

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

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE
XILOGLUCANA EXTRAÍDA DE SEMENTES DE *HYMENAEA*
***COURBARIL* (JATOBÁ)**

MARIA CAROLINA MORO REDESCHI

ORIENTADOR: Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista

ARARAQUARA - SP

2006

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

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE
XILOGLUCANA EXTRAÍDA DE SEMENTES DE *HYMENAEA*
COURBARIL (JATOBÁ)

MARIA CAROLINA MORO REDESCHI

Dissertação (ou Tese) 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

2006

MARIA CAROLINA MORO REDESCHI

Preparação e caracterização de filmes a base de xilogucana extraída de sementes de
Hymenaea courbaril (jatobá)

A comissão julgadora dos trabalhos de defesa da Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 11/ 08/ 2006, considera a candidata:

REPROVADA

APROVADA

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

2) Examinador (Prof. Dr. Luís A. Pedro de Freitas) _____

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

Araraquara, onze de agosto de 2006

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu marido, que foram os maiores incentivadores nessa jornada, e especialmente ao meu filho Pedro Henrique que em sua breve passagem pela Terra me ensinou o significado do verdadeiro amor...

**“Pouco conhecimento faz que as criaturas se sintam
orgulhosas
Muito conhecimento, que se sintam humildes
É assim que as espigas sem grãos erguem
desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que
as cheias a baixam para a terra, sua mãe.”**

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus por esta oportunidade, que um dia eu possa retribuir à sociedade de maneira benevolente e caridosa...“Cada um dê conforme decidir em seu coração, sem pena ou constrangimento, porque Deus ama quem dá com alegria...” (2-Cor 9, 7).

Agradeço aos meus pais Jorge Luís e Arlete pelo amor incondicional e total apoio que me deram e por sempre ter acreditado no meu potencial...

Ao meu marido Guilherme por sempre ter me motivado a ser uma pessoa melhor... pelo amor, companheirismo e carinho que me fizeram superar os momentos difíceis... pelos momentos maravilhosos de troca de idéias... bate papo sem compromisso...obrigada por ser muito mais que um marido, por ser o amor da minha vida...

Aos meus irmãos Paulo Humberto e Marco Antonio, a minha tia Julieta, a minha prima Gracielle, aos meus outros tios e primos, agradeço por serem familiares tão especiais...

À minha segunda família, Cinésio e Cristina Buss, meus cunhados Mariana e Diogo, que de alguma forma também me incentivaram...

As minhas companheiras de república, Alianda, Gabriela, Priscila, Mariana, Graziela, Cristiane, Karen e Traudi pelos momentos de união, amizade que fizeram esta jornada ser mais agradável e alegre...

A todos vocês o meu muito obrigada!!!

AGRADECIMENTOS

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Raul César Evngelista, pela amizade, orientação e pelo incentivo à diferença.

As professoras da Universidade Estadual de Maringá (UEM) Dra. Mara Lane C. Cardoso e Dra. Marli Miriam de Souza Lima pelo incentivo, esclarecimento e amizade.

À Prof. Dra. Ana Dóris pelas sugestões, apoio e críticas que propiciaram um maior aprofundamento nas questões polêmicas da pesquisa.

À Prof. Dra. Maria Palmira D. Gremião por todo o auxílio, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Osvaldo de Freitas da USP - Ribeirão Preto pelas análises realizadas por testes mecânicos em seu laboratório.

Aos professores: Dr. Osvaldo de Freitas e Luís Alexandre Pedro de Freitas pelas ótimas contribuições prestadas como banca examinadora deste trabalho.

Ao técnico Paulo da USP - Ribeirão Preto pelas análises realizadas por calorimetria exploratória diferencial.

Ao Prof. Dr. Celso Valentim Santilli do Instituto de Química da UNESP pelas análises reológicas realizadas.

A todos os amigos do mestrado Rubiana, Karen, Traudi, Luana, Daniela, Cristina, Gisele, Helen, Andréia, Nelson, Arnóbio, Thiago, Kelly, Fernando, Najeh, Gustavo pelos momentos de alegria.

À Flávia, estagiária de iniciação científica, obrigada por todo o seu auxílio e amizade durante a execução dos experimentos.

Aos funcionários da FCF-UNESP, em especial a Margareth e a Fátima pelo auxílio no dia-a-dia e pela amizade.

