidos ao estiramento simétrico da ligação (P=O) e as bandas de 1260 a 1340 são referidos ao estiramento assimétrico da ligação (P=O) (MOUSTAFA e EL-EGILI, 1998).

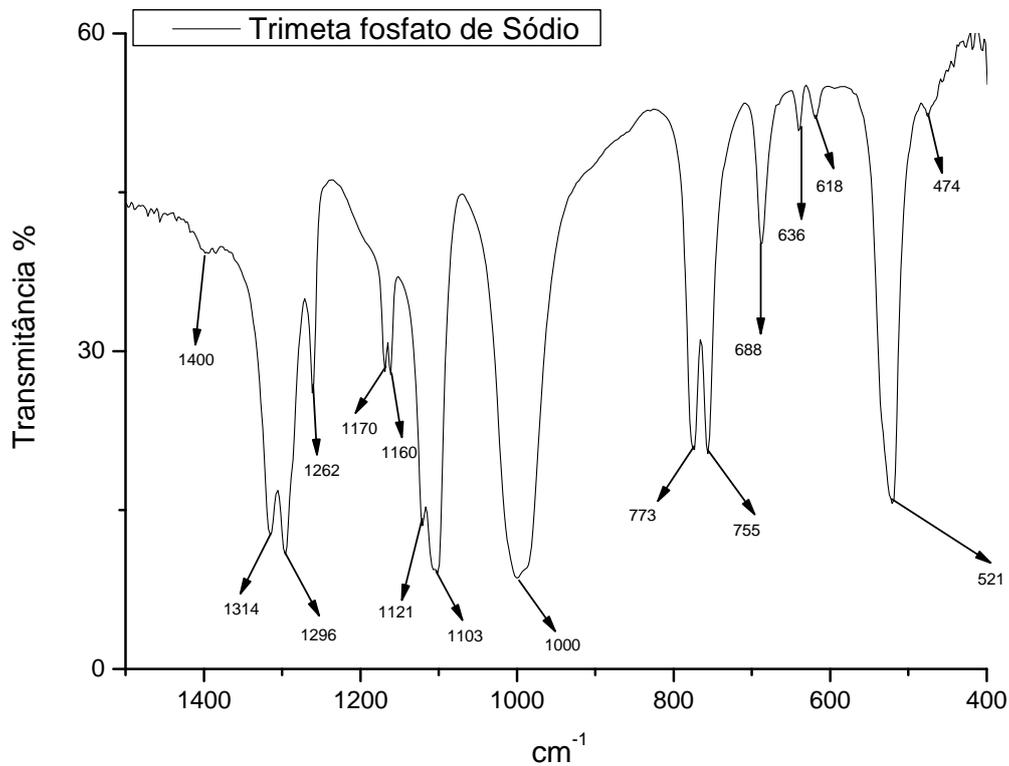


Figura 12: Espectro na região do infravermelho do trimetafosfato de sódio.

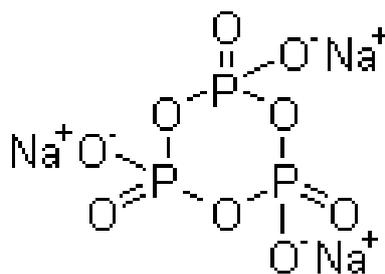


Figura 13: Estrutura do trimetafosfato de sódio (GLIKO—KABIR et al., 2000).

A Figura 14 mostra o espectro na região do infravermelho da mistura física da galactomanana de Carolina com o trimetafosfato de sódio. As bandas que são características do trimetafosfato de sódio aparecem de forma sobreposta em relação os da galactomanana de Carolina. As bandas 474 a 520 cm^{-1} podem ser atribuídas a estiramento vibracional fora do plano das pontes

do fósforo, (O—P—O) e /ou (P=O), as bandas na região de 750 a 780 cm^{-1} podem ser referentes ao fosfato cíclico ou ao estiramento simétrico (P—O—P), a banda em 1000 cm^{-1} é referente ao estiramento vibracional assimétrico do grupo (P—O—P), as bandas de 1100 a 1130 cm^{-1} podem se referir ao estiramento assimétrico do grupo (PO_2^-), as bandas de 1160 a 1200 cm^{-1} podem ser do estiramento simétrico do grupo (P=O) e as bandas 1200 a 1340 cm^{-1} podem ser referentes ao (P=O). Já a banda em 1644 é referente ao estiramento do anel de galactose e manose, e a banda em 3463 cm^{-1} é referente ao estiramento vibracional do grupo OH livres da galactomanana.

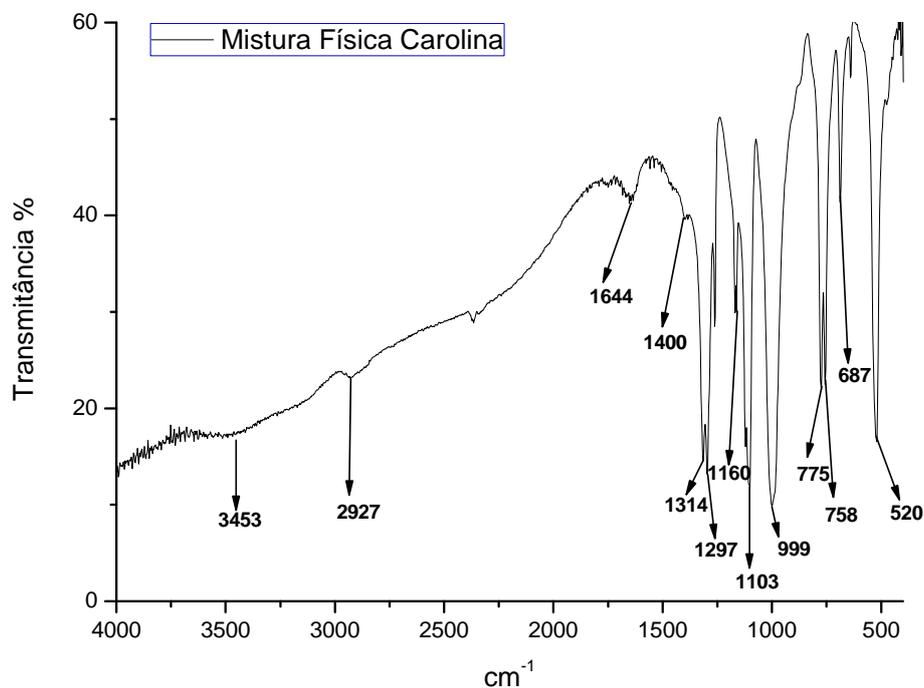


Figura 14: Espectro na região do infravermelho da mistura física da galactomanana de *Adenantha pavonina* (Carolina) com o trimetafosfato de sódio.

A Figura 15 mostra o espectro na região do infravermelho da mistura física da galactomanana de *Delonix regia* (Flambuoyant) com o trimetafosfato de sódio. Podemos perceber que este espectro é muito semelhante ao da galactomanana de Carolina pois tanto as bandas características da galactomanana como do reticulante aparecem em comprimentos de onda muito próximos aos valores apresentados na figura 14.

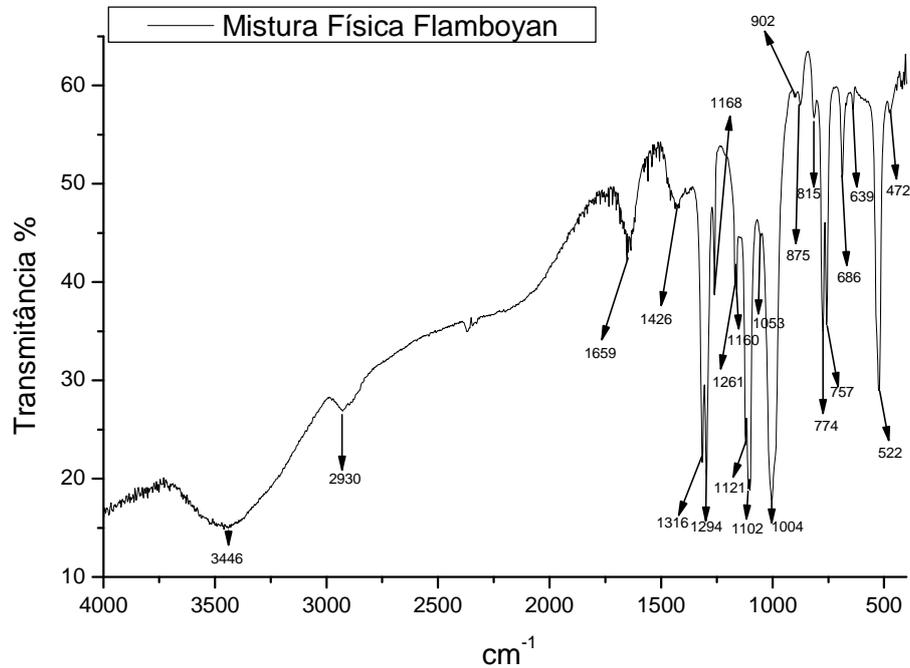


Figura 15: Espectro vibracional na região do infravermelho da mistura física da galactomanana de *Delonix regia* (Flambuoyant) com o trimetafosfato de sódio.

A figura 16 mostra o espectro na região do infravermelho da galactomanana de Carolina reticulada com trimetafosfato de sódio e alcalinizada com NaOH 2%, nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas e de galactomanana de Carolina não reticulada.

Pode ser observado na figura 16 que tanto as bandas características da galactomanana como do reticulante estão em comprimentos de onda semelhantes, sobrepostos na região de 400 a 1400 cm^{-1} . Portanto, com base apenas nos espectros na região do infravermelho, não se pode afirmar que houve reticulação, havendo necessidade de se utilizar outras técnicas analíticas para comprovar a reticulação do polímero.

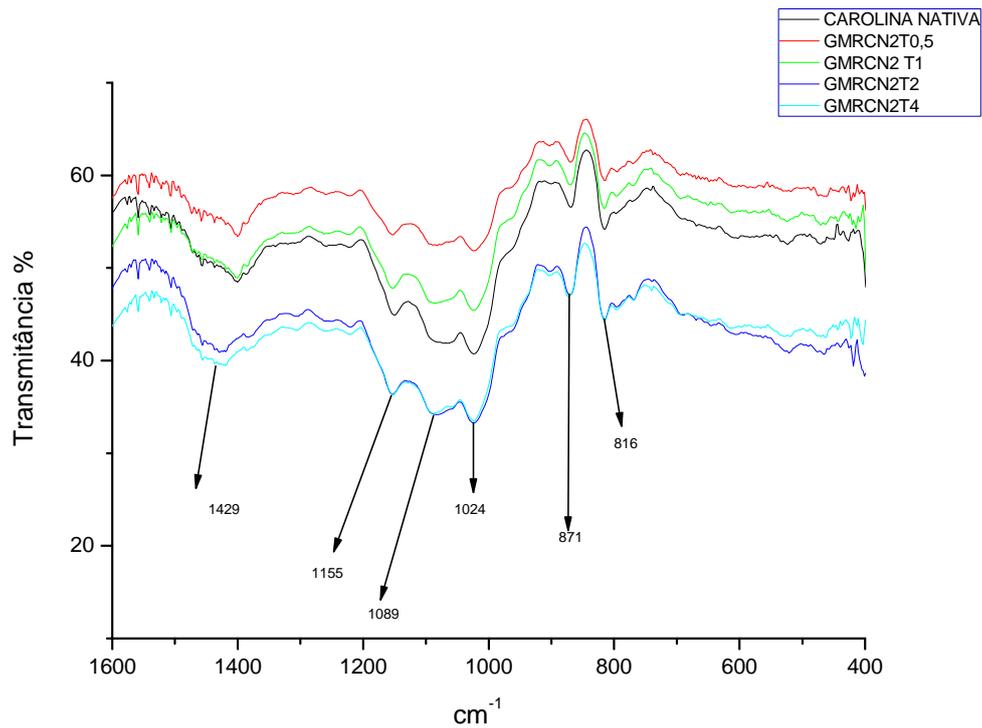


Figura 16: Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Carolina nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 2% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas.

A figura 17 mostra o espectro na região do infravermelho da galactomanana de Carolina nativa e da reticulada com trimetafosfato e alcalinizada com NaOH 4% tempos de reação de 30min., 1 hora, 2 horas e 4 horas. Também podemos perceber que não houve mudança no espectro da galactomanana de Carolina reticulada com trimetafosfato de sódio alcalinizada com NaOH 4% em relação ao polímero nativo e ao reticulado, alcalinizado com NaOH 2%. Neste caso também não se pode afirmar que houve reticulação.

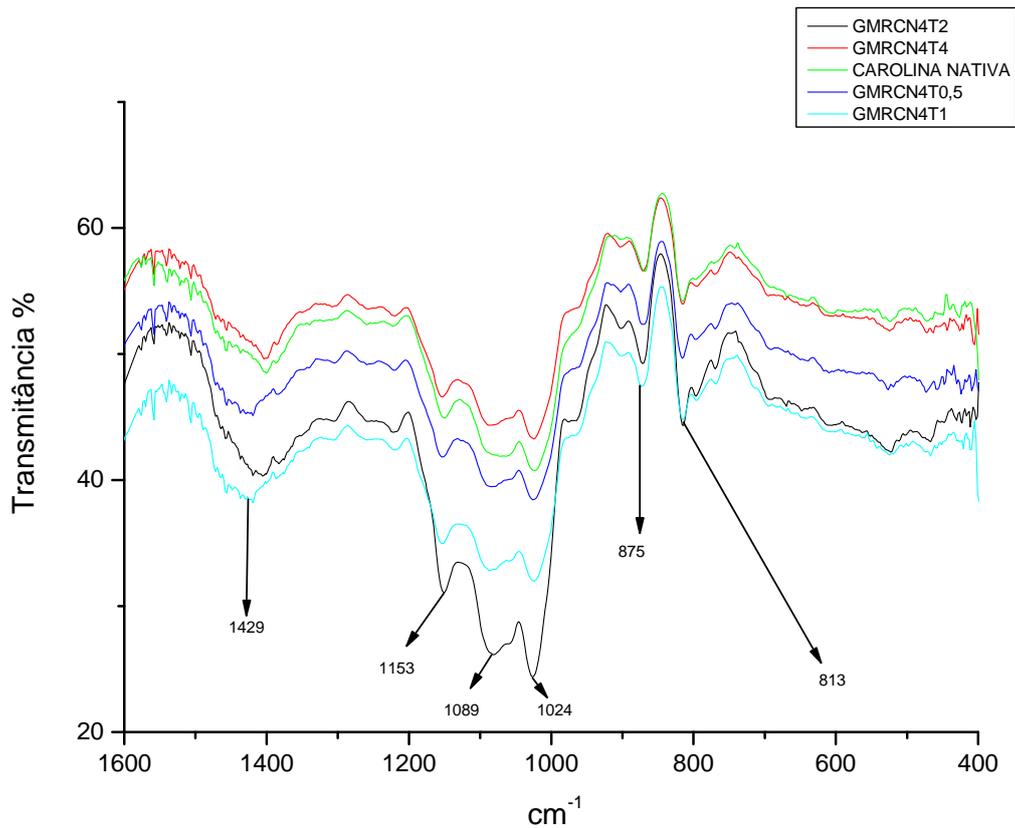


Figura 17: Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Carolina nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 4% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas.

A figura 18 mostra o espectro na região do infravermelho da galactomanana de *Delonix regia* (Flambuoyant) nativa e reticulada com trimetafosfato de sódio e com 2 % de NaOH nos tempos de reação de 30min, 1 hora 2 horas e 4horas.

Podemos perceber que a galactomanana de Flambuoyant teve o mesmo comportamento que da Carolina, somente apresentando as bandas características do polímero sem a presença das bandas do reticulante; isso significa que também não podemos afirmar somente por esta técnica se houve um processo de reticulação do polímero, necessitando o auxílio de outras técnicas analíticas.

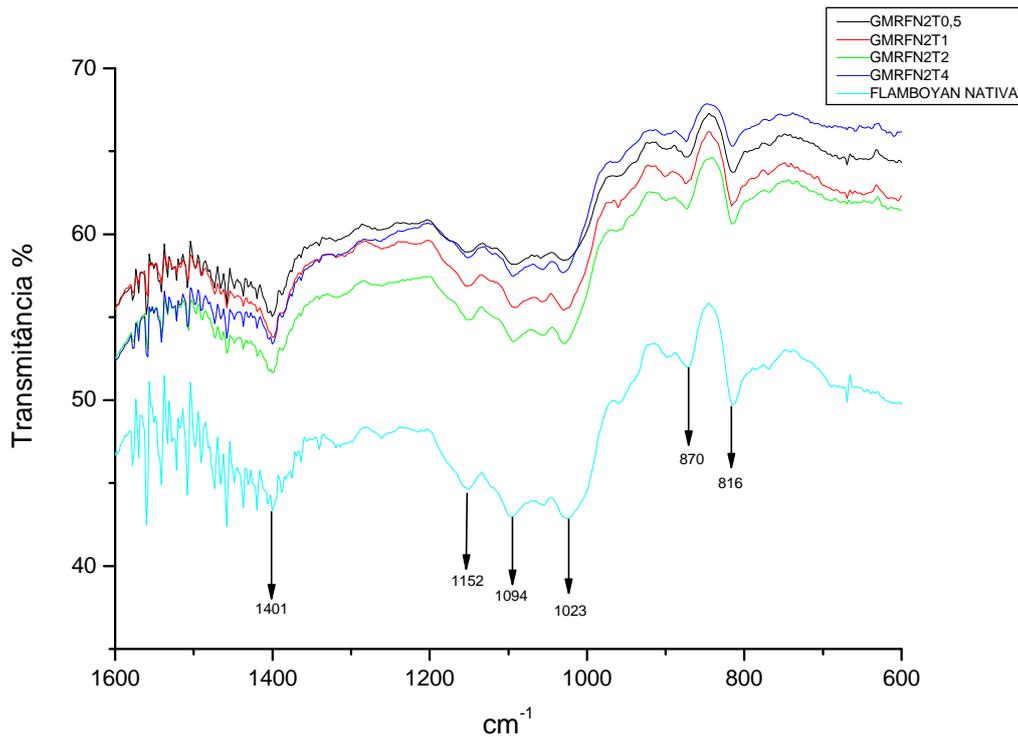


Figura 18: Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Flambuoyant nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 2% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas.

Figura 19 mostra o espectro na região do infravermelho do Flambuoyant nativo e reticulado com trimetafosfato de sódio e com 4 % de NaOH também nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas.

Também podemos verificar o mesmo comportamento do espectro da galactomanana Flambuoyant reticulada com trimetafosfato de sódio e alcalinizada com NaOH 2 %, sendo também a impossibilidade de afirmar por esta técnica se houve a reticulação do polímero, portanto também havendo necessidade do auxílio de outras técnicas analíticas.

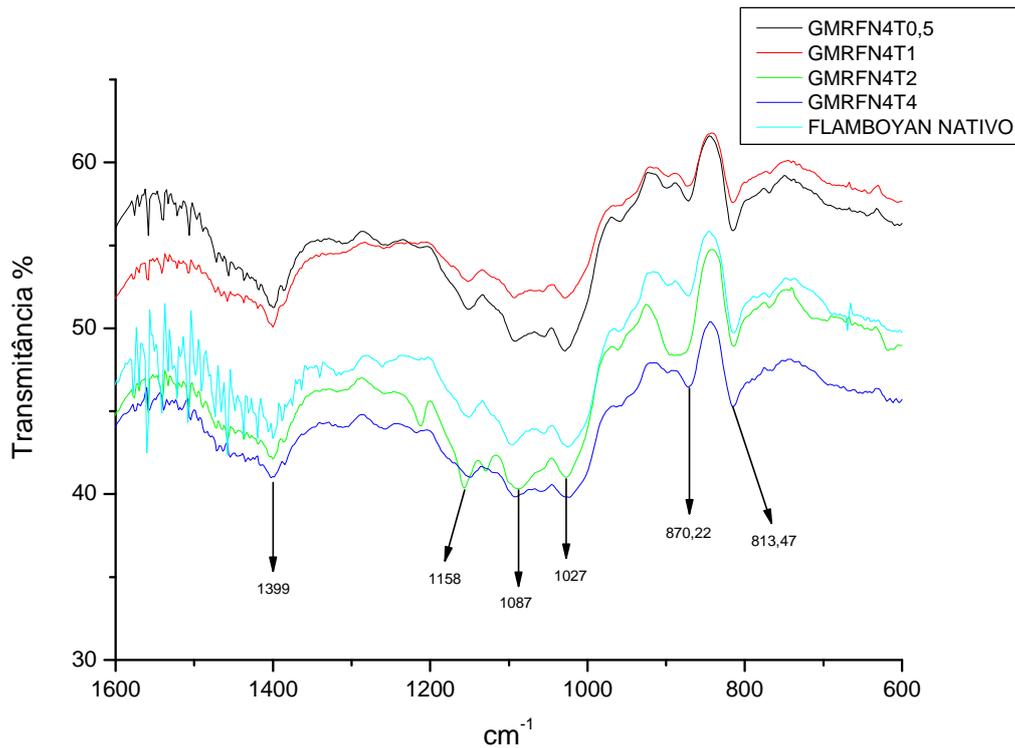


Figura 19: Espectro vibracional na região do infravermelho da galactomanana de Flambuoyant nativa e da reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 4% nos tempos de reação de 30min, 1 hora, 2 horas e 4 horas.