A toda equipe da biblioteca da FCF pela total dedicação e auxílio.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Meu especial agradecimento a todas as pessoas que colaboraram como sujeitos da pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
3 REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 Sistemas de liberação controlada	4
3.2 Perspectivas do uso de polissacarídeos em sistemas de liberação	7
3.3 Aplicações dos polissacarídeos na tecnologia de formação de filmes	11
3.3.1 Formação de filmes.....	13
3.4 Xiloglucanas de <i>Hymenaea courbaril</i>	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Material.....	21
4.2 Equipamentos e acessórios	22
4.3 Métodos	23
4.3.1 Extração e purificação do polissacarídeo	23
4.3.2 Caracterização do polissacarídeo.....	25
4.3.2.1 Determinação do teor de açúcares totais	25
4.3.2.2 Determinação do teor de proteínas.....	25
4.3.2.3 Determinação do teor de umidade	27
4.3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	27
4.3.2.5 Determinação da capacidade de intumescimento	27

4.3.2.6	Determinação do comportamento reológico.....	28
4.3.2.7	Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC)	28
4.3.3	Estudos preliminares para a obtenção de filmes.....	30
4.3.4	Formação dos filmes contendo xiloglucana	32
4.3.5	Formação de filmes contendo xiloglucana a 1% e plastificantes	32
4.3.6	Caracterização dos filmes	33
4.3.6.1	Espectroscopia de infravermelho.....	33
4.3.6.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	33
4.3.6.3	Análise mecânica	33
4.3.6.4	Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC)	34
4.3.6.5	Estudos de permeabilidade ao vapor d'água	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	Extração e purificação do polissacarídeo.....	37
5.2	Caracterização do polissacarídeo	40
5.2.1	Determinação do teor de açúcares totais.....	40
5.2.2	Determinação do teor de proteínas	40
5.2.3	Determinação do teor de umidade	41
5.2.4	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	42
5.2.5	Análise do comportamento de intumescimento	44
5.2.6	Comportamento reológico.....	46
5.2.7	Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	54
5.4	Formação dos filmes contendo xiloglucana.....	57
5.4.1	Formação de filmes contendo xiloglucana a 1% e plastificantes	59
5.5	Caracterização dos filmes	61
5.5.1	Espectroscopia no infravermelho	61

5.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	63
5.5.3 Análise mecânica	67
5.5.4 Estudos de calorimetria exploratória diferencial.....	75
5.5.5 Estudos de permeabilidade ao vapor d'água	78
6 CONCLUSÕES	84
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE ABREVIATURAS

DiETG: dietilenoglicol

DSC: calorimetria exploratória diferencial

DTG: termogravimetria derivada

ETG: etilenoglicol

GLI: glicerol

MEV: microscopia eletrônica de varredura

P: permeabilidade ao vapor d'água

PM: peso molecular

PPG: propilenoglicol

SLCF: sistemas de liberação controlada de fármacos

TEA: trietanolamina

TG: termogravimetria

T_g: temperatura de transição vítrea

XIL: xiloglucana

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Frutos de <i>Hymenaea courbaril</i> (jatobá).....	17
Figura 2	Massa pulverulenta encontrada no interior do fruto de <i>H. courbaril</i>	17
Figura 3	Sementes de <i>H. courbaril</i> (jatobá).....	18
Figura 4	Esquema da estrutura parcial da XIL.....	19
Figura 5	Fluxograma do processo de extração e purificação da XIL.....	24
Figura 6	Representação esquemática do dispositivo de Enslin.....	28
Figura 7	XIL obtida por extração aquosa das sementes de jatobá.....	38
Figura 8	Espectro da XIL na região do infravermelho.....	43
Figura 9	Perfil de intumescimento (%) de XIL em diferentes meios.....	45
Figura 10	Reograma da dispersão de XIL com concentração de 2 g/L.....	50
Figura 11	Reograma da dispersão de XIL com concentração de 5 g/L.....	50
Figura 12	Reograma da dispersão de XIL com concentração de 10 g/L.....	51
Figura 13	Representação gráfica da relação entre viscosidade <i>versus</i> gradiente de cisalhamento da dispersão de XIL com concentração de 2 g/L.....	52
Figura 14	Representação gráfica da relação entre viscosidade <i>versus</i> gradiente de cisalhamento da dispersão de XIL com concentração de 5 g/L.....	52
Figura 15	Representação gráfica da relação entre viscosidade <i>versus</i> gradiente de cisalhamento da dispersão de XIL com concentração de 10 g/L.....	53
Figura 16	Curva DSC da XIL sob atmosfera de nitrogênio (120 mL.min ⁻¹) com razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹	55
Figura 17	Fotografia de um filme de XIL a 1%.....	59
Figura 18	Espectros de infravermelho de filmes de XIL a 1%, sem plastificantes (A), com PPG (B) e com GLI (C) como plastificantes.....	62
Figura 19	Fotomicrografias de filmes de XIL obtidas por MEV em aumento de 5000 x (a) e 2000 x (b).....	64