4.3. Determinação do teor de umidade

A água desempenha um papel muito importante nas propriedades físicas e funcionais dos polissacarídeos. A maioria dos polissacarídeos possui unidades glicosídicas que, em média apresentam três grupamentos hidroxila. Desse modo, as moléculas dos polissacarídeos são polióis, em que cada grupo hidroxila pode formar pontes de hidrogênio com uma ou mais moléculas de água. Assim possuem uma forte tendência para aprisionar moléculas de água e capacidade de se hidratar rapidamente. Os polissacarídeos naturais podem apresentar um teor de água na faixa de 8-12% (WHISTLER e MILLER, 1997).

As galactomananas de Carolina e Flambuoyant foram colocadas no analisador de umidade e o resultado foi dado em % de umidade. A média do teor de umidade encontrada para a galactomanana de Flambuoyant foi de $7,15 \pm 0,46\%$, para a Carolina $5,9 \pm 0,21\%$, estando um pouco abaixo dos limites citados por (WHISTLER e MILLER, 1997).

4.4. Determinação do teor protéico

A determinação de nitrogênio representa uma forma de estimar o conteúdo de proteína nas amostras. A técnica de determinação de nitrogênio introduzida pelo cientista dinamarquês Kjeldahl em 1883 tem sofrido várias mudanças, mas o princípio tem perdurado.

Os valores de proteína calculados pela fórmula descrita em 3.3.3.1.2 para as duas galactomananas foram de 2,53% para Flambuoyant e 2,02% para Carolina).

Estes valores ressaltam uma contaminação das gomas com as proteínas do endosperma, indicando que a extração das amostras pelo tratamento utilizado foi parcial. A literatura indica valores superiores de proteínas em outras gomas, como na goma guar que é de 5 a 6% do peso seco da goma processada (WHISTLER e HYMOWITZ, 1979) e de 3 a 4% para a goma alfarroba (GLICKSMAN, 1986). O processo de extração da goma das sementes mostrou-se eficiente, face ao valor do teor de proteína bastante inferior ao relatado na literatura para outras gomas.

4.5. Determinação do comportamento viscoelástico das amostras.

A reologia consiste no estudo do escoamento e deformação do material em estudo quando submetido a uma tensão (SCHRAMM, 2006). A técnica é aplicável na caracterização dos materiais, pois o comportamento dos fluidos está relacionado com o tipo e grau de organização dos sistemas. Os resultados do estudo do comportamento reológico das galactomananas reticuladas obtidas a partir das sementes de Carolina e do Flambuoyant são apresentados a seguir. As galactomananas foram reticuladas em meio aquoso alcalinizado com NaOH, utilizando como agente reticulante o trimetafosfato de sódio. As concentrações de base utilizadas foram de 2% e 4% utilizando diversos tempos de reação (0,5 h, 1h, 2h e 4h).

O tempo zero foi adotado para as galactomananas sem reticulação. O comportamento reológico das galactomananas em meio de tampão fosfato pH 7,4 e de suco gástrico artificial sem enzimas pH 1,2 também foi estudado.

4.5.1. Carolina

A figura 20 apresenta a variação da tensão de cisalhamento em função da velocidade de cisalhamento para as galactomananas reticuladas com trimetafosfato de sódio, obtidas a partir da Carolina, utilizando NaOH 2% (a) e 4% (b) como meio aquoso básico para reticulação nos tempos de 0,5 h, 1h, 2h e 4h. A galactomanana sem reticulação foi usada como referência.

A figura 20 mostra que os reogramas são característicos de sistemas com comportamento não-Newtoniano pseudoplástico, os quais se caracterizam por uma mudança na viscosidade com o aumento da velocidade de cisalhamento. Conforme a tensão de cisalhamento aumenta, as partículas alinham-se na direção de escoamento do fluido, reduzindo a resistência interna desses materiais para cada tensão de cisalhamento sucessiva. Assim, pode-se dizer que o fluido “afina” sob ação da tensão de cisalhamento.

Para as duas concentrações de NaOH utilizadas, observa-se o aumento da viscosidade em relação à galactomanana não reticulada, devido ao aumento da tensão de cisalhamento suportada para uma mesma velocidade de cisalhamento. Estes resultados sugerem que as reações de reticulação alteraram as propriedades reológicas do sistema.

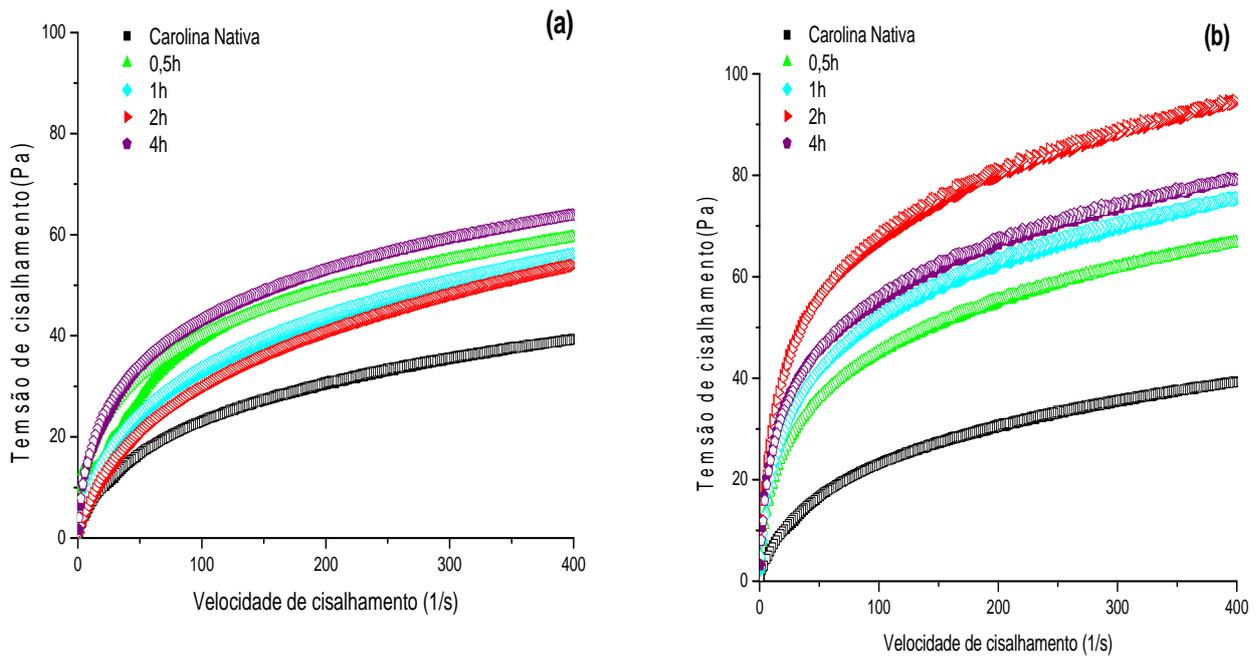


Figura 20. Comportamento reológico de galactomananas reticuladas obtidas a partir da Carolina em meio aquoso básico de NaOH 2% (a) e 4% (b) para reticulação nos tempos de 0,5h, 1h, 2h e 4h. A galactomanana sem reticulação foi usada como referência.

O ensaio oscilatório é a tensão de cisalhamento que varia como uma onda senoidal e a relação entre as ondas de tensão aplicada e a deformação resultante fornece informações sobre os tipos de resposta (elástica ou viscosa) do sistema. A partir da razão destas duas grandezas, obtém-se o módulo elástico complexo G^* , sendo o componente real do módulo elástico, G' , denominado de módulo de armazenagem porque representa a energia armazenada durante a deformação à tensão crescente e liberada quando a tensão é relaxada. A parte imaginária do módulo, G'' , deve-se ao elemento viscoso que não pode armazenar energia, porque a tensão aplicada é dissipada na forma de deformação irreversível. Deste modo, G'' é denominado módulo de perda e leva em conta esta dissipação de energia (SCHRAMM, 2006).

Figura 21 apresenta a evolução temporal dos módulos de armazenagem G' e de perda G'' dada em função da frequência aplicada para as galactomananas sem reticulação. Nota-se a presença de G' , mas com valores bem inferiores a G'' em todo o intervalo de frequência estudado, sugerindo que essa amostra comporta-se como um líquido essencialmente viscoso constituído de uma rede fracamente estruturada.

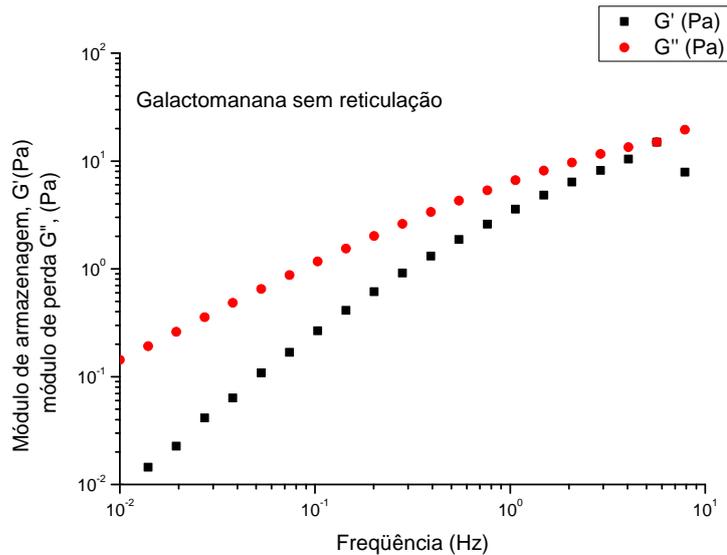


Figura 21: Evolução dos módulos de armazenamento G' e de perda G'' da galactomanana sem reticulação extraída da Carolina.

A Figura 22 mostra a evolução temporal de G' e G'' para as galactomananas reticuladas em meio alcalino de NaOH 2% com diferentes tempos de reação utilizando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante. Conforme mostra a figura, os valores de G' são superiores em relação aos valores da amostra sem reticulação para todos os tempos (na ordem de 10^{-1} Pa contra 10^{-2} Pa da galactomanana sem reticulação). Isso significa que o número de interações elásticas aumentam quando o agente reticulante é adicionado, porém a sua quantidade não é suficiente para caracterizar o sistema como um sólido com características predominantemente elásticas, pois $G'' > G'$. Assim, pode-se sugerir que o processo de reticulação favorece a formação de uma rede interconectada, mas pouco densamente.

A Figura 22 também mostra, para todos os tempos de reticulação, que $G' < G''$ a frequências (f) inferiores a aproximadamente 1 Hz e acima disto, $G' > G''$. Estes resultados indicam que as amostras para $f < 1$ Hz se comportam como um líquido viscoso e para $f > 1$ Hz elas apresentam caráter elástico mais pronunciado, indicando que o sistema se comporta como um sólido elástico. Provavelmente, frequências maiores favorecem uma melhor interação entre a estrutura das galactomananas e consolidam a formação de uma rede estrutural interconectada.

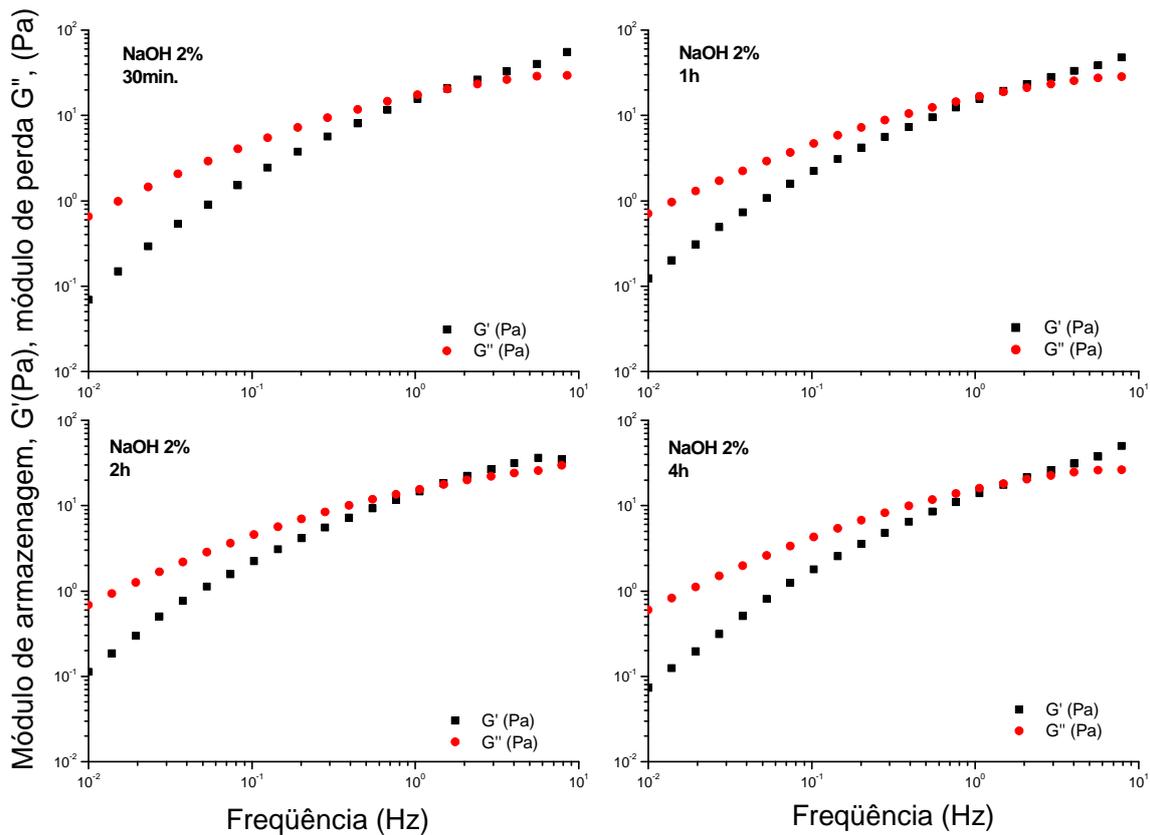


Figura 22: Evolução temporal dos módulos de armazenagem G' e de perda G'' da galactomanana reticulada de Carolina em meio alcalino (NaOH 2%) para diversos tempos de reação utilizando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante.

A Figura 23 mostra a evolução temporal de G' e G'' para as galactomananas reticuladas em meio alcalino de NaOH 4% com diferentes tempos de reação utilizando o trimetafosfato de sódio como agente reticulante. Observa-se um comportamento semelhante ao das amostras reticuladas em meio alcalino de NaOH 2%: os valores de G' são maiores em relação a galactomanana sem reticulação (Figura 21) e $G'' > G'$ para frequências inferiores a aproximadamente 1 Hz, indicando que o sistema se comporta como um líquido viscoso, mas com a presença de uma rede fracamente estruturada. Assim como para NaOH 2%, o processo de reticulação favorece a formação de uma rede interconectada.

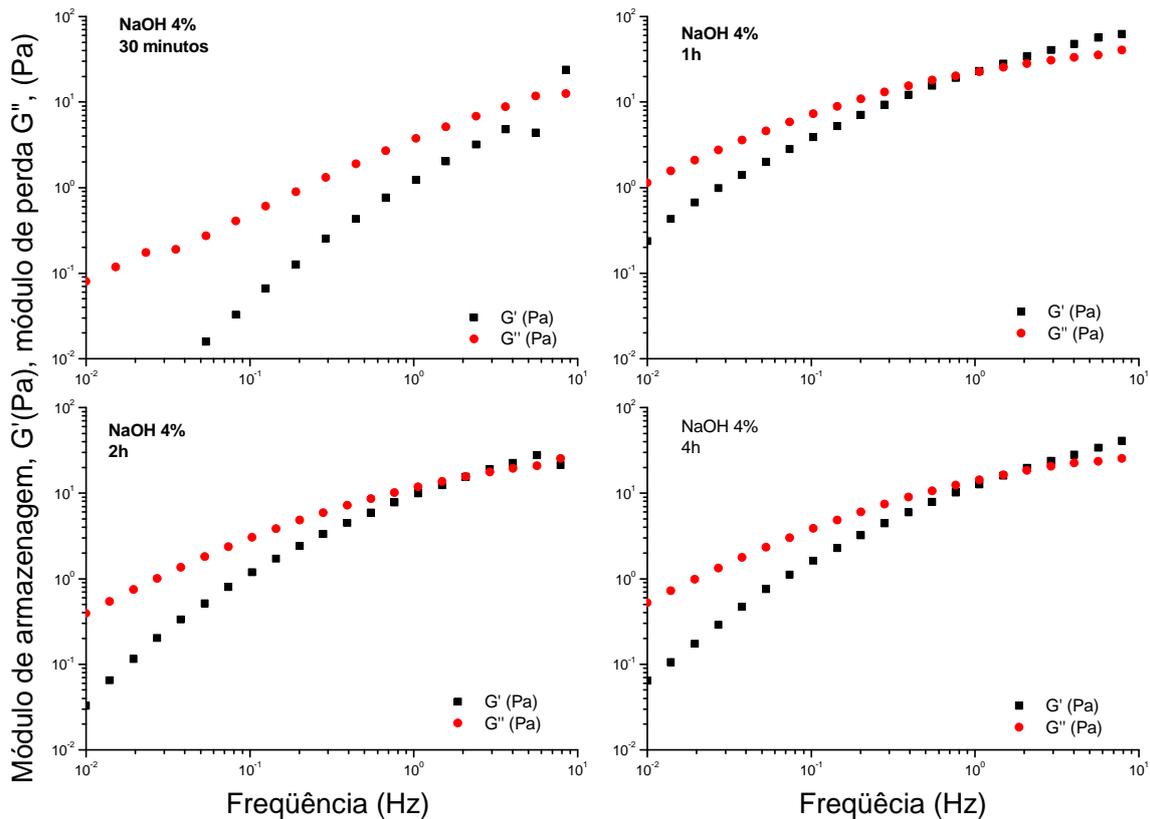


Figura 23: Evolução temporal dos módulos de armazenagem G' e de perda G'' da galactomanana reticulada de Carolina em meio alcalino (NaOH 4%) para diversos tempos de reação.

Para confirmar a presença e estimar o grau de reticulação das amostras preparadas com NaOH a 2% e a 4%, comparou-se os valores de G' medidos a 1Hz para todas as amostras em função do tempo de reticulação. Estes resultados são apresentados na figura 24. Adotou-se como 0 o valor de G' para a galactomanana sem reticulação.

A reticulação da galactomanana pode ser atribuída ao aumento significativo de G' da amostra pura até meia hora de reação. Nota-se também que com o aumento da concentração de NaOH (4%), há um maior grau de reticulação. Entretanto, após meia hora, para amostras preparadas com NaOH 2%, G' permanece invariável e apresenta uma tendência à redução dos valores, enquanto para as amostras preparadas com NaOH 4%, observa-se uma nítida diminuição de G' conforme aumenta o tempo de reação. Estes resultados revelam que com o aumento do tempo de

reação há uma tendência de uma diminuição do grau de reticulação das galactomananas. Este comportamento pode ser devido a reações de hidrólise favorecidas pelo meio alcalino, que são ainda mais pronunciadas com o aumento da concentração de NaOH, indicando a forte influência do meio alcalino sobre a estruturação do sistema e no processo de reticulação esses resultados são semelhantes ao encontrado por LACK e colaboradores (2007). Esta forte influência do meio alcalino pode ser observada também sobre as propriedades reológicas do sistema.

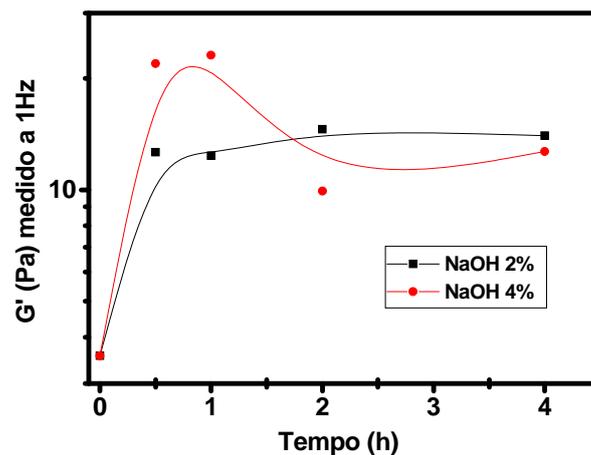


Figura 24: Evolução dos módulos de armazenamento G' em função do tempo de reação de reticulação com trimetafosfato de sódio para as amostras preparadas com NaOH 2% e 4%. Os valores de G' foram obtidos a uma frequência de 1Hz. Como referência, adotou-se a Carolina nativa como tempo 0.

A Figura 25 mostra a variação da viscosidade complexa em função da frequência para a Carolina pura em vários tempos de reação de reticulação para amostras preparadas em meio alcalino com NaOH 4%. Observa-se que a galactomanana sem reticulação apresenta a menor viscosidade. Conforme o processo de reticulação inicia, há um aumento abrupto da viscosidade até 1h de reação e, após este tempo, a viscosidade começa a diminuir consideravelmente. Estes resultados confirmam que a maior concentração de NaOH ou seja um pH mais elevado, promove um processo de reticulação mais fácil, ao mesmo tempo em que promove reações de hidrólise que provocam a diminuição da viscosidade e do grau de reticulação. O mesmo comportamento é observado para a Carolina NaOH 2%.

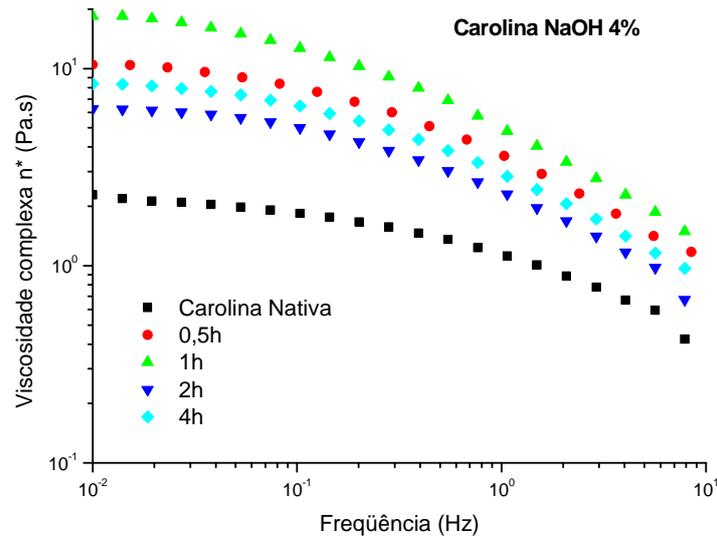


Figura 25: Variação da viscosidade complexa em função da frequência em vários tempos de reação de reticulação com trimetafosfato de sódio para amostras preparadas em meio alcalino com NaOH 4%.

Com a finalidade de prever se estes sistemas possuem potencial para serem utilizados como sistemas transportadores de fármacos cólon-específicos, as propriedades reológicas das galactomananas reticuladas obtidas a partir da Carolina foram analisadas em meios que simulassem as condições encontradas no trato gastrintestinal.

A Figura 26 mostra a evolução de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação nas concentrações a) 2% e b) 4% de NaOH das galactomananas em meio de suco gástrico simulado. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante.

Nota-se que a galactomanana sem o agente reticulante (0 h), praticamente não apresenta valores de G' ; os pontos dispersos que aparecem para $f > 1\text{Hz}$ indicam que G' apresenta valores muito baixos e que não podem ser medidos pelo reômetro. Enquanto isso, G'' é predominante em todo intervalo de frequência estudado. Estes resultados indicam que a galactomanana não reticulada somente apresenta a característica de um líquido viscoso.

Quando as galactomananas reticuladas são analisadas em meio de suco gástrico simulado, a presença de G' é observada para o todo intervalo de frequência estudado, independente do tempo e da concentração de NaOH. Entretanto, $G' < G''$, indicando que, apesar da presença de reticulações na estrutura, a quantidade não é suficiente para caracterizar o sistema como um sólido elástico, o que sugere que estas amostras possuem o comportamento de um líquido altamente viscoso. Estes

resultados são similares aos obtidos com a galactomanana reticulada em meio aquoso (Figuras 22 e 23).

Outro aspecto interessante é que as amostras preparadas com NaOH 2% apresentam valores de G' e G'' praticamente iguais para todos os tempos de reticulação no intervalo de frequência estudado. Estes resultados sugerem que, para esta concentração de base, não há variações estruturais marcantes, seja qual for o tempo de reticulação. Já para as amostras preparadas com NaOH 4% observam-se variações entre os diferentes tempos, revelando que esta concentração de base exerce forte influência sobre o tempo de reticulação na estrutura da galactomanana.

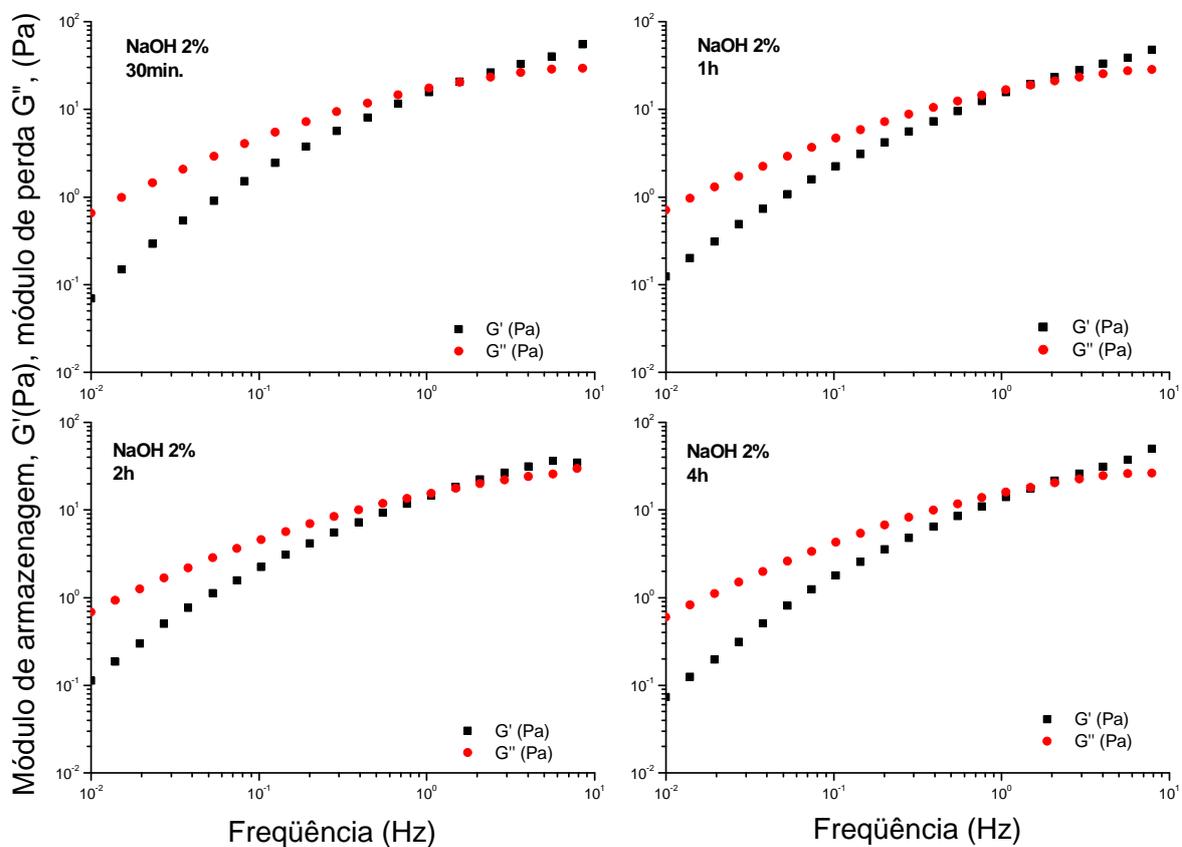


Figura 26: Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Carolina preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% em meio de suco gástrico simulado. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio).

Estudou-se também o comportamento reológico das galactomananas reticuladas em tampão fosfato simulando o meio entérico. A Figura 27 mostra a evolução de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas e nas concentrações de a) 2%, b) 4% de NaOH, em meio de tampão fosfato. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante.

Semelhante ao estudo anterior, G' aparece apenas nas amostras reticuladas e com valores inferiores a G'' . Estes resultados revelam que a quantidade de conexões entre as cadeias não é suficiente para caracterizar um sólido elástico.

Diferentemente das amostras em meio de suco gástrico, a concentração de NaOH 2% exerce influência sobre as amostras em meio de tampão fosfato. Como podemos observar na Figura 27,

ambas as concentrações apresentam variações de G' e G'' com o tempo de reticulação, apesar desta característica ser mais evidente nas amostras em NaOH 4%, confirmando que o aumento da concentração de base favorece a formação de reticulações na estrutura da galactomanana.

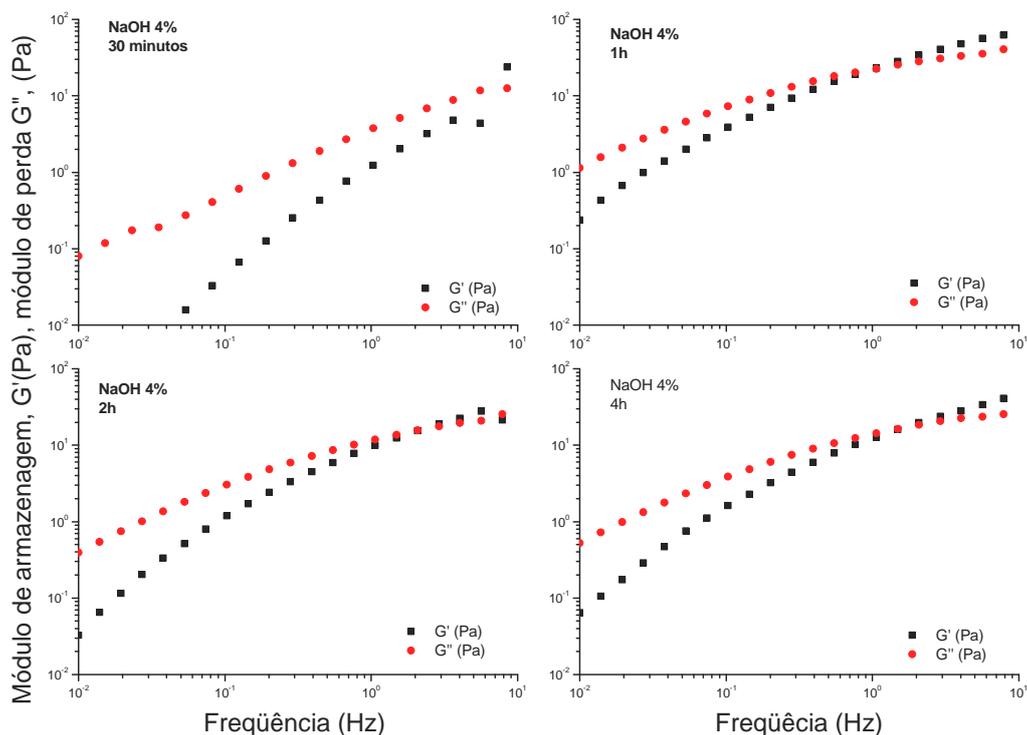


Figura 27: Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% em tampão fosfato simulando o meio entérico. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio).

4.5.2. Flambouyant

O comportamento reológico de galactomananas obtidas a partir do Flambouyant também foi estudado por ensaios oscilatórios. A Figura 28 mostra a evolução de G' e G'' em função da frequência para galactomananas reticuladas com trimetafosfato de sódio em meio aquoso alcalino de NaOH, a) 2% e b) 4% para diversos tempos de reticulação. O tempo 0h foi adotado para a galactomanana sem reticulação. Podemos observar que, assim como no processo de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Carolina, a utilização de trimetafosfato de sódio como agente reticulante também é eficiente para aquelas obtidas a partir do Flambouyant. Tanto em NaOH 2 ou 4%, os valores de G' das amostras reticuladas (0,5, 1, 2 e 4 h) em relação à não reticulada (0h) é bem superior, indicando a formação de uma rede estruturada. Diferentemente da Carolina, as galactomananas reticuladas e não reticuladas apresentam valores de $G' > G''$. Estes resultados revelam a predominância do caráter elástico para as galactomananas obtidas a partir do Flambouyant, independente da concentração de NaOH do meio. Com isso, obtêm-se amostras mais reticuladas a partir de galactomananas extraídas do Flambouyant.

Outro aspecto interessante é a invariabilidade dos módulos de G' e G'' com o aumento da concentração do NaOH, indicando que para estas concentrações de base, não houve alteração significativa na rede formada apresentando-se estável e nem geração de novas reticulações com o tempo. Comportamento semelhante foi observado para a galactomanana de Carolina reticulada em meio de suco gástrico simulado (Figura 26).

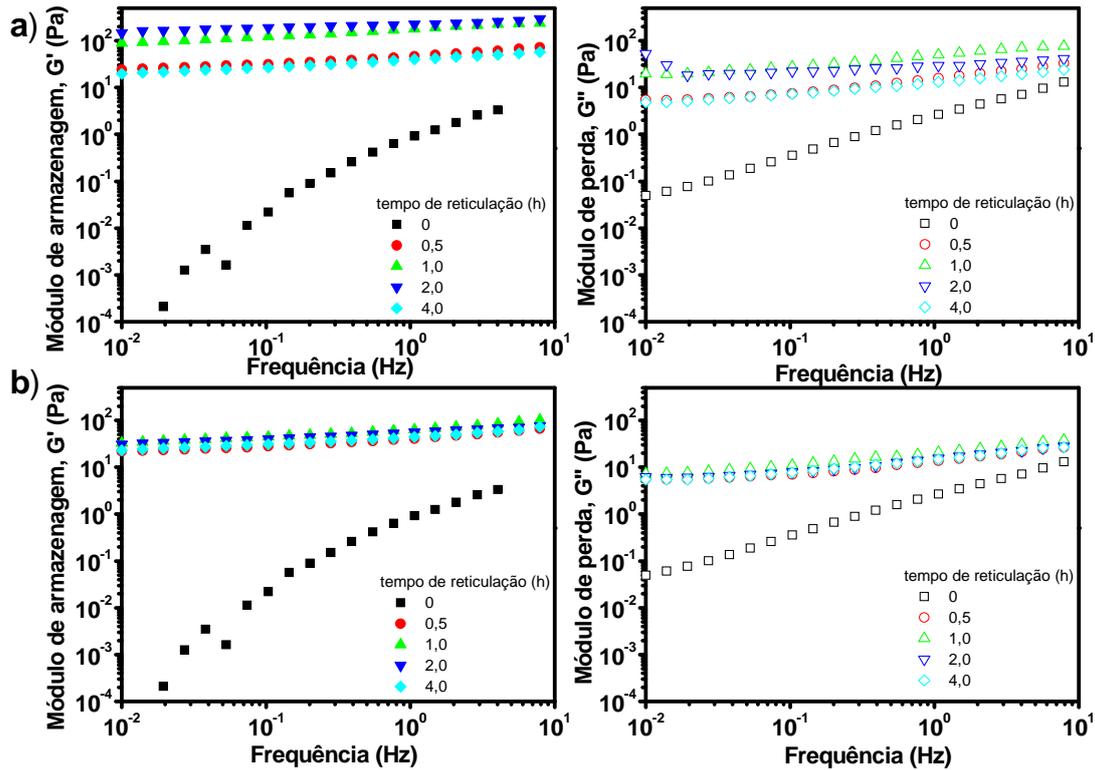


Figura 28. Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Flambuoyant em meio aquoso alcalinizado com NaOH a) 2% e b) 4%. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio).

O comportamento reológico das galactomananas reticuladas em meio de suco gástrico simulado também foi estudado. A Figura 29 mostra a evolução de G' e G'' em função da frequência para galactomananas reticulas preparadas com NaOH, a)2% e b) 4% para diversos tempos de reticulação.

O tempo 0h foi adotado para a galactomanana sem reticulação. A figura 29 mostra as mesmas propriedades reológicas das amostras anteriores: os valores de G' superiores para as galactomananas reticuladas mostram que a estrutura é preservada quando estão em meio de suco gástrico, sugerindo que são estáveis neste meio. Entretanto, com aumento da concentração de NaOH (de 2 para 4%) e o tempo de reticulação ($t = 4h$), há uma considerável diminuição dos valores de G' , chegando a ter a mesma ordem de grandeza das galactomananas sem reticulação. Este resultado interessante mostra que há uma diminuição das interações elásticas, provavelmente devido à grande concentração de grupos OH existentes no meio que podem desestabilizar as ligações e promover a quebra de conexões da rede.

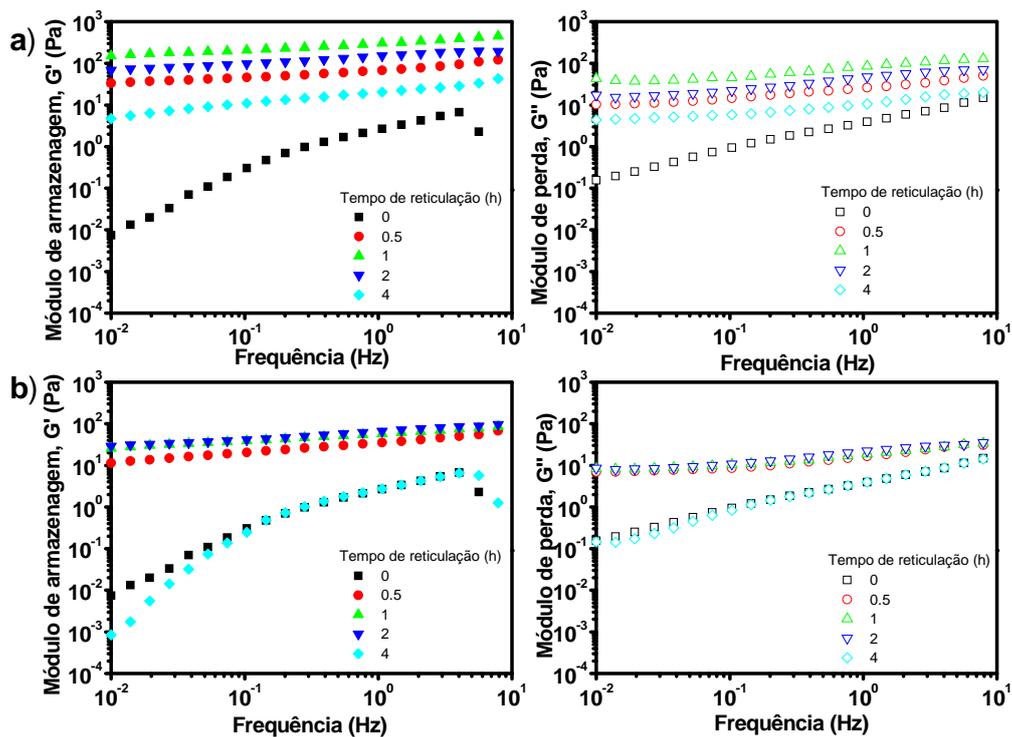


Figura 29. Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir da Flambuoyant preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% e em meio de suco gástrico. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio).

O mesmo comportamento reológico é observado quando as dispersões de galactomananas são preparadas em tampão fosfato que simula o meio entérico. A Figura 30 mostra a evolução temporal de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir do Flambuoyant e preparadas com NaOH, a) 2% e b) 4%. Inclusive a desestabilização estrutural com o aumento da concentração de NaOH também foi notada neste meio. Entretanto, esta desestabilização ocorreu em 2h de reticulação, voltando novamente a ser estável com 4h de reticulação. Esta inconsistência pode ser explicada pelas complexas reações e o equilíbrio químico envolvidos.