Figura 20	Fotomicrografias de filmes obtidas por MEV em aumento de 5000 x (a), (c), (e) e 2000 x (b), (d), (f). Filmes nas concentrações de 10 g (a), (b); 30 g (c), (d) e 50 g (e), (f) de PPG/100 g de XIL.....	65
Figura 21	Fotomicrografias de filmes obtidas por MEV em aumento de 5000 x (a), (c), (e) e 2000 x (b), (d), (f). Filmes nas concentrações de 10 g (a), (b); 30 g (c), (d) e 50 g (e), (f) de GLI/100 g de XIL.....	66
Figura 22	Alongamento (%) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	69
Figura 23	Módulo elástico (MPa) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	69
Figura 24	Tensão de ruptura (MPa) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	69
Figura 25	Alongamento (%) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	70
Figura 26	Módulo elástico (MPa) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	70
Figura 27	Tensão de ruptura (MPa) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	70
Figura 28	Alongamento (%) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	71
Figura 29	Módulo elástico (MPa) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	71
Figura 30	Tensão de ruptura (MPa) <i>versus</i> concentração de plastificante.....	71
Figura 31	Curva DSC de filmes de XIL (baixo para cima) sem plastificante, com 10, 30 e 50 g de PPG/ 100 g de XIL.....	77
Figura 32	Curva DSC de filmes de XIL (baixo para cima) sem plastificante, com 10, 30 e 50 g de GLI/ 100 g de XIL.....	77
Figura 33	P <i>versus</i> concentração de plastificante (propilenoglicol).....	80
Figura 34	P <i>versus</i> concentração de plastificante (glicerol).....	80
Figura 35	P <i>versus</i> concentração de plastificante	80
Figura 36	P <i>versus</i> concentração de plastificante (propilenoglicol).....	82
Figura 37	P <i>versus</i> concentração de plastificante (glicerol).....	82
Figura 38	P <i>versus</i> concentração de plastificante	82

RESUMO

Os polímeros são constituintes praticamente indispensáveis na preparação de sistemas de liberação controlada de fármacos (SLCF) e a avaliação das propriedades dos materiais poliméricos é de grande importância durante o delineamento desses sistemas. Devido a diversos fatores, tais como facilidade e baixo custo de obtenção, biocompatibilidade e biodegradabilidade, os polissacarídeos são polímeros naturais que vêm sendo amplamente estudados como materiais potencialmente úteis na preparação de SLCF. Além de poderem servir como constituintes formadores da estrutura em sistemas matriciais, caso exibam capacidade filmógena, podem também constituir SLCF mais especializados do tipo reservatório. O objetivo deste trabalho foi verificar algumas propriedades físico-químicas de xiloglucanas extraídas a partir das sementes de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (jatobá) e seu potencial para serem usadas como material polimérico na obtenção de filmes.

O polissacarídeo foi extraído por turbólise em meio aquoso, foi purificado com etanol e por centrifugação e o extrato foi caracterizado. Os filmes foram preparados pelo método da evaporação do solvente e a influência dos parâmetros: concentração do polímero, tempo e temperatura de secagem foi avaliada em relação à qualidade dos filmes resultantes, determinando as condições ótimas de obtenção dos filmes de xiloglucana (XIL). Os filmes de XIL, também contendo propilenoglicol (PPG) e o glicerol (GLI) como plastificantes foram caracterizados por meio de microscopia eletrônica de varredura, testes mecânicos, de permeabilidade ao vapor d'água e de estudos de calorimetria exploratória diferencial.