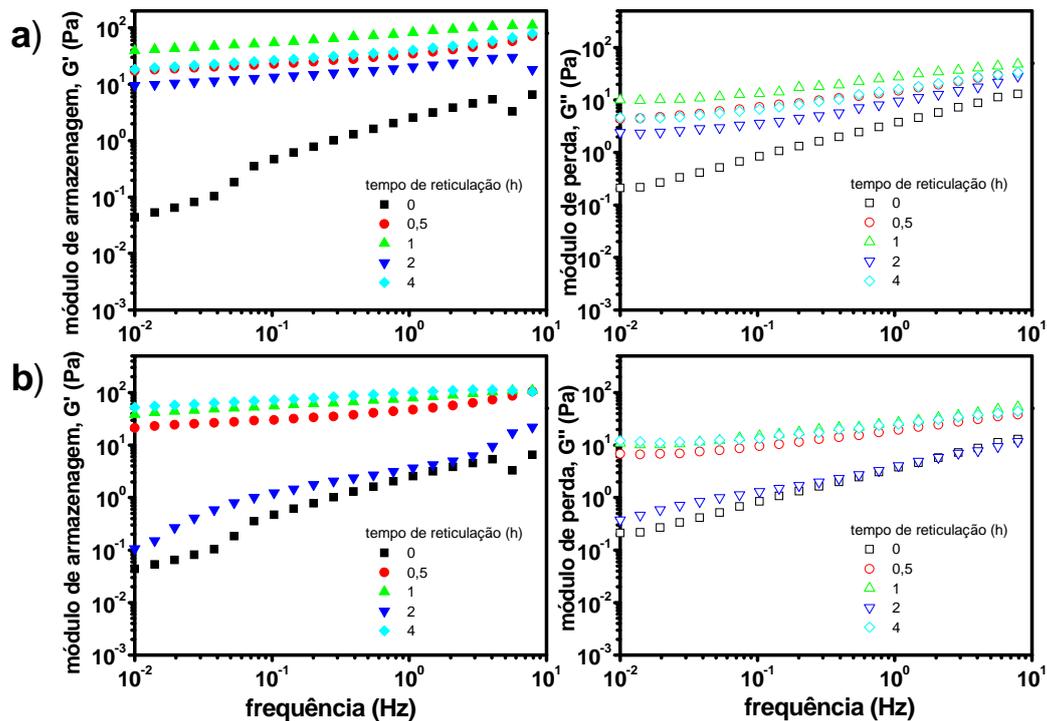


Figura 30. Variação de G' e G'' em função da frequência para os diversos tempos de reticulação das galactomananas obtidas a partir do Flambouyant preparadas com NaOH a) 2% e b) 4% em meio de tampão fosfato. Adotou-se como tempo 0 as amostras sem adição de agente reticulante (trimetafosfato de sódio).

4.6. Distribuição Granulométrica

Durante o processo de secagem empregado as amostras apresentam-se bastante aglomeradas. Assim sendo, houve a necessidade de submetê-las ao processo de pulverização e subsequente tamisação, a fim de reduzir e homogeneizar o tamanho das partículas obtidas.

Quando não se tem um sistema monodisperso de partículas com forma regular, não há nenhum parâmetro isolado que seja capaz de definir completamente um pó, em relação à medida e classificação do tamanho de partículas. Desta forma, as medidas devem ser feitas sobre uma faixa total de tamanho presentes nos sistemas (O'CONNOR e SCHWARTZ, 2000).

Na grande maioria dos casos as partículas apresentam-se irregulares, de forma que outros parâmetros são necessários para se realizar a determinação de tamanho de partículas (O'CONNOR e SCHWARTZ, 2000).

O parâmetro avaliado neste trabalho para determinação do tamanho de partícula foi o diâmetro de Feret 0° (Figura 31), que corresponde à distância horizontal entre duas linhas paralelas verticais, imaginárias e tangentes a uma partícula (STANIFORTH, 2005).

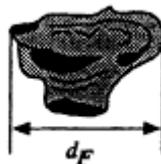


Figura 31: Diâmetro de Feret na direção horizontal (0°)

Os perfis de distribuição granulométrica das galactomananas de Flambouyant e de Carolina não reticuladas e reticuladas foram obtidos a partir de populações de cerca de 800 partículas e são apresentados na Figura 32, onde os dados são exibidos em função da frequência percentual e frequência acumulada dos tamanhos obtidos.

Observando-se os perfis de distribuição apresentados na Figura 32, percebemos que as amostras de Carolina não reticuladas apresentaram uma faixa de distribuição de tamanho em que 82% das partículas são menores que $50\mu\text{m}$.

Já as amostras reticuladas em NaOH 2% apresentaram uma faixa de distribuição de tamanho mais estrita, as amostras 2%/0,5h, 2%/1h apresentaram 90% das partículas menores que $50\mu\text{m}$. O comportamento apresentado pelas amostras pode ser atribuído ao endireitamento das cadeias do polímero devido à reticulação e à formação de uma rede polimérica mais dilatada.

Sendo assim, o número de ramificações e os eventuais pontos de reticulação estabelecidos, ambos dispersos na rede polimérica que tem sua estrutura particular, deve originar uma estrutura com uma grande heterogeneidade.

Deve-se considerar, ainda, que além da citada heterogeneidade, a estrutura formada deve apresentar, também, maior resistência mecânica que as demais amostras, uma vez que o processo de

reticulação, em maior extensão, é o responsável pelo aumento da resistência mecânica dos materiais (CURY, 2005).

Entretanto, a rede mais dilatada deve levar à formação de aglomerados de maiores dimensões e a menor resistência mecânica por eles apresentada deve facilitar o processo de pulverização desse material. A este respeito é importante salientar que em um processo de pulverização, a partir da aplicação de uma determinada força, as partículas maiores são as que se fragmentam em maior extensão (HICKEY e GANDERTON, 2001).

A amostra reticulada em NaOH 2% com tempo de reticulação 0,5h deve apresentar um menor número de pontos de reticulação em relação à amostra 2%/1h, além de uma certa redução de tamanho dos aglomerados formados, pois 92% das partículas da amostra 2%/0,5h ficaram menores que 50 μ m enquanto o lote 2%/1h apresentou-se com 90% das partículas menores que 50 μ m. Isso demonstra que grupamentos difosfatos devem ter sido introduzidos à cadeia polimérica, resultando em uma estrutura menos dilatada e mecanicamente mais resistente.

Para as amostras com 2%/2h e 2%/4h observa-se uma distribuição de partícula em que 83% e 86% das partículas são menores que 50 μ m, respectivamente. Esses perfis mostram que provavelmente houve um maior grau de reticulação possivelmente atingido nestas condições e uma menor redução dos fragmentos fosfatos incorporados à cadeia polimérica, devendo proporcionar a obtenção de aglomerados menores e mais resistentes.

É provável que esses aglomerados de maiores dimensões necessitem de uma aplicação de força mais elevada no processo de pulverização. Tal fato torna compreensível a presença de um menor percentual de partículas de maiores dimensões (50 μ m), considerando-se que a resistência mecânica do material influencia diretamente o seu comportamento durante um processo de pulverização (HICKEY e GANDERTON, 2001).

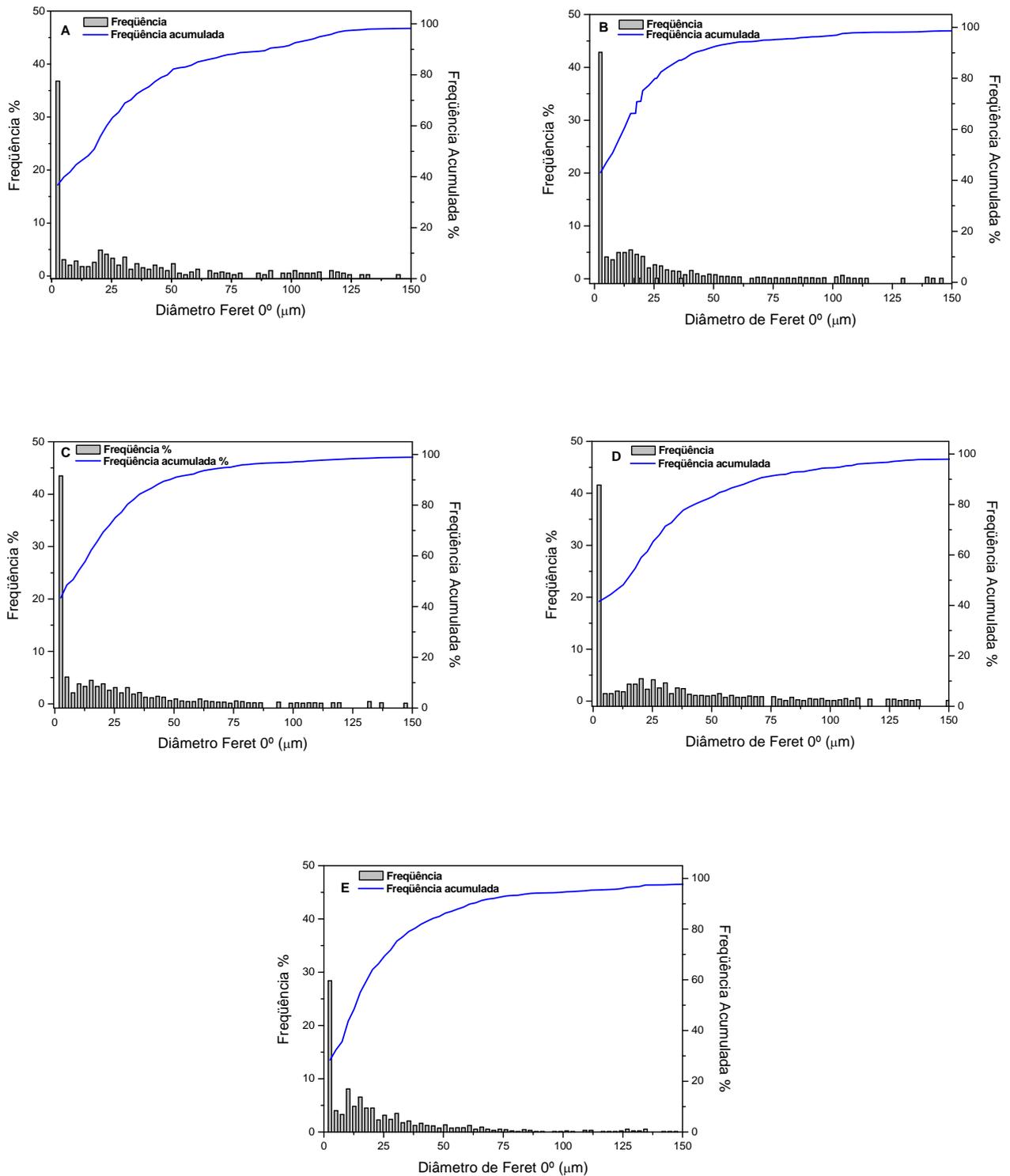


Figura 32: Distribuição de tamanho de partículas das amostras de Carolina reticuladas em NaOH 2%. A) Carolina não reticulada, B) 2%/0,5h, C) 2%/1h, D) 2%/2h, E) 2%/4h.

Já as amostras reticuladas em NaOH 4% (Figura 33), apresentaram uma distribuição de tamanho semelhante à das amostras reticuladas em NaOH 2%. A diferença entre as duas

concentrações se apresenta no perfil de distribuição em que mais de 90% das partículas apresentam-se menores que 50 μ m em todos os tempos de reticulação. Tais comportamentos podem indicar uma certa semelhança entre as estruturas originadas para as condições experimentais e resultarem em menores graus de reticulação atingidos por estas amostras. A elevação do percentual de partículas menores pode ser atribuída a formação de redes poliméricas mais extensas nas amostras reticuladas em NaOH 4%, resultando no aumento dos aglomerados formados.

É importante salientar que as condições anteriores expostas são baseadas no fato de que a distribuição aleatória das fendas e fissuras geradas em um processo de pulverização está relacionada à resistência mecânica do material, ou seja, da quantidade de regiões em que ocorrem “falhas” em uma estrutura e, conseqüentemente, de sua maior ou menor susceptibilidade à fragmentação (HICKY e GANDERTON, 2001).

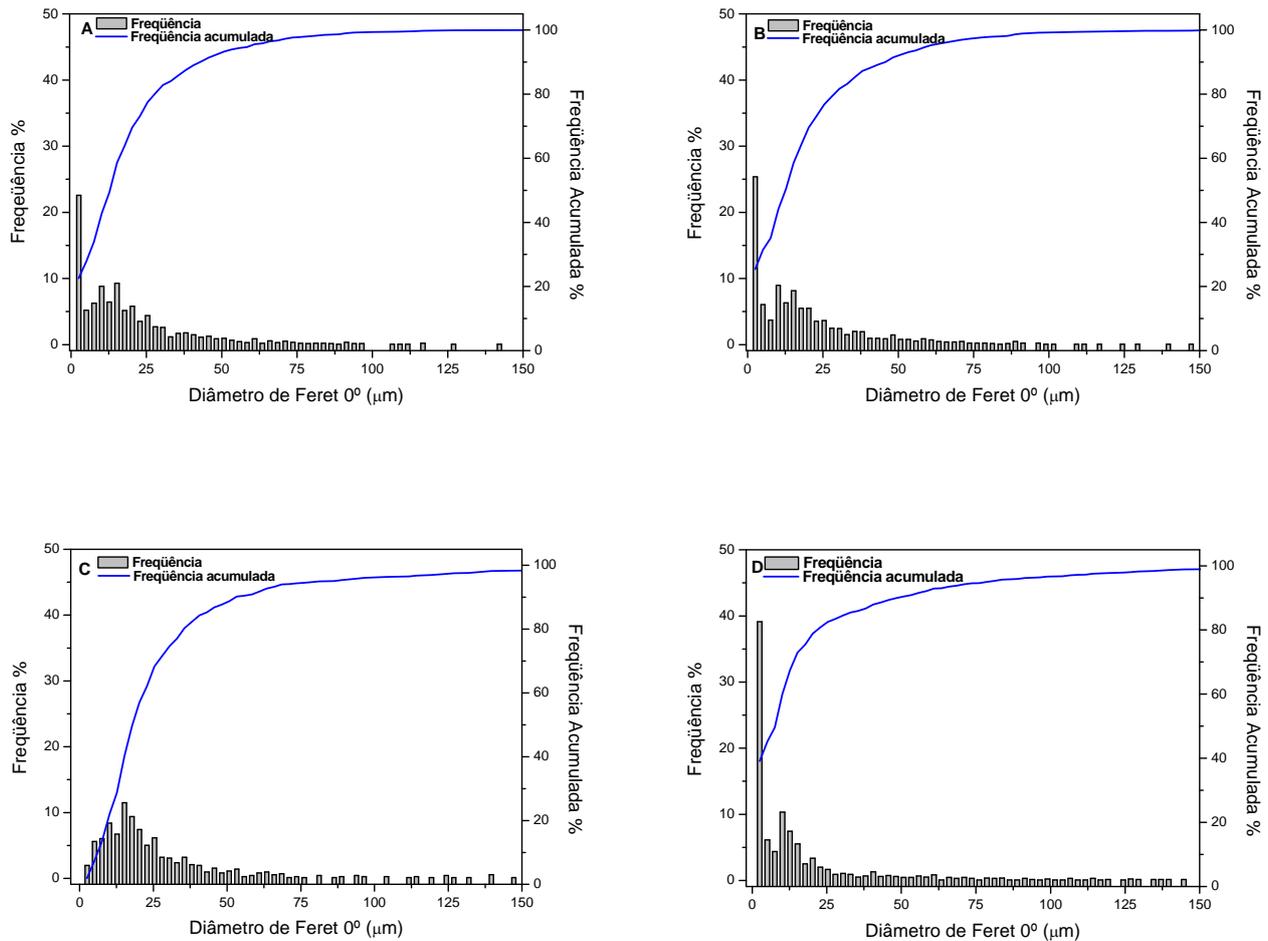


Figura 33: Distribuição de tamanho de partículas — Amostras de Carolina reticuladas em NaOH 4%. A) 4% /0,5 B) 4%/ 1h C) 4%/ 2h D) 4%/ 4h.

Já a distribuição de partículas de galactomanana de Flambuoyant, apresentada na figura 34, mostra que o perfil granulométrico do Flambuoyant não reticulado é semelhante ao da galactomanana de Carolina não reticulada.

Os perfis das amostras reticuladas em NaOH 2% apresentaram uma faixa de distribuição granulométrica mais larga, sendo que as amostras 2%/ 0,5h e 2%/ 1h apresentaram 88,1 e 86,1% das partículas menores que 50 μ m, respectivamente. Este comportamento é semelhante ao explicado para galactomananas de Carolina reticulada em NaOH 2%, pois a estrutura molecular e a razão manose/galactose são semelhantes entre elas.

Já as amostras 2%/ 2h e 2%/ 4h apresentaram um perfil de distribuição semelhante ao das amostras tempo 0,5h e 1h, com 86,1 e 87,4% das partículas menores que 50 μ m, respectivamente.

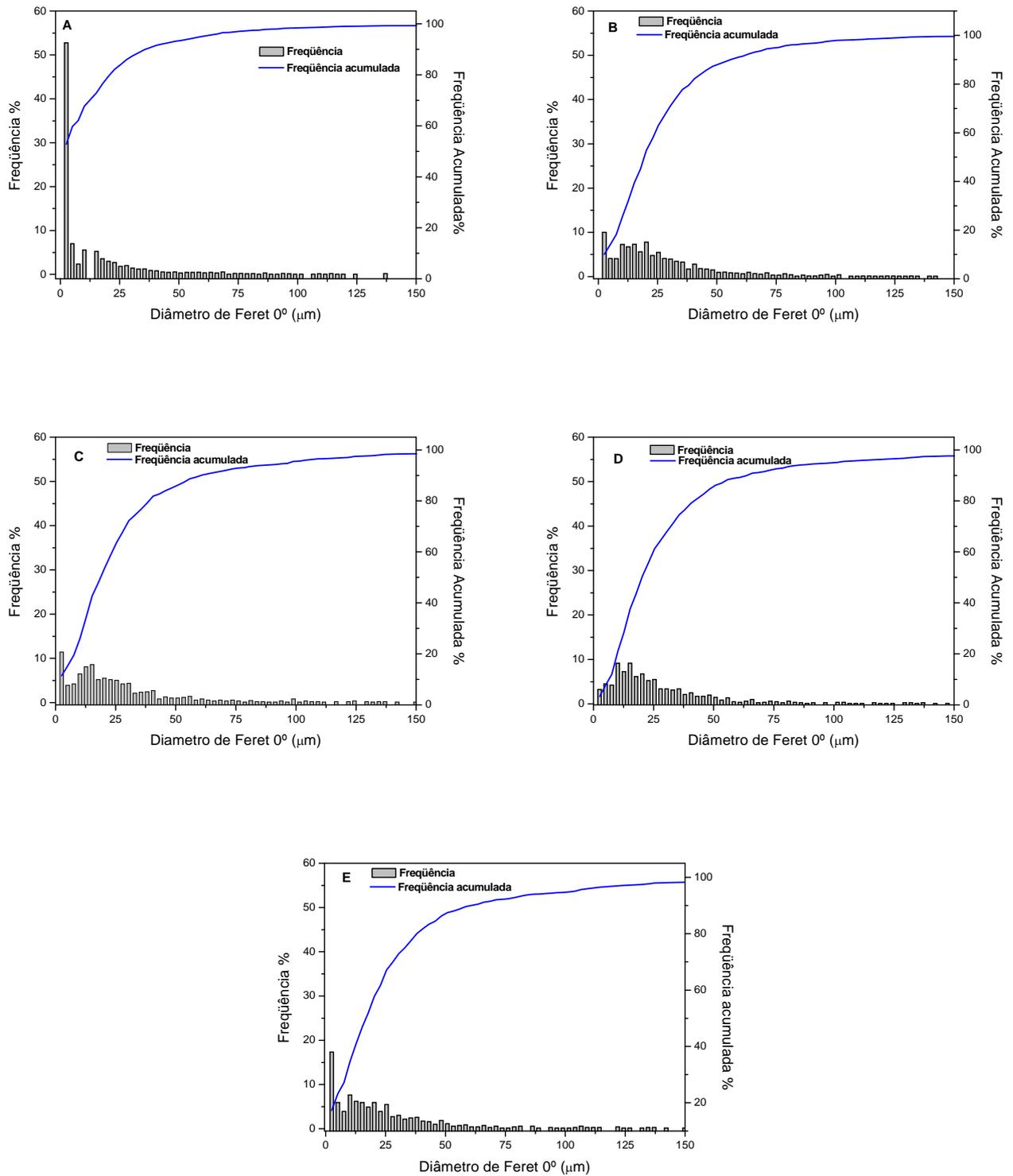


Figura 34: Distribuição de tamanho de partículas — Amostras de galactomanana de Flambouyant não reticulada e reticulada em NaOH 2%. A) Flambouyant não reticulada, B) 2%/ 0,5h, C) 2%/ 1h, D) 2%/ 2h, E) 2%/ 4h.

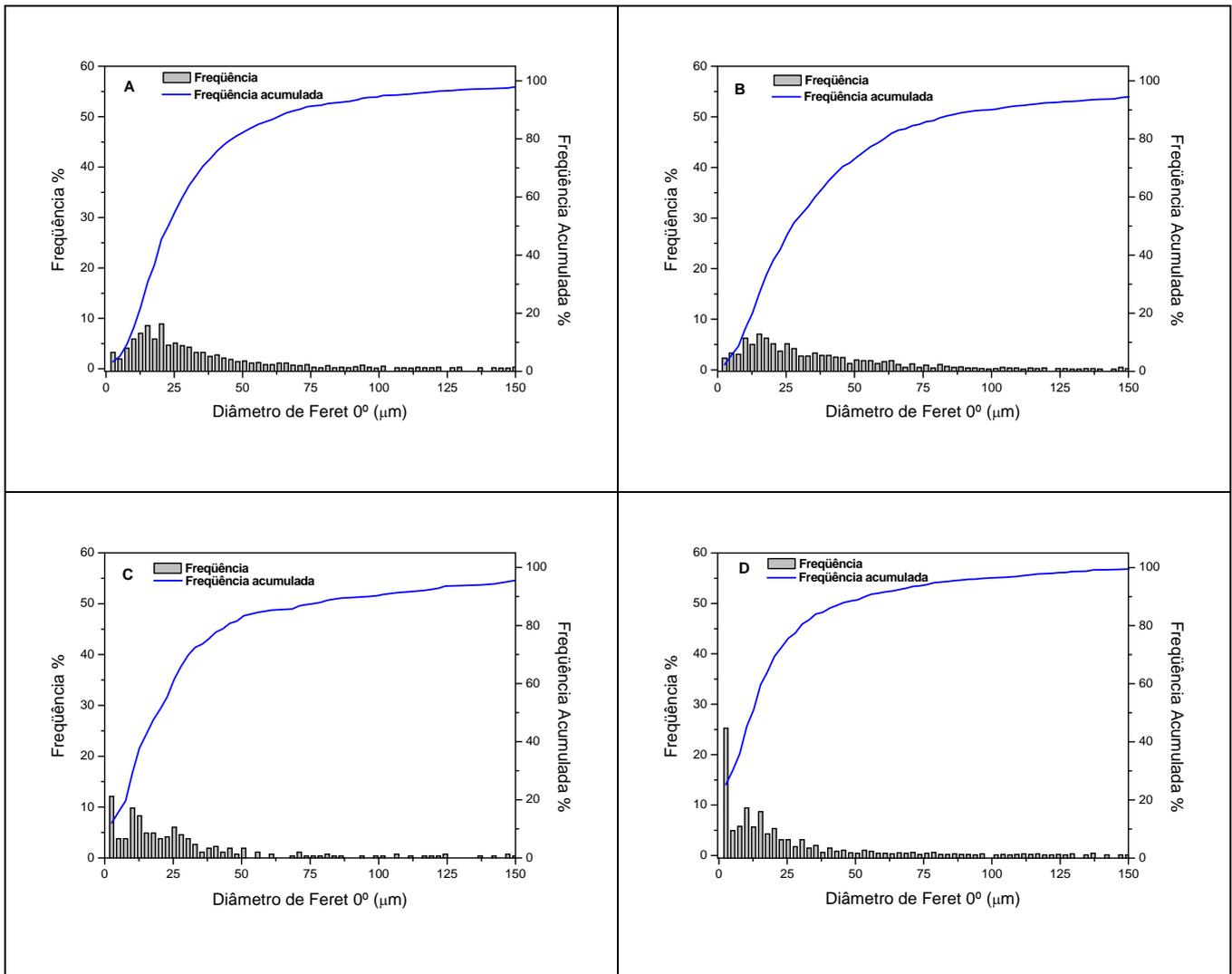


Figura 35: Distribuição de tamanho de partículas — Amostras de galactomanana de Flambuoyant reticulados em NaOH 4%. A) 4%/ 0,5h, B) 4%/ 1h, C) 4%/ 2h, D) 4%/ 4h.

As amostras reticuladas com 4% de base, (figura 35), de modo geral, exibiram faixas de distribuição de tamanho semelhantes às de 2% de base, porém com uma tendência à redução do percentual de partículas menores que $50\mu\text{m}$.

Em relação à morfologia de um sistema pulverulento, deve se considerar que ela é caracterizada pela descrição qualitativa de sua aparência visual como esférica, angular, acicular e irregular ou, quase quantitativamente, por meio do cálculo de diferentes fatores de forma (MIKLI et al., 2001).

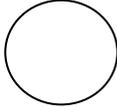
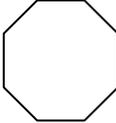
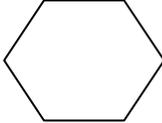
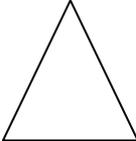
Neste trabalho, o fator de forma analisado foi a circularidade, a qual resulta da razão entre o quadrado do perímetro e a área, como mostra a equação a seguir (LEICA QWIN USER GUIDE, 1996):

$$\text{Circularidade} = \frac{p^2}{4 \times p \times A \times 1,064} \quad \text{onde } p \text{ é o perímetro e } A \text{ é a área.}$$

O fator 1,064 corrige o perímetro para o efeito dos ângulos produzidos pela digitalização da imagem, de modo que, a razão apresentada resulta no valor mínimo 1 para um círculo (MIKLI, et al., 2001, LEICA QWIN USER GUIDE, 1996).

À medida que a forma da partícula se afasta da forma circular, aumenta o valor de circularidade obtido. Os valores de algumas formas geométricas regulares são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de circularidade de formas geométricas regulares (MIKLI et al.,2001).

Forma					
Fator de Circularidade	1,0	1,055	1,103	1,273	1,654

Os valores de circularidade obtidos para as amostras de galactomanana de Carolina reticuladas confirmam a análise visual das partículas, de modo que as partículas de galactomananas foram as que apresentaram os valores que mais se aproximaram de 1 (Tabela 3), ou seja, as que mais se aproximaram da forma circular, além de apresentarem menor variação de forma traduzida no baixo valor do desvio padrão obtido.

Entre as amostras reticuladas, os valores de circularidade obtidos apresentaram-se entre 1,35 e 1,49 (Tabelas 3 e 4), os quais apontam para uma grande irregularidade de forma de todas as amostras reticuladas.

O fato dos valores das amostras ficarem em torno de 1,4, e estes serem superiores aos apresentados pela forma geométrica quadrada, é devido ao fato de a análise ser realizada de forma bidimensional, levando em consideração, assim, as protusões angulares apresentadas na superfície da partícula.

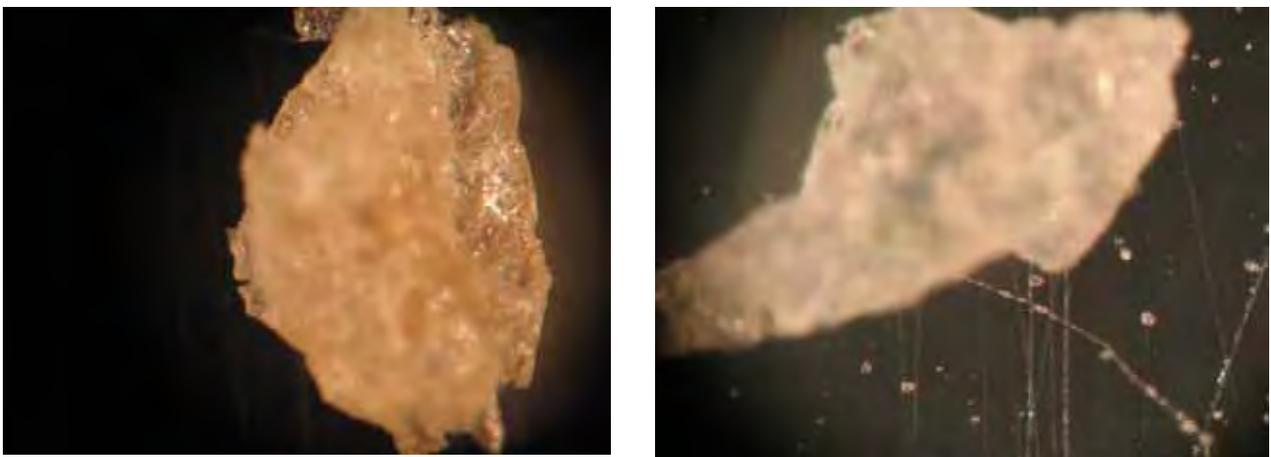
Tabela 3: Fator de circularidade da galactomanana de Carolina pura e reticulada.

Amostra	Circularidade	Desvio Padrão
Carolina Nativa	1,202726	±0,025304
2%/ 0,5h	1,351597	±0,345436
2%/ 1h	1,415884	±0,576002
2%/ 2h	1,490876	±0,868073
2%/ 4h	1,389707	±0,297202
4%/ 0,5h	1,403566	±0,360353
4%/ 1h	1,400773	±0,340063
4%/ 2h	1,411396	±0,359404
4%/ 4h	1,378784	±0,430507

Tabela 4: Fator de circularidade da galactomanana de Flambuoyant pura e reticulada.

Amostra	Circularidade	Desvio Padrão
Flambuoyant Pura	1,322306	±0,346595
2%/ 0,5h	1,366694	±0,293667
2%/ 1h	1,401259	±0,588783
2%/ 2h	1,415991	±0,371780
2%/ 4h	1,381569	±0,426128
4%/ 0,5h.	1,429024	±0,392505
4%/ 1h	1,423435	±0,430515
4%/ 2h	1,465154	±0,888209
4%/ 4h	1,601196	±0,214429

A morfologia da superfície foi avaliada através das fotomicrografias obtidas das partículas, as quais são exibidas na figura 36. Observando-se a figura, pode-se notar que as fotomicrografias indicam uma estrutura heterogênea que deve resultar da formação das estruturas altamente desorganizadas.

**Figura 36:** Fotomicrografia das galactomananas reticuladas com ampliação de 80x.

4.7. Perfil de intumescimento

Ansel e colaboradores, (2007), definem que o intumescimento de géis é a captura de um líquido por um gel com um aumento de volume. Somente um líquido que solvate um gel pode causar intumescimento.

Billmeyer (1984), afirma que intumescimento é o processo de dissolução de um polímero em um solvente definido. Primeiramente, as moléculas do solvente difundem-se lentamente para dentro do polímero, produzindo intumescência do gel. As forças intermoleculares polímero-polímero são altas, graças à reticulação, cristalinidade ou fortes pontes de hidrogênio. Mas, se essas forças são superadas pela introdução de fortes interações polímero-solvente, um segundo estágio, a dissolução do polímero pode ocorrer.

O processo de intumescimento resulta realmente de um balanço entre fenômenos repulsivos e atrativos. Esses fenômenos podem incluir: a termodinâmica, a mistura da rede polimérica com o solvente, a interação entre grupos de cargas fixas e íons livres, como acontece dentro das membranas de troca-iônica, e as forças elásticas do polímero e também as forças atrativas intercadeias. (IZÁK et al. 2007)

O processo de sorção e difusão de solutos dentro do polímero é caracterizado por interações moleculares entre solvente e polímero e envolve uma mudança no arranjo espacial das cadeias poliméricas. Outras interações com as cadeias poliméricas da membrana podem modificar significativamente as propriedades da membrana. (HUANG, 1990; BARTOVSK e BARTOVSK, 1995).

Interações entre as diferentes moléculas das misturas, nas quais a presença de um componente tem influência positiva ou negativa sobre o transporte do outro, (BRUN, et al., 1985 e MORTON, et al., 1970), podem também exercer um efeito significativo sobre sua sorção e penetração dentro do polímero. Durante o transporte dentro da membrana, 2 mecanismos podem ser considerados (HUANG, 1990):

1- Efeito de volume livre, o qual geralmente induz ao aumento da difusão dos componentes (ex. efeito plástico);

2- Efeito de acoplamento, o qual resulta de interações entre as diferentes espécies de moléculas dentro do polímero que podem aumentar ou diminuir a difusão dentro da membrana (ex. difusão retardada ou acelerada devido aos efeitos interativos).

Portanto, em sistemas intumescíveis, a liberação do fármaco ocorre a partir de uma seqüência dos seguintes eventos: absorção de água, intumescimento da matriz e difusão do fármaco através da região gel formada (EFENTAKIS, et al. 1997; DANCKWERTS e FASSIHI, 1991),

Dessa forma, o conhecimento do comportamento de intumescimento dos hidrogeis utilizados na obtenção de sistemas de liberação prolongada de fármacos é muito importante, já que a taxa de liberação do fármaco é controlada pela taxa de difusão do fluido penetrante e do fármaco em solução através do polímero gelificado. É importante salientar, ainda, que a quantidade de água absorvida pelo polímero é função de sua hidrofília, da estrutura de rede formada e do número de grupos ionizáveis presentes na estrutura polimérica (GEHRKE e LEE, 1990).

Portanto, o comportamento de intumescimento das galactomananas de Carolina e Flambuoyant estudadas, além de estar relacionado ao processo de liberação do fármaco, pode ainda, indicar diferenças entre as novas estruturas em função do grau de reticulação atingido para cada amostra considerada.

No presente trabalho, o comportamento de intumescimento das galactomananas de Carolina e Flambuoyant não reticuladas e reticuladas foi analisado durante 120 minutos em suco gástrico simulado pH 1,2 sem pepsina e em tampão fosfato pH 7,4. Os perfis de intumescimento estão apresentados nas figuras 37 a 44, as quais evidenciam o baixo poder de absorção de fluidos das galactomananas, tanto da Carolina como do Flambuoyant não reticulados em relação às amostras reticuladas.

A figura 37 mostra o perfil de intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada em NaOH 2%. Podemos observar no gráfico a alta capacidade de absorção de líquidos e, portanto, de intumescerem, das amostras reticuladas nos vários tempos de reticulação em relação às galactomanana de Carolina não reticulada.

Uma possível explicação para esta observação é a reestruturação das cadeias do polímero devido à reticulação com o trimetafosfato de sódio que levou a um alargamento da rede do polímero e, portanto, interferindo com o livre acesso dos líquidos aos grupos hidroxilas disponíveis do polímero.

Em relação ao comportamento das amostras alcalinizadas com NaOH 2%, podemos observar que naquelas referentes aos tempos de 0,5h, 1h e 4h houve um marcado aumento da capacidade de intumescimento. No entanto, no tempo de 2h, uma pequena queda desse parâmetro é observada, permanecendo, no entanto, ainda muito superior à capacidade de intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada. Esse grande aumento da capacidade de intumescimento

pode ser atribuído ao fato de provavelmente haver introdução de polifosfatos nas cadeias poliméricas, resultando na formação de estruturas altamente ramificadas.

O elevado grau de ramificação assim atingido deve, por sua vez, levar a um grande aumento do tamanho das cadeias formadas, considerando que a conformação aleatória de equilíbrio é aquela em que as unidades monoméricas estão localizadas o mais próximo do centro de massa da macromolécula (BRETAS e D'AVILA, 2000).

Portanto, o maior enovelamento das cadeias, aliado às ramificações do polímero e aos eventuais pontos de reticulação estabelecidos, deve favorecer, em muito, o aprisionamento dos líquidos na estrutura polimérica, resultando no marcado aumento da capacidade de intumescimento destas amostras em relação à galactomanana de Carolina não reticulada.

É possível admitir, ainda, que a introdução dos polifosfatos terminais confere certo caráter aniônico ao polímero, levando a um aumento da capacidade de intumescimento das amostras, já que a ionização de grupos pendentes do polímero torna-o mais hidrofílico, elevando, conseqüentemente, a sua capacidade de absorção da água (PEPPAS e KHARE, 1993).

Deve-se considerar, ainda, que o progressivo aumento do número de ligações intercadeias impede a dissolução do polímero, o que faz com que ele absorva quantidades de água muito superiores àquelas que os polímeros hidrofílicos lineares são capazes de absorver (HELEER, 1987).

A queda da capacidade de intumescimento apresentado pela amostra 2%/ 2h pode indicar, por sua vez, que a intensa formação de malhas de dimensões mais reduzidas, devido provavelmente ao alto grau de reticulação atingido por esta amostra, deve dificultar a difusão das moléculas de água através da matriz, considerando que a absorção de água é altamente dependente do tamanho das malhas da rede polimérica (GEHRKE e LEE, 1990).

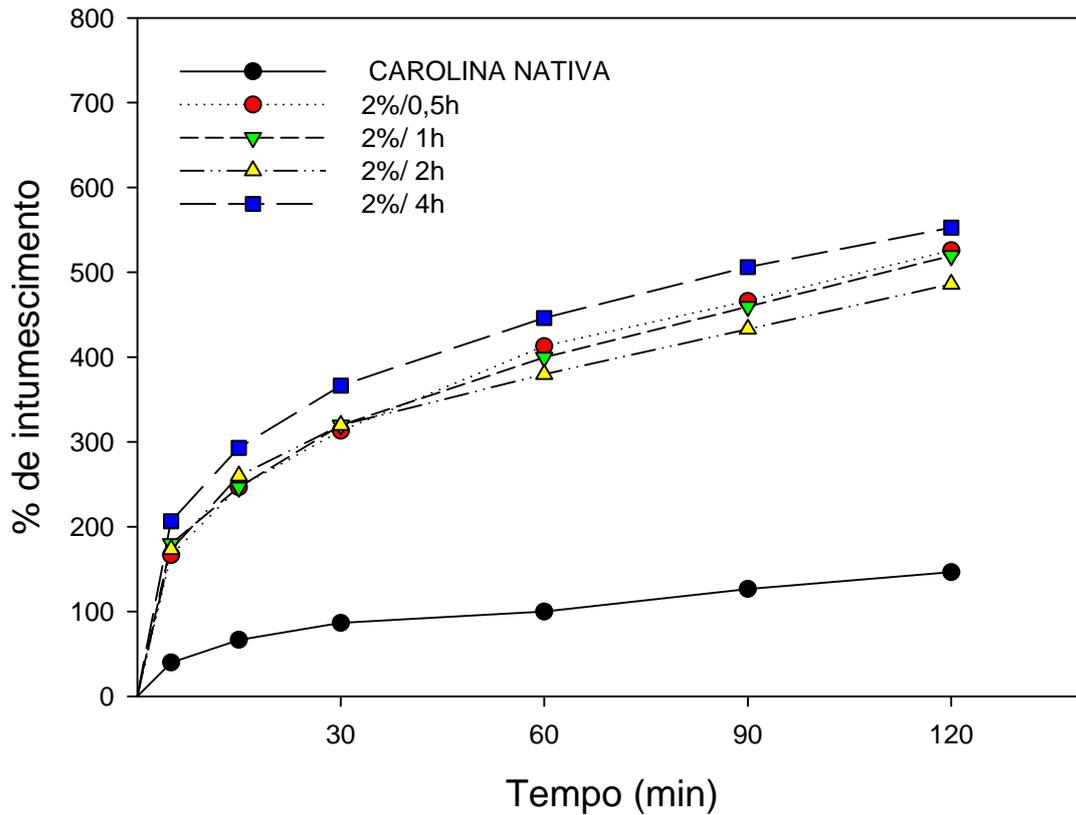


Figura 37: Intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio alcalinizado com NaOH 2%, em Tampão Fosfato pH7,4.

Observando agora o comportamento de intumescimento das amostras alcalinizadas com NaOH 4% (Figura 38), é possível notar que elas apresentam, de modo geral, capacidade de intumescimento levemente inferior à das amostras alcalinizadas com NaOH 2%.

A maior capacidade de intumescimento apresentada pelas amostras 0,5h e 4h nas duas concentrações de NaOH pode ser atribuída ao fato de haver a formação de redes de maiores dimensões no polímero, as quais podem facilitar a difusão das moléculas de água para o seu interior e, portanto, seu intumescimento em maior grau.