A extração aquosa apresentou rendimento de 34, 62% em XIL em relação a massa total de sementes. A etapa de centrifugação introduzida, no presente trabalho, no

processo de purificação, pode ter sido responsável pelo rendimento abaixo do esperado, mas, por outro lado, possibilitou obter um extrato mais puro, conforme pode ser observado no baixo teor de proteínas obtido, que foi de 4,71%. O perfil de intumescimento da XIL foi dependente do pH do meio, sendo os maiores valores observados em meio básico. As análises reológicas mostraram que todas as dispersões aquosas de XIL estudadas comportaram-se como fluidos não-Newtonianos do tipo plástico. Os estudos de DSC indicam que o polissacarídeo apresenta-se no estado amorfo, com temperatura de decomposição iniciando-se em cerca de 300 °C. Os filmes de XIL foram formados a 30°C durante um período de 12 h e observou-se que a adição de plastificantes prolongou o período de secagem em 8 h. Os filmes de XIL sem plastificantes apresentaram superfície descontínua, baixos valores de alongamento (%) associados a altos valores de módulo elástico (MPa) e tensão de ruptura (MPa), além de apresentarem valores mais altos de temperatura de transição vítrea (T_g) e de permeabilidade ao vapor d'água (P) quando comparados aos filmes com plastificantes. Observou-se que o tipo e a concentração de plastificantes alteram as propriedades funcionais de filmes de XIL. Os filmes com GLI apresentaram maiores valores de alongamento, menores valores de módulo elástico e de tensão de ruptura do que os filmes com PPG. Além disso, os estudos de DSC indicaram que os filmes com concentrações de 30 g de plastificantes/100 g de XIL apresentaram os menores valores de T_g tanto para o PPG quanto para o GLI. Observou-se também que os filmes contendo PPG apresentaram maiores valores de P do que filmes com GLI nas duas condições estudadas de umidade relativa.

Os filmes de XIL obtidos mostraram interessantes propriedades físico-químicas que sugerem a possibilidade de sua futura aplicação no desenvolvimento de SLCF.

ABSTRACT

Polymers are practically indispensable constituents for the preparation of drug controlled delivery systems (DCDS) and the evaluation of the properties of such polymeric materials is of great importance during the design of these systems. Due to several factors, such as ease and low cost of production, biocompatibility and biodegradability, polysaccharides are natural polymers, which have being widely studied as materials potentially useful for the preparation of DCDS. Besides their ability to serve as constituents responsible for the structure formation in matrix systems, if they show film forming capacity, they will be able to constitute DCDS of the more specialized reservoir type. The aim of the present work was to verify some physicochemical characteristics of xyloglucans (XYL) extracted from seeds of *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (“jatobá”) and their potentiality as polymeric material in film preparation.

The polysaccharide was extracted by turbolysis in aqueous medium, purified with ethanol and centrifugation and the extract was characterized. The films were prepared by solvent casting and the influence of parameters, such as polymer concentration and time and temperature of drying, on the quality of the resulted films was evaluated, determining the optimal conditions for the obtention of the films. XIL films, also containing propylene glycol (PPG) or glycerol (GLY) were characterized by means of scanning electron microscopy, mechanical tests, determination of water vapour permeability and differential scanning calorimetry studies.

The aqueous extraction yielded 34.62% of XYL in relation to the total mass of seeds. The centrifugation step, introduced in the present work during the purification process, can explain such yield lower than the expected, but, on the other hand, it

allowed the obtention of a purer extract, as the protein contents of 4.71% indicates. The XYL swelling profile was dependent on the pH, the highest values being observed in basic media. Rheological analyses showed that all aqueous XYL dispersions behave as non-Newtonian plastic fluids. DSC studies indicated that the polysaccharide remains in an amorphous state and the decomposition begins at around 300°C. XYL films were built at 30°C after 12 h and it was observed that the presence of plasticizers added 8h to the drying period. XYL films without plasticizers showed interrupted surface, low values of elongation associated with high values of elastic modulus and tensile strength, and higher values of glass transition temperature and water vapour permeability, when compared with those films prepared with plasticizers. It was observed that the plasticizer type and concentration altered the functional properties of XYL films. Films containing GLY exhibited higher values of elongation and lower values of elastic modulus and rupture stress than those films containing PPG. Data from DSC studies indicated that films containing 30g plasticizer/100g XYL showed the lowest values of T_g , independent of the plasticizer used. Films containing PPG showed higher values of water vapour permeability than those prepared with GLY.

XYL films have interesting physicochemical properties, suggesting the possibility of their further use in the development of DCDS.

1 INTRODUÇÃO

Sistemas farmacêuticos capazes de liberar o fármaco de maneira controlada e direcionada têm sido objeto de estudo por pesquisadores no mundo todo. Isto ocorre devido às vantagens que tais sistemas proporcionam em relação aos sistemas convencionais de liberação de fármacos (KUMAR e KUMAR, 2001).