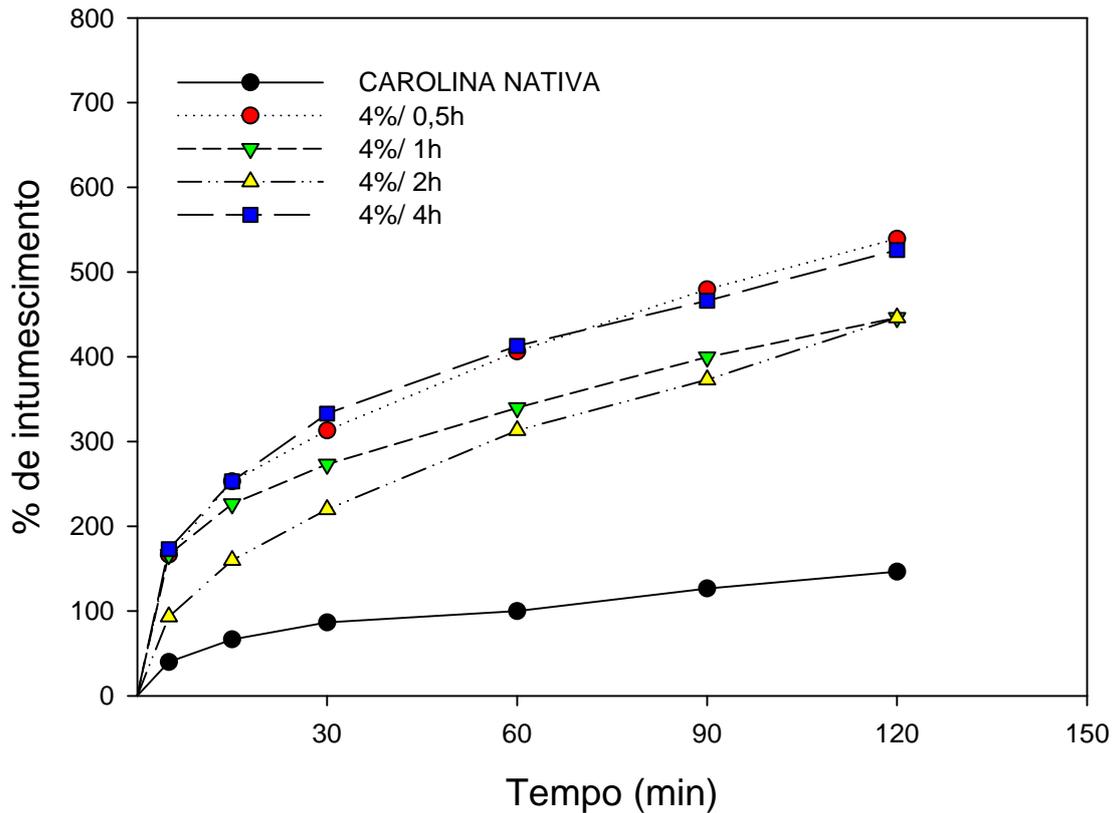


Figura 38: Intumescimento de galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio alcalinizado com NaOH 4%, em tampão fosfato pH 7,4.

As Figuras 39 e 40 mostram o intumescimento da galactomanana de Carolina em suco gástrico simulado sem pepsina. Podemos observar que houve uma mudança no perfil de intumescimento das amostras no meio gástrico. Podemos ver que nas mostras alcalinizadas com NaOH 2%, havendo um significativo aumento da capacidade de intumescimento das amostras reticulas, provavelmente devido à influência da força iônica do cloreto de sódio na extensão do intumescimento do polímero e à redução da pressão osmótica dentro do gel carregado (GLIKO-KABIR et al, 2000).

As amostras 0,5h, 2h e 4h alcalinizadas com NaOH 2% tiveram um marcado aumento do poder de intumescimento. No entanto, no tempo de 1h, uma pequena queda desse parâmetro é observada, mas ainda é muito superior à capacidade de intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada.

Já as amostras reticuladas em NaOH 4%, também tiveram um aumento significativo no intumescimento. Porém, as amostras 1h, 2h e 0,5h apresentaram um aumento da capacidade de intumescimento em pH 1,2, diferentes das amostras reticuladas em NaOH 2%, provavelmente essa característica pode estar relacionada a uma organização diferente das cadeias do polímero e da densidade de reticulação adquirida pelo polímero.

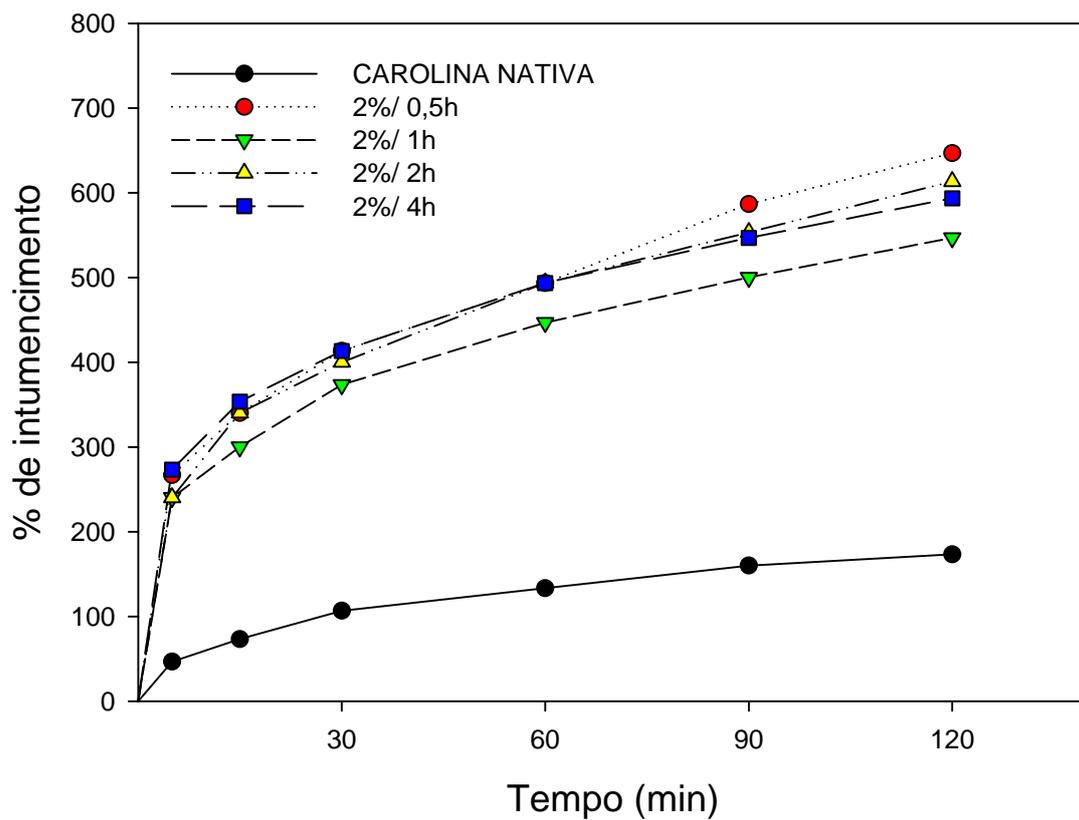


Figura 39: Intumescimento da galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizado com NaOH 2%, em Suco Gástrico pH 1,2.

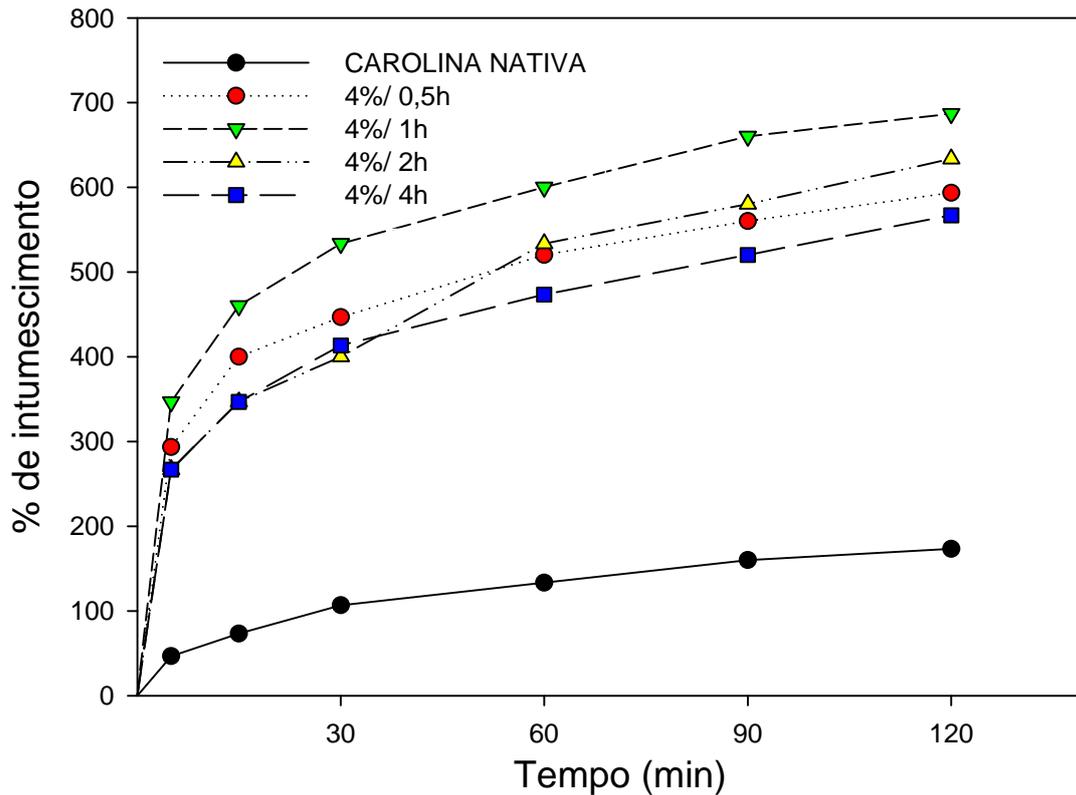


Figura 40: Intumescimento galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada com trimetafosfato de sódio, alcalinizada com NaOH 4% em Suco Gástrico pH 1,2.

A Figura 41 mostra o perfil de intumescimento da galactomanana de Flambuoyant reticulado com NaOH 2% em tampão fosfato pH 7,4. Nela, podemos observar um elevado grau de intumescimento do polímero, maior que da galactomanana de Carolina. Provavelmente, essa característica é devida à organização molecular do polímero que promoveu uma ação maior das forças intramoleculares, à razão manose:galactose do polímero que é maior na galactomanana de Flambuoyant do que de Carolina, as forças elásticas da rede do polímero, ao aumento do livre acesso das hidroxilas livres do polímero e à perda da natureza não iônica do polímero reticulado.

Podemos observar que a amostra 2%/2h apresenta grau de intumescimento bem maior que as amostras relativas aos outros tempos de reticulação. Isso pode ser possível pela maior formação de rede que leva a uma maior força elástica entre as cadeias do polímero, absorvendo uma grande quantidade de líquido.

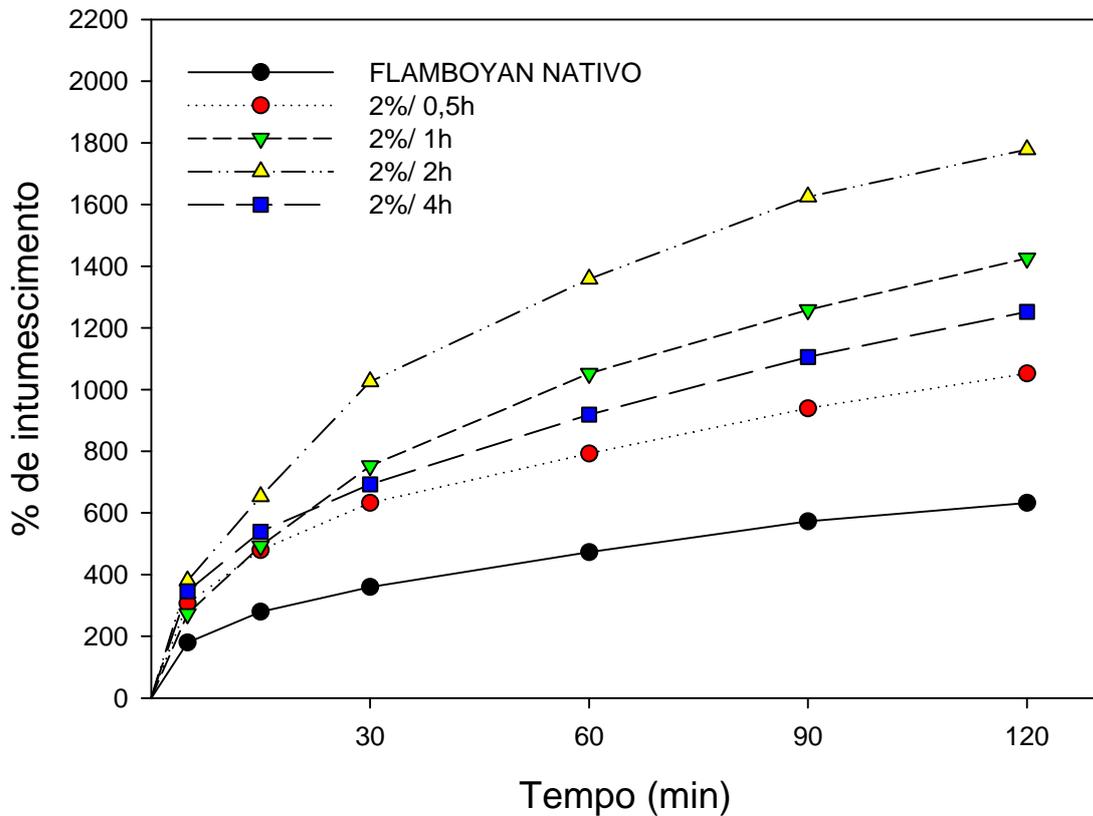


Figura 41: Intumescimento da galactomanana de Flambooyant não reticulado e reticulado com trimetafosfato de sódio, alcalinizado com NaOH 2% em tampão fosfato pH 7,4.

Já as amostras reticuladas NaOH 4% (Figura 42) apresentaram seu grau de intumescimento bem menor que as amostras reticuladas NaOH 2%. Isso sugere uma mudança de conformação das estruturas formadas, com uma menor força elástica entre as cadeias e a influência da concentração de NaOH na formação das cadeias da estrutura.

A maior capacidade de intumescimento apresentada pela amostra 4%/ 0,5h em relação às demais preparadas com essa concentração de base pode ser atribuída ao fato de haver maior organização do polímero em relação aos outros. Além disso, nesta etapa reacional, deve haver a formação de malhas maiores na rede polimérica, as quais podem facilitar a difusão das moléculas de água para o seu interior (CURY, 2005).

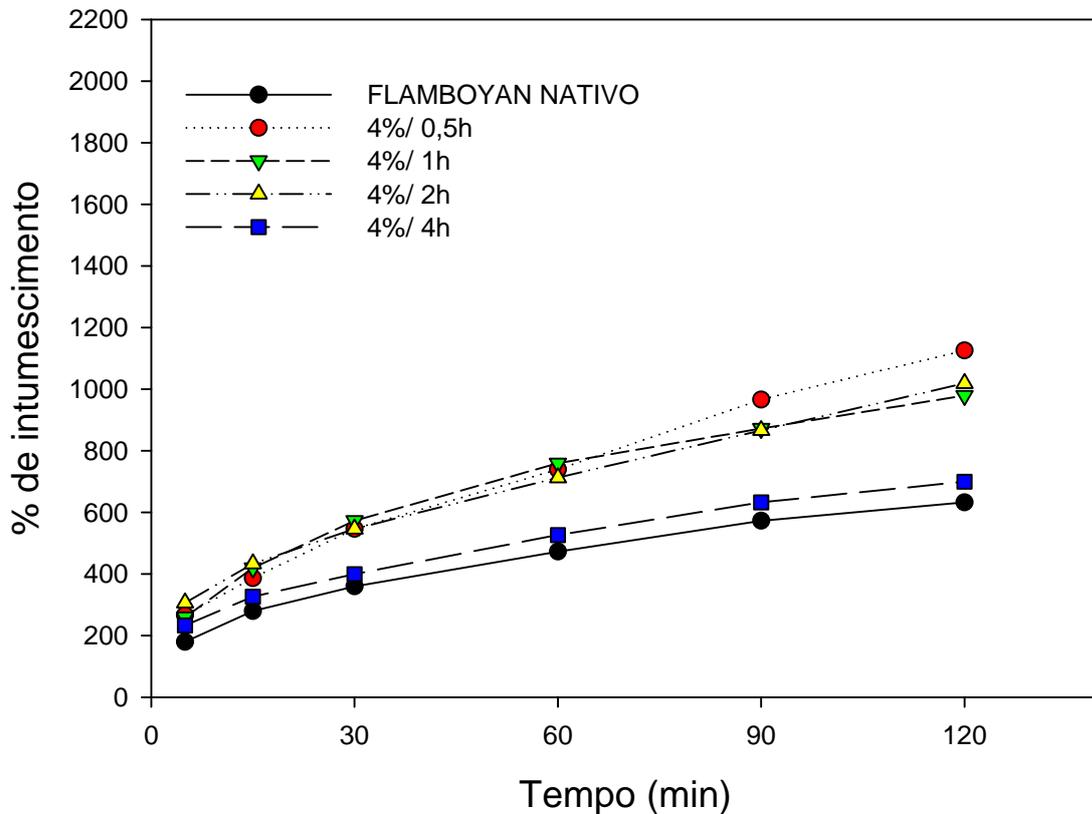


Figura 42: Intumescimento de galactomanana de Flambuoyant, alcalinizada com NaOH 4% em tampão fosfato pH 7,4.

Observando agora o perfil de intumescimento da galactomanana de Flambuoyant reticulado em NaOH 2% em suco gástrico simulado sem pepsina (Figura 43), podemos observar que houve um aumento significativo da sua capacidade de intumescimento em relação às com tampão fosfato. A amostra 2%/2h apresentou intumescimento superior às outras amostras em NaOH 2%. Esse fato ocorre, provavelmente, pelo maior formação de rede que leva à existência de uma maior força elástica entre as cadeias do polímero, facilitando a absorção de uma grande quantidade de líquido, à influência da força iônica do líquido, que pode facilitar a sua absorção para regiões interiores do polímero através das ligações com os grupamentos fosfatos livres e à existência de grupamentos OH livres na estrutura do polímero.

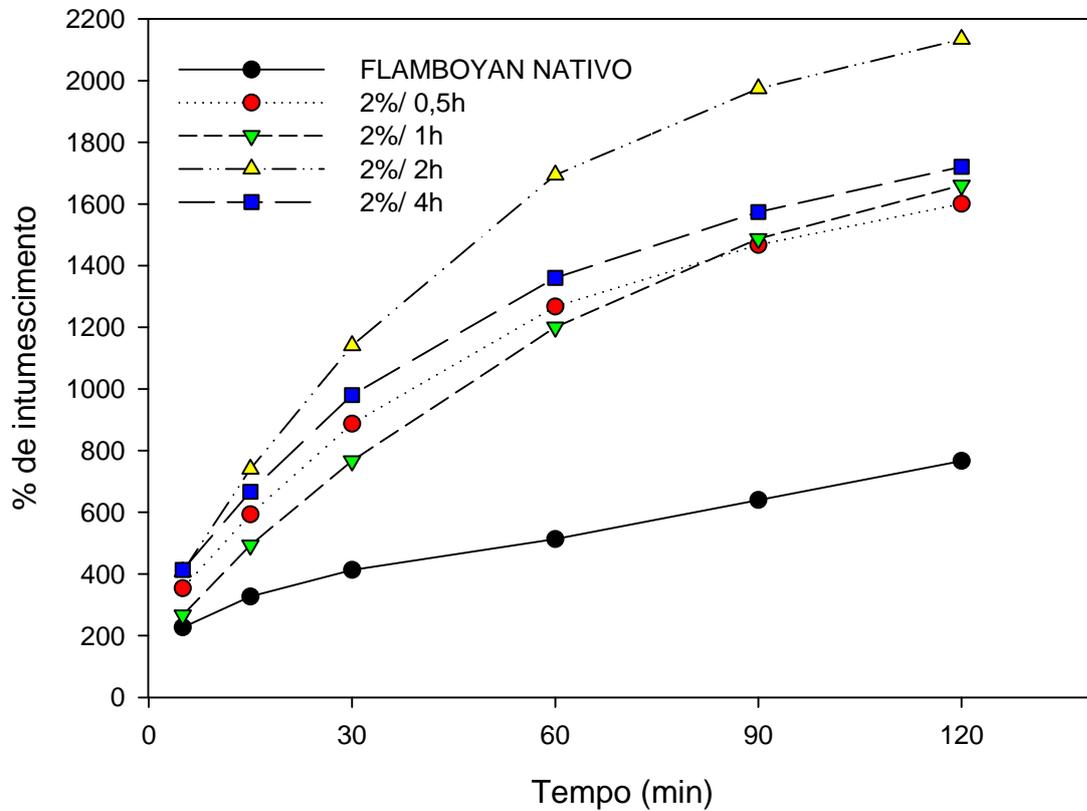


Figura 43: Intumescimento da galactomanana de Flambuoyant, alcalinizada com NaOH 2% em suco gástrico pH 1,2.

Já o perfil de intumescimento da galactomanana de Flambuoyant reticulado com 4% de NaOH em suco gástrico simulado (Figura 44), mostrou grau de intumescimento menor, explicável, provavelmente, pela mudança conformacional da molécula da galactomanana e pela menor densidade de reticulação obtido na reação.