Entre tais vantagens estão melhora da eficácia e diminuição da toxicidade, a redução de 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 outras (KUMAR e KUMAR, 2001; SILVA et al., 2002; SILVA et al., 2003a ; SILVA et al., 2003b).

Entre os dispositivos citados na literatura que são capazes de liberar o fármaco de maneira controlada estão os lipossomas e os sistemas nano e microparticulados (MULLER et al., 2000), os sistemas transdérmicos (KUMAR e KUMAR, 2001), microemulsões (VALENTA e SCHULTZ, 2004), entre outros.

Os filmes, além de serem parte integrante de dispositivos do tipo reservatório, podem, eles próprios, ser considerados sistemas de liberação controlada de fármacos, dependendo do tipo de aplicação em que são utilizados. Neste trabalho, os mecanismos que regem a formação de filmes livres serão citados, além das ferramentas utilizadas na caracterização desses sistemas.

As características dos materiais poliméricos que formarão o filme revestidor devem ser estudadas. Torna-se evidente a grande importância de se conhecer as características físico-químicas do polímero a ser empregado.

O uso de polissacarídeos como material revestidor na tecnologia de liberação controlada de fármacos está respaldado por algumas características referentes a essas macromoléculas, tais como baixo custo e alta disponibilidade, uma vez que os polissacarídeos representam quase 90% do peso seco dos carboidratos *in natura*. Além disso, esses compostos apresentam biodegradabilidade, biocompatibilidade e inocuidade (WHISTLER e MILLER, 1997).

As sementes de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (jatobá), árvore brasileira pertencente à família Caesalpiniaceae, constituem uma fonte de xiloglucana (XIL), polissacarídeo com funções estruturais e de reserva no vegetal (BUSATO et al, 2001; LIMA et al., 1993; SOUZA-LIMA, 1997).

Um estudo relacionado à fermentação e degradação da XIL realizado por Hartemink et al. (1996) indica que esse polissacarídeo é degradado principalmente por enzimas de três gêneros de bactérias, *Clostridium* spp., *Bifidobacterium* spp. e *Bacteróides* spp. presentes no intestino grosso. Esta especificidade enzimática, demonstrada por essas bactérias, torna ainda mais promissora a pesquisa desse polissacarídeo como material revestidor, principalmente para aplicação em sistemas de liberação colônica de fármacos.

2 OBJETIVOS

- Extração e purificação do polissacarídeo a partir das sementes de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (jatobá);
- Caracterização parcial do polissacarídeo extraído;
- Preparação de filmes contendo XIL como material polimérico;
- Caracterização dos filmes formados.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Sistemas de liberação controlada

A pesquisa de fármacos tem atravessado diversas fases, iniciando com a busca de plantas medicinais no início das civilizações humanas, evoluindo à fase da química sintética na metade do século XX e, finalmente, a era biotecnológica no início do século XXI (PILLAI et al., 2001). Assim, o final do século passado e o início deste têm sido marcados por grandes avanços tecnológicos incluindo o acentuado desenvolvimento de novas formas de liberação de fármacos.

Por estar envolvida com pesquisa científica multidisciplinar, a tecnologia de liberação controlada de fármacos representa uma das áreas promissoras da ciência, contribuindo de maneira inovadora para o tratamento da saúde do homem. Estes sistemas propõem o uso de macromoléculas poliméricas como carreadores de fármacos. Devido a tal capacidade destes sistemas, tratamentos que não eram passíveis de realização, estão em uso atualmente. (KUMAR e KUMAR, 2001).

Essa tecnologia proporciona algumas vantagens em relação aos sistemas convencionais de liberação de fármacos. Entre tais vantagens estão melhora da eficácia e diminuição da toxicidade, liberação do fármaco no local específico de ação (direcionamento de fármacos), mascaramento do sabor/odor desagradável de alguns fármacos; diminuição do número de doses, além da otimização da administração de produtos oriundos da biotecnologia, tais como vacinas, peptídeos e proteínas, entre outras (.KUMAR e KUMAR, 2001; SILVA et al., 2002; SILVA et al., 2003a ;SILVA et al., 2003b).

A manutenção de concentrações plasmáticas do fármaco em níveis terapêuticos, através de cinéticas de liberação próximas da ordem zero, o que resulta na diminuição da frequência de administração de doses, contribui para a melhoria da eficácia, diminuição dos