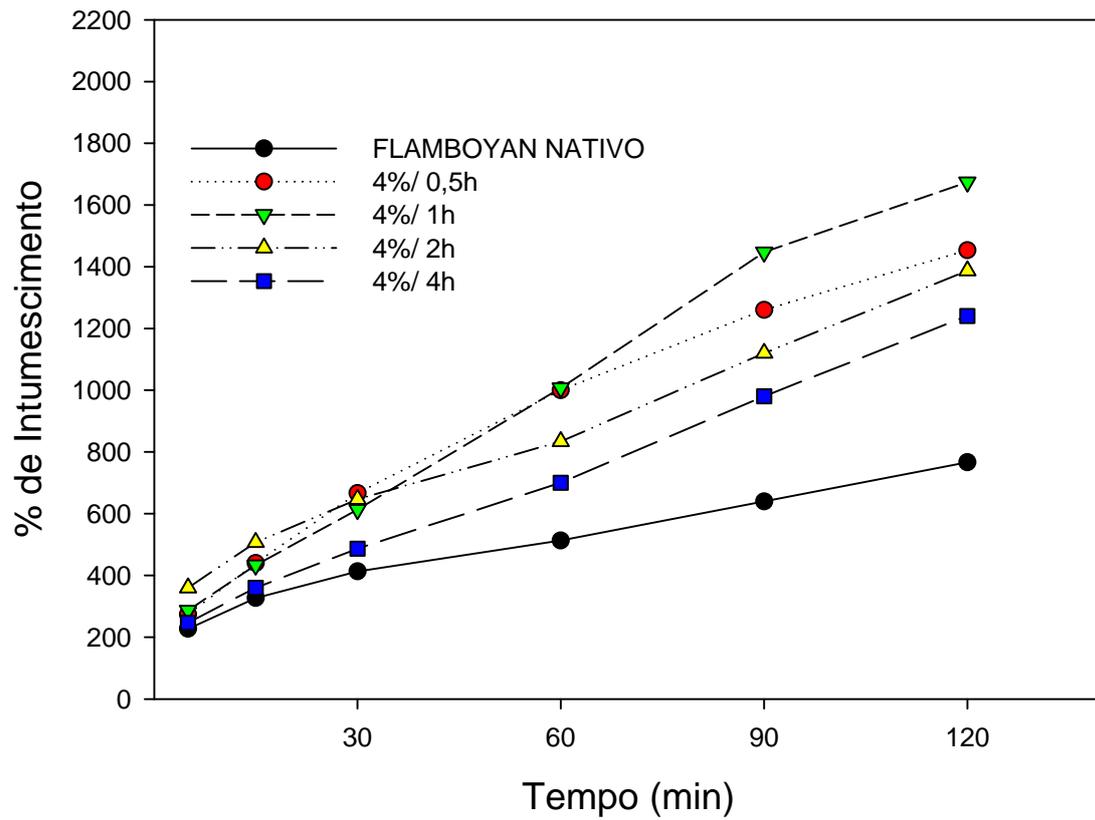


Figura 44: Intumescimento da galactomanana de Flambuoyant, alcalinizada com NaOH 4% em suco gástrico pH 1,2.

4.8. Avaliação da densidade de reticulação pela reação com azul de metileno

A reticulação química ou física pode ser usada para reduzir a solubilidade em água dos polissacarídeos naturais para hidrogéis intumescíveis. (SINTOV et al., 1995).

As reações de reticulação podem ocorrer por intermédio de grupamentos hidroxilas dos polissacarídeos que, em pH alcalino, podem conduzir ligações éster com duas unidades do polissacarídeo (GLIKO-KABIR, et al., 2000). Este é uma das razões que torna o trimetafosfato sódio um interessante agente reticulante, pois ele não reage com grupos carboxílicos, deixando-os livres para eventuais modificações adicionais. (DULONG et al, 2004).

Os métodos comumente usados na determinação de densidades de reticulação dos polímeros são os que medem o volume de equilíbrio de intumescimento e o módulo elástico (SINTOV, et al., 1995). Recentemente, Rubinstein (1992) sugeriu o uso da adsorção de uma solução catiônica de azul de metileno (AM), como um meio de quantificar a reticulação.

O azul de metileno é uma molécula catiônica com uma alta afinidade por sólidos com cargas negativas, conseqüentemente a adsorção de azul metileno na partícula pode ser relacionada com a densidade de reticulação (DULONG, et al., 2004).

As reações de adsorção são geralmente classificadas como adsorção física (ou de Van der Waals) ou adsorção química (quimiosorção). Devido às cargas opostas do azul de metileno e das gomas fosfatadas, a adsorção do azul de metileno pode ser considerada como quimiosorção, em que a energia livre do processo de ligação de azul de metileno aumenta com a reticulação e resulta em um aumento na ligação do azul de metileno ao polímero fosfatado com cargas negativas (GLIKO-KABIR, et al., 2000).

A quantidade de azul metileno absorvido na partícula é proporcional à quantidade de grupos aniônicos e conseqüentemente, à densidade de reticulação (desde que a reação de reticulação conduza à formação de pontes de fosfato no polímero). O número de grupamentos fosfatos são acrescidos com o nível de reticulação (DULONG, et al., 2004).

Neste estudo, a densidade de reticulação foi avaliada medindo-se a capacidade residual do adsorbância do azul de metileno (AM) nas soluções aquosas calculando a concentração de AM adsorvido no polímero através da equação da reta $y = 0,185341 + 0,024063x$ ($r = 0,99864$).

As figuras a seguir mostram a cinética de adsorção do AM em relação ao tempo de contato do AM com os polímeros reticulados e não reticulados nos tempos de 24, 48 e 72 horas de contato com AM.

A Figura 45 mostra o gráfico da cinética de adsorção da galactomanana de Carolina reticulada em NaOH 2% nos tempos de reação de 0,5h, 1h, 2h e 4h. A galactomanana Carolina nativa ou não reticulada apresentou uma concentração de AM em torno de 1,25 a 1,91µg/ml nos tempos 24 a 72 horas de contato com AM, portando uma baixa afinidade de ligação pelo AM.

A galactomanana de Carolina 2%/0,5h, teve um aumento na concentração do AM adsorvido de 4,26 µg/ml no tempo de 24h, para 4,18µg/ml no tempo de 48h, e 4,23 µg/ml no tempo de 72h. Estes valores de AM mais elevados para galactomanana de Carolina 2%/0,5h, podem significar que houve uma maior adsorção na superfície do polímero com grupos aniônicos ligados ao polímero (DULONG *et al.*, 2004). Nesse caso pode ser que o processo de adsorção possa envolver duas etapas: (1) dissociação da interação AM - água; (2) atração e ligação da água dissociada com AM para os grupos aniônicos do polímero (SINTOV, *et al.*, 1995).

A galactomanana de Carolina reticulada 2%/ 1h apresentou uma concentração de AM adsorvido de 24h a 72h em torno de 3,2 a 3,6µg/ml. Isto nos leva a pensar que houve uma redução da densidade de reticulação em relação ao tempo de 0,5h.

A galactomanana de Carolina reticulada 2%/ 2h teve o mesmo comportamento, ficando sua concentração de AM adsorvido nos tempos de 24 a 72 horas em torno de 3,25 a 3,54 µg/ml. Podemos supor que também houve redução da densidade de reticulação em relação aos outros tempos de reticulação.

Já a galactomanana de Carolina 2%/4h teve sua concentração de AM adsorvido de 3,86 a 3,74 µg/ml nos tempos de 24 a 72 horas de contato com o AM. Estes valores revelam que a galactomanana de Carolina reticulada no tempo de 4h ficou com uma densidade de reticulação menor do que o de 0,5h e maior do que 1 e 2 horas de reticulação.

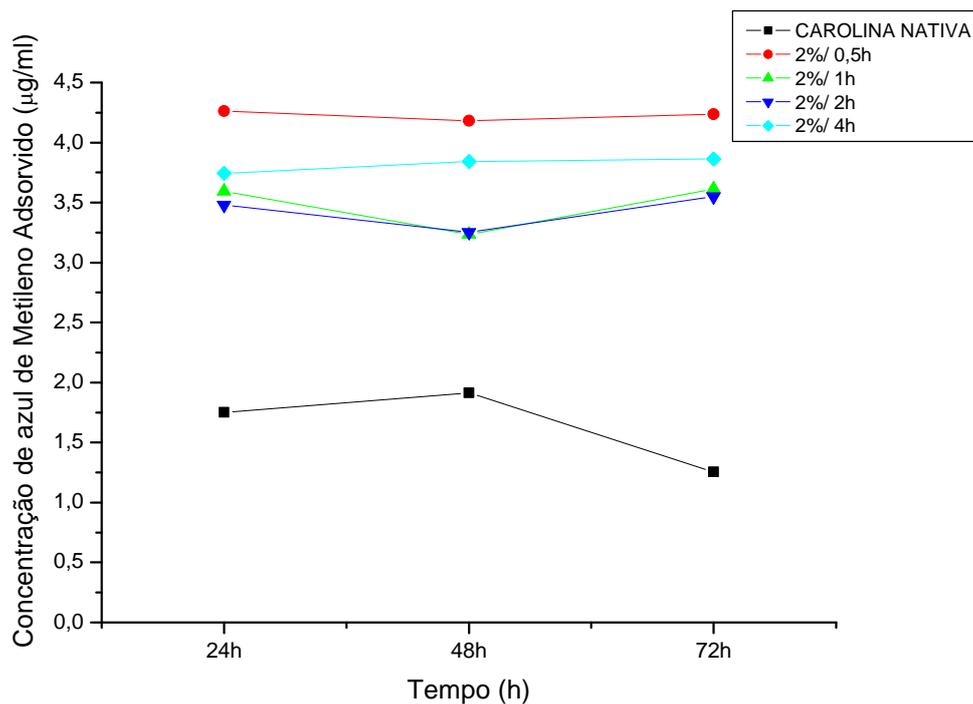


Figura 45: Relação entre a concentração de adsorção do azul metileno na galactomanana de Carolina reticulada, em NaOH 2% e não reticulada em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h.

A Figura 46 mostra o gráfico da cinética de adsorção da galactomanana de Carolina não reticulada e reticulada em NaOH 4% nos tempos de reação de 0,5h 1h, 2h e 4h. A galactomanana de Carolina nativa teve sua concentração de adsorção do AM entre 1,25 a 1,95µg/ml nos tempos de contato de 24 a 72h.

A galactomanana de Carolina 4%/0,5h, teve a adsorção do AM aumentada consideravelmente para uma concentração de 3,65µg/ml no período de 24h a 3,93 µg/ml em 72h. Portanto o aumento da concentração de adsorção do AM nos leva a crer que houve uma elevação das cargas negativas após a adição do reticulante e conseqüentemente um aumento da adsorção do AM no polímero reticulado e um aumento da densidade de reticulação (DULONG, et al., 2004).

A galactomanana de Carolina 4%/1h teve a concentração de AM adsorvido de 3,25 a 3,50µg/ml no intervalo de 24 as 72h de contato, havendo assim, uma redução da densidade de reticulação do polímero.

A galactomanana de Carolina 4%/2h apresentou uma concentração de adsorção do AM de 3,57 a 3,72 $\mu\text{g/ml}$, no período de 24 a 72h de contato, portanto, apresentando uma densidade de reticulação menor do que a 4%/0,5h e maior do que a amostra 4%/1h.

A galactomanana de Carolina 4%/4h apresentou uma concentração de 3,76 a 3,97 $\mu\text{g/ml}$ de AM adsorvido, ficando com a concentração de AM superior até o tempo de 48h de contato e reduzindo após este tempo. Possivelmente essa redução ocorreu pelo processo de dessorção do AM na superfície do polímero.

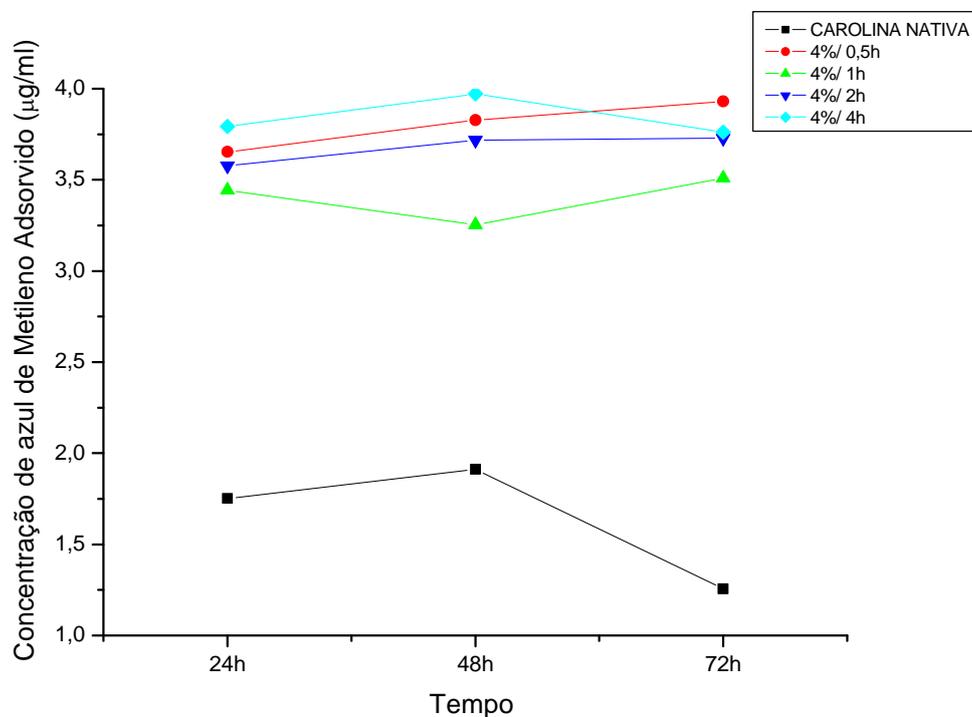


Figura 46: Relação entre a concentração de adsorção do azul metileno na galactomanana de Carolina reticulada em NaOH 4% e, não reticulada em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h.

A Figura 47 mostra a cinética de adsorção da galactomanana de Flambuoyant não reticulado e reticulado em NaOH 2% no tempo de reação de 0,5, 1, 2 e 4 horas.

A galactomanana de Flambuoyant nativa apresentou uma concentração de adsorção do AM de 2,47 a 3 $\mu\text{g/ml}$; estes valores semelhantes aos da galactomanana de Carolina e também mostram

um baixa afinidade pelo AM. A galactomanana de Flambuoyant 2%/0,5h apresentou uma concentração de adsorção de 3,87 a 4,25µg/ml. Este aumento de concentração do AM no polímero deve-se ao fato que o trimetafosfato de sódio pode reagir com dois grupos hidroxilas pertencentes à mesma cadeia polimérica e/ou com somente um grupo hidroxila (mono ligado ao fósforo) (LACK, et al., 2004) A ligação do grupo trimetafosfato com os grupos hidroxilas do polímero fornece cargas negativas à sua estrutura, possibilitando a ligação do azul de metileno aos grupos aniônicos do polímero fosfatado (LACK, et al., 2004). Conseqüentemente, pode-se concluir que a densidade de reticulação é proporcional ao aumento da afinidade do AM na superfície do polímero.

A galactomanana de Flambuoyant 2%/1h apresentou uma concentração de 3,54 a 3,92 µg/ml de AM adsorvido. Apresentando uma densidade de reticulação menor do que a encontrada para outros tempos de reticulação.

A galactomanana de Flambuoyant 2%/2h apresentou uma concentração de 3,58 a 4,40 µg/ml de AM adsorvido, obtendo-se uma densidade de reticulação maior do que nos outros tempos de reticulação.

A galactomanana de Flambuoyant 2%/4h apresentou uma concentração de 3,96 a 4,07µg/ml adsorvido, mostrando uma densidade superior as amostras 0,5h, 1h de reticulação.

Houve redução após o tempo de 48h, possivelmente ocorra em conseqüência do processo de dessorção.

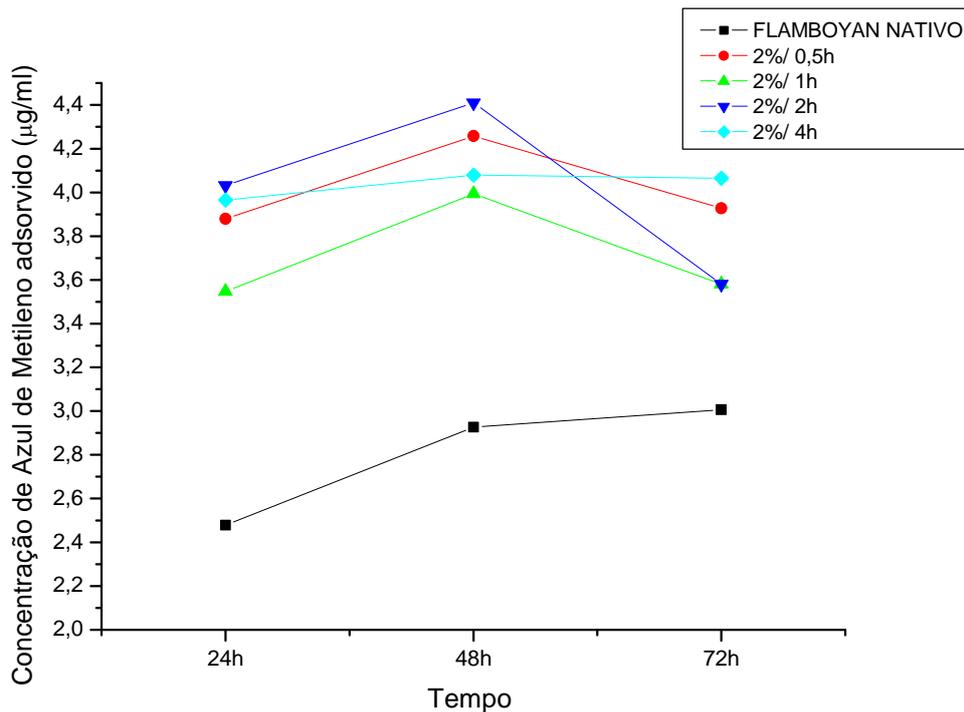


Figura 47: Relação entre a concentração de adsorção do Azul Metileno da galactomanana de Flambuoyant reticulada em NaOH 2% e não reticulada, em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h.

A Figura 48 mostra a cinética de adsorção da galactomanana de Flambuoyant reticulado em NaOH 4% nos tempos de reticulação de 0,5, 1, 2 e 4 horas, e em contato com o AM de 24 a 72 horas.

A galactomanana de Flambuoyant 4%/0,5h apresentou uma concentração de adsorção de AM de 3,78 a 4,13µg/ml no tempo de contato de 24 a 72h com o AM, apresentando uma densidade de reticulação maior do que as amostras com outros tempos de reticulação

A galactomanana de Flambuoyant 4%/1h mostrou uma concentração de adsorção de 3,81 a 3,98 µg/ml após 24 a 72h de contato, apresentando uma densidade de reticulação menor do que a amostra de 4%/0,5h e maior do que as outras com tempos de reticulação. A galactomanana de Flambuoyant 4%/2h obteve uma concentração de adsorção de 3,14 a 3,56 µg/ml de 24 a 72h de contato, apresentando uma densidade de reticulação menor do que as amostras com outros tempos de reticulação. A galactomanana de Flambuoyant 4%/4 h apresentou uma concentração de adsorção de 3,69 a 3,90 µg/ml nos tempos de 24 a 72h, mostrando que a densidade de reticulação está acima somente da amostra com 2h de reticulação.

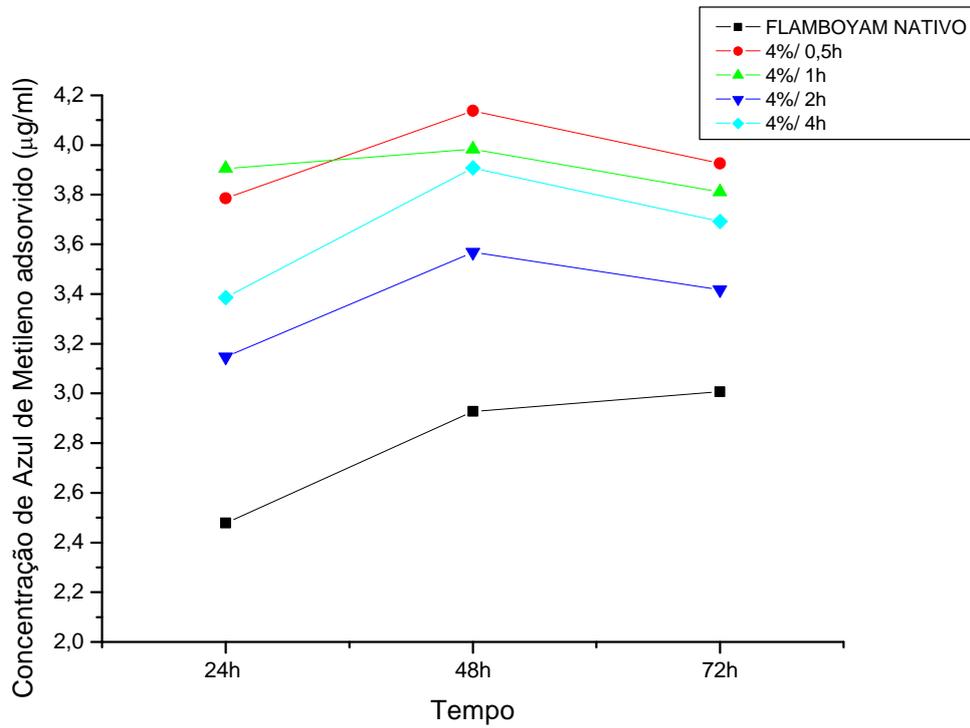


Figura 48: Relação entre a concentração de adsorção do Azul Metileno da galactomanana de Flambuyant reticulado em NaOH 4% e não reticulado em relação ao tempo de contato do AM nos tempos de 24, 48 e 72h.

5. CONCLUSÕES

Os métodos de obtenção e purificação das galactomananas reticuladas de Flambuoyant e da Carolina mostraram-se adequados, já que permitiram a obtenção dos polímeros com rendimento médio de 88,15%, nas amostras da Carolina reticuladas em NaOH 2%, 91,75%, nas amostras de Carolina reticulada em NaOH 4%, 97,66% nas amostras de Flambuoyant reticuladas em NaOH 2% e 96,62% nas amostras de Flambuoyant reticuladas em NaOH 4%.

Comparando as duas espécies estudadas, *Delonix regia* (Flambuoyant) e *Adenantha pavonina* L.(Carolina), a primeira apresentou maior capacidade de reter umidade do ambiente, provavelmente devida a uma maior ramificação da estrutura da macromolécula (7,15 e 5,9%, respectivamente).

Comparando-se os teores protéicos encontrados após a extração e purificação da goma das duas espécies estudadas, a *Delonix regia* apresentou um teor de proteína maior do que o apresentado pela *Adenantha pavonina* L. (2,5340 e 2,0233%, respectivamente).

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi útil como uma ferramenta de apoio na interpretação dos resultados obtidos, porém limitada se utilizada isoladamente.

A técnica de reologia mostrou ser uma importante ferramenta na análise dos polímeros, pois através das análises de viscoelasticidade podemos observar que houve mudanças significativas no comportamento viscoelástico dos polímeros reticulados em relação aos polímeros não reticulados, tanto do Flambuoyant como da Carolina. O módulo elástico G' apresentou-se bem superior em todos os tempos de reticulação em relação ao polímero não reticulado.

A Carolina apresentou um comportamento de líquido viscoso, caracterizado pelo valor de G' sempre menor que o G'' , ressaltando-se que a quantidade de conexões do reticulante não foi suficiente para caracterizar um sólido elástico, possivelmente a concentração de reticulante usado tenha sido insuficiente para modificar o hidrogel de forma a se tornar um sólido elástico, portanto podendo formar um gel físico.

Já o Flambuoyant apresentou um comportamento viscoelástico mais acentuado do que a Carolina, pois G' foi bem maior do que G'' em todos os tempos de reticulação, mostrando uma maior estruturação do polímero. Baseado nestes dados, provavelmente as galactomananas nativas e reticuladas a partir do Flambuoyant seja mais atrativo como um sistema de liberação do que a Carolina.

A análise do grau de intumescimento das partículas aliada à reologia mostrou ser útil para a caracterização dos polímeros, pois, através dela, foi possível observar que os produtos reticulados de ambas as origens tiveram sua capacidade de absorver água aumentada significativamente em relação ao não reticulado, formando um gel viscoso.

O método de determinação da densidade de reticulação pelo azul de metileno apresentou-se útil, pois mostrou a mudança da natureza não iônica do polímero não reticulados para natureza aniônica dos polímeros reticulados com trimetafosfato de sódio.

6. BIBLIOGRAFIA

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN Jr, L. V. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. p. 443-449.

ASPINALL, G.O. Isolation and fractionation of polysaccharides, In: **The polysaccharides**. Vol. I, New York: Academic Press, 1982. p. 19-26.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

AZERO, E.G.R. **Galactomananas de fontes não-tradicionais e sua utilização em misturas**. 1999. Tese de doutorado apresentada no Instituto de macromoléculas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IMA/UFRJ), Rio de Janeiro.

BAICHWALL, A., NEVILLE, D.A. Culturing innovation and enhancing medications using oral drug delivery. **Drug Deliv. Technol.**, v. 2, p. 65-68, 2002.

BAILEY, L. H. **Manual of cultivated plants**. 2 ed. New York: Macmillan Publishing, 1954. p. 588-589.

BALLARD, B. E. An overview of prolonged action drug dosage forms. In Sustained and controlled Release Drug Delivery Systems. Edited by J. R. Robinson. New York, Marcel Dekker, 1978. Citado por: LORDI, N. Formas farmacêuticas prolongadas. In: LACHMAN, LEON; LIEBERMAN, HERBERT A.; KANIG, JOSEPH L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundacao Calouste Gulbenkian, 2001. Vol. II, Cap. 14.

BARTOVSK, A. L.; BARTOVSK, V. T. Dimensional changes of polymeric foils in liquid media, in: Proceedings of the 36th **Microsymposium on High-swelling Gels**, Prague, 1995.

BILLMEYER Jr. F.W. **Textbook of Polymer Science**, 3 ed. New York: J. Wiley & Sons, 1984.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3 ed. comemorativa do II Congresso Brasileiro de Florestas Tropicais. Mossoró 18 a 24 de julho de 1976.

BRETAS, R. E. S.; D'AVILA, M. A. **Reologia de polímeros fundidos**. São Carlos: UFSCar, 2000. p. 17, 28-29.

BRESOLIN, T.M.B. et al. Viscometric studies on xanthan and galactomannan systems. **Carbohydr. Polym.** v. 33, p. 131-138, 1997.

BRESOLIN, T.M.B. et al. Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 26, p. 225-231, 1999.

BRUN, J. P.; LARCHET, C.; MELET, R.; BULVESTRE, G. Modeling of the pervaporation of binary mixtures through moderately swelling non-reactive membranes, **J. Membr. Sci.**, v. 23, p. 57, 1985.

- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2001.
- CHAURASIA, M; CHOURASIA, M. K.; JAIN, N. R.; JAIN, A.; SONI, V.; GUPTA, Y.; e JAIN, S. K. Cross-linked guar gum microspheres: A viable approach for improved delivery of anticancer drugs for the treatment of colorectal cancer. *AAPS PharmSciTech* 2006; 7 (3) Article 74. India. p. E1-E9
- CORA, L. A.; ROMEIRO, F. G.; STELZER, M.; AMERICO, M. F.; OLIVEIRA, R. B.; BAFFA, O.; MIRANDA J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Adv. Drug Delivery. Rev.**, v. 57, n. 8, p. 1223-1241, 2005.
- COVIELLO, T.; MATRICARDI, P.; MARIANECCI, C.; ALHAIQUE, F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. **Journal of Controlled Release**, v. 119, p. 5-24, 2007.
- CURY, B. S. F. **Reticulação da alta amilose: processo de obtenção, caracterização e avaliação do desempenho em sistema de liberação prolongada de fármacos**. 2005. 124p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara.
- DANCKWERTS, M.; FASSIHI, A. Implantable controlled release drug delivery systems. A review. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 17, n. 11, p. 1465-1502, 1991.
- DAS, S. S. Baranwal, S. A. Rayeeny, Punita Singh and Vibha Srivastava. Studies of the Optical Properties of Sodium Copolyphosphate Glasses. **Progress in crystal growth and characterization of materials** (2002) p. 155-161.
- DEA, I.C.M.; MORRISON, A. Chemistry and interactions of seed galactomannan. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 31, p. 241-312, 1975.
- DEY, P.M. Biochemistry of plant galactomannans. **Adv. Carbohydr. Chem BioChem.**, v. 35, p. 341-376, 1978.
- DULONG, V.; LACK, S.; LE CERF, D.; PICTON, L.; VANNIER, J. P.; MULLER G. Hyaluronan-based hydrogels particles prepared by crosslinking with trisodium trimetaphosphate. Synthesis and characterization. **Carbohydrate Polymers.**, v. 57, p. 1-6, 2004.
- EFENTAKIS, M.; VIACHOU, M.; CHOULIS, N. H. Effects of excipients on swelling and drug release from compressed matrices. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 23, n. 1, p. 107-112, 1997.
- FIGUEIRO, D.S.; GÓES J.C.; MOREIRA, R.A.; SOMBRA A. S. B. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan – collagen films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 313-320, 2004.
- FRIEND, D.R. Issues in oral administration of locally acting glucocorticosteroids for treatment of inflammatory bowel disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 12, n. 7, p. 591-603, 1998.

- GANTER, J.L.M.S.; MILAS, M.; CORREA, J. B. C.; REICHER, F.; RINAUDO, M. Study of solutions properties of galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella*. **Carbohydr. Pol.**, v. 17, p. 171-175, 1992.
- GEHRKE, S. H.; LEE, P. I. Hidrogels for drug delivery systems. In: TYLE, P. Specialized drug Delivery Systems. Manufacturing and production technology. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 333-392. (Drug and the Pharmaceutical Science, v. 41).
- GLICKSMAN, M. Tara Gum. In: Glicksman, M. **Food Hydrocolloids**. Florida: CRC Press, 1986. v. 3, cap. 7, p. 186-198.
- GLIKO—KABIR, I.; YAGEN, B.; PENHASI, A. e RUBINSTEIN, A. Low swelling, crosslinked guar and its potential use as colon-specific drug carrier. **Pharmaceutical Research**, v 15, n°7,1998. p. 1019-1025.
- GLIKO—KABIR, I.; YAGEN, B.; PENHASI, A.; RUBINSTEIN. Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery. I. Preparation and physicochemical characterization. **Journal of Controlled realease.**, v. 63, p. 121-127, 2000.
- HANAUER, S. B. Medical therapy of ulcerative colitis. **The Lancet**, v. 342, n. 8868, p. 412-417, 1993.
- HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa**. 5.ed. Rio de Janeiro: LTC. 2001. p. 695-698.
- HELLER, J. Fundamentals of Polymer Science. In: ROBINSON, J. R.; LEE, V. H. **Controlled Drug Delivery. Funtamentals and applications**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1987. Cap. 3, p. 140-177. (Drug and the Pharmaceutical Science, v. 129).
- HICKEY, A. J.; GANDERTON, D. **Pharmaceutical Process Engineering**. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 174-197. (Drugs and the Pharmaceutical Science, v. 112).
- HUANG, R.Y.M. Pervaporation Membrane Separation Processes, Amsterdam: Elsevier, 1990.
- IZÁK, P.; HOVORKA, S.; BARTOVSKÝ, T.; BARTOVSKÀ, L.; CRESPO, J. G. Swelling of polymeric membranes in room temperature ionic liquids, **Journal of Membrane Science**, v. 296, p. 131-138, 2007.
- KAPOOR, V. P. Galactomannan from the seeds of *Delonix regia*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 1129-1132, 1972.
- KASEMSUWAN, T.; BAILE, T.; JANE, J. Preparation of clear noodles with mixtures of tapioca and high-amylase starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, n. 3-4, p. 301-312, 1998.
- KINGET, R.; KALALA, W.; VERVOORT, L.; MOOTER, G. V. D. Colonic drug Targetin. **Journal. Drug Target**, v. 6, n. 2, p. 129-149, 1998.

- KRISHNAIAH, Y. S. R.; SATYANARAYANA, S.; RAMA PRASAD, Y. V. e NARASIMHA RAO, S. Evaluation of guar gum as a compression coat for drug targeting to colon. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 171, (1998). p. 137-146.
- KUMAR, M.N.V.R.; KUMAR, N. Polymeric controlled drug-delivery systems: perspective issues and opportunities. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 27, n. 1, p. 1-30, 2001.
- KYDONIEUS, A. F. **Controlled release technologies: methods, theory and applications**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1980. Vol. H.
- LACK, S.; DULONG, V.; LE CERF, D.; PICTON, L.; ARGILLIER J. F.; MULLER, G. Hydrogels based on pullulan crosslinked with sodium trimetaphosphate (STMP): rheological study. **Polymer Bulletin**, v. 52, p. 429-436, 2004.
- LEICA QWIN USER GUIDE. Image processing and analysis system. Cambridge. P. G20, 1996.
- LEITNER, S.C.S. Estudo de polissacarídeos da semente de *Sthyphnodendron barbatiman* (barbatimão). Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1991.
- LEOPOLD, C. S. Targeted delivery in den gastrointestinaltrakt. **Medizinische Klinik**, v. 94, p. 6-11, 1999.
- LORDI, N. Formas farmacêuticas prolongadas. In: LACHMAN, LEON; LIEBERMAN, HERBERT A.; KANIG, JOSEPH L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundacao Calouste Gulbenkian, 2001. Vol. II, Cap. 14.
- LORENZO-LAMOSA, M. L. et al. Design of microencapsulated chitosan microspheres for colon drug delivery. **J. Control. Release**, v. 52, p. 109-118, 1998.
- LUCINDA-SILVA, R. M.; EVANGELISTA, R. C. Sistemas para liberação colônica: uma alternativa para a veiculação de fármacos para efeito local ou sistêmico. **Rev. Ciênc. Farm.**, v. 22, p. 11-28, 2001.
- LUCINDA-SILVA, R. M. Sistemas multiparticulados à base de quitosana para liberação colônica de fármacos. Araraquara, 2003. 185f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara.
- LUCYSZYN, N. **Galactomananas: novas fontes do biopolímero e aplicações na indústria alimentícia**. 1994. 150f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- MAIER, H. et al. In: Whistler, R.L., BeMiller, J. N. (Eds.), **Industrial Gums: Polysaccharides and their Derivatives**. 3.ed. New York: Academic Press., 1993. p. 215.
- MATOS, V. C. **Gomas Endospérmicas de *Delonix regia* e *Schizolobium parahybae***. 2000. 113f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

- McCALL, T.W.; BAICHWALL, A.R. In vitro-in vivo correlation of TIMERx-metoprolol products. *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* v. 21, p. 812-813, 1994.
- THE MERCK INDEX AN ENCYCLOPEDIA OF CHEMICAL, DRUGS AND BIOLOGICALS. 13.ed. New Jersey: Merck Research Laboratories Division of Merck e Co., 2001. p. 3133, 6574.
- MIKLI, V.; KÄERDI, H.; KULU, P.; BESTERCI, M. Characterization of powder particle morphology. *Proc. Estonian Acad. Sci. Eng.*, v. 7, n. 1, p. 22-34, 2001.
- MORRIS, E.R. et al. A role for polysaccharide conformation in recognition between *Xanthomonas* pathogens and its plant host. *J. Mol. Biol.*, v. 110, p. 1-16, 1977.
- MORTON, F.; HUANG, R. Y. M.; LIN, V. J. C. Diffusion coefficients of liquids in polymer membranes by a desorption method, *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 14, p. 523, 1970.
- MOUSTAFA, Y. M.; EL-EGILI, K.; Infrared spectra of sodium phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline solids.*, v. 240, p. 144-153, 1998.
- MUHAMMAD, K.; HUSSIN, F.; GHAZALI, Y. C.; KENNEDY, J. F. Effect of pH on phosphorylation of sago starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 42, n. 1, p. 85-90, 2000.
- O'CONNOR, R. E.; SCHWARTZ, J. B. Powder. In: GENNARO, A. R (Ed.). **Remington: The science and practice of pharmacy.** 20.ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 2000. Cap. 37, p. 685.
- OLIVEIRA, G. F. Incorporação de polímeros gastroresistentes à sistema multiparticulado a base de quitosana. 2005. 159p. Dissertação (mestrado em ciências farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara.
- PAULA, R. C. M., **Gomas de *Anacardium occidentale* L.:** isolamento, caracterização e estudo reológico. 1990. 138p. Dissertação (Mestrado em química orgânica e inorgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- PEPPAS, N. A.; KHARE, A. R. Preparation, structure and difusional behavior of hydrogels in controlled release. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 11, p. 1-35, 1993.
- RATHBONE, M. J.; HADGRAFT, J.; ROBERTS, M. S. *Modified-Release Drug Delivery Technology.* New York: Marcel Dekker, 2003.
- REDESCHI, M. C. M. **Preparação e caracterização de filmes a NaOH de xiloglucana extraída da semente de *Hymenaea courbaril* (Jatoba).** 2006. 95p Dissertação (Mestrado em ciências farmaceuticas) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara.
- RUBINSTEIN, A.; NAKAR, D.; SINTOV, A. Chondroitin sulfate: a potencial biodegradable carrier for colon-specific drug delivery. *Internatinal Journal Pharmaceutics*, v. 9, p. 276-278, 1992.

- RUBINSTEIN, A.; RADAI, R.; EZRA, M.; PATHAK, S.; ROKEM, J. M. *In vitro* evaluation of calcium pectinate: a potencial colon-specific drug delivery carrier. **Pharm. Res.**, v. 10, n. 2, p. 258-263, 1993.
- SCHRAMM, G. Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos; tradução e adaptação: Mothe, C.G et al.; São Paulo: Artliber Editora, 2006.
- SEMDÉ, R.; AMIGHI, K.; PIERRE, D.; DEVLEESCHOUWER, M. J.; MOËS A. J. Leaching of pectin from mixed pectin/ insoluble polymer films intended for colonic drug delivery. **Int. J. Pharm.**, v. 174, n. 1-2, p. 233-241, 1998.
- SEMDÉ, R. et al. Effect of pectinolytic enzymes on the theophylline release from pellets coated with water insoluble polymers containing pectin HM or calcium pectinate. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 197, n. 1-2, p. 169-179, 2000.
- SILVA, C.; AMIGHI, K.; PIERRE, D.; DEVLEESCHOUWER, M. J.; MOËS A. J. Administração oral de peptídeos e proteínas: I. Estratégia gerais para aumento da biodisponibilidade oral. **Revista Brasileira. Ciências. Farmacêuticas.**, v. 38, n. 2, p. 125-140, 2002.
- SINHA, V. R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 224, p. 19-38, 2001.
- SINTOV, A.; DI-CAPUA, N.; RUBINSTEIN, A. Cross-linked chondroitin sulphate: characterization for drug delivery purposes. **Biomaterials**, v. 16, n. 6, p. 473-478, 1995.
- SITTIKIYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M. P. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydr. Polymers.**, v. 58, p. 330-350, 2005.
- STANIFORTH, J.N., BAICHWALL, A.R. Synergistically interacting heterodisperse polysaccharides: function in achieving controlled drug delivery. **ACS Symp. Ser.**, v. 520, n. 24, p. 327-350, 1993.
- STANIFORTH, J. N. Análise do tamanho de partícula. In: AUTON, M. E., **Delineamento de formas farmacêuticas**. 8 ed., Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 163-176.
- TANAKA, T., FILLMORE, D.J. Kinetics of swelling of gels. **J. Chem. Phys.**, v. 70, p. 1214, 1979.
- TAVARES, R. O. **Galactomanana de *Adenantha pavonina* L. Aplicação para o isolamento de lectinas galactose-específicas**. 1998. 95f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- TOZAKI, H.; KOMOIKE, J.; TADA, C.; MARUYAMA, T.; TERABE, A.; SUZUKI, T.; YAMAMOTO, A.; MURANISHI, S. Chitosan capsules for colonic-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from the rat colon. **Journal Pharmaceutis Science.**, v. 86, p. 1016-1021, 1997.

UGHINI, F.; ANDREAZZA, I.F.; GANTER, J.L.M.S.; BRESOLIN, T.M.B. Evaluation of xanthan and highly substituted galactomannan from *M. scabrella* as a sustained release matrix. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 271, p. 197-205, 2004.

USP DI. **Drug Information for the Health Care Professional.** 19.ed. Rockville: Micromedex, 1999. v.1, p. 999.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie: für stadium und beruf.** 9.ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2000. p.161.

WANG,J. SOMASUNDARAN, P. Study of galactomannose interaction with solids using AFM, IR and allied techniques. **Journal of Colloid and Interface Science.**, v. 309, p. 373- 383, 2007.

WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J.N. Polysaccharides and Their Derivatives. In: **Industrial Gums.** 3.ed. New York: Academic Press, 1993. p.619.

WHISTLER, R. L.; HYMOWITZ, T. **Guar:** Agronomy. Production, Industrial Use and Nutrition. Indiana: Purdue University Press, 1979. p. 124.

WHISTLER, R.L; MILLER, J.N. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists.** By the American Association of Cereal Chemists, 1997.

WOO, K.; SEIB P. A. Crosslinking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. **Carbohydrate Polymers**, v. 33, n. 4, 263-271, 1997.

YAMAMOTO, A. et al. Colon- specific delivery of peptide drugs and-inflammatory drugs using chitosan capsules **S.T.P. Pharma Sci.**, v. 10, n. 1, p. 23-34, 2000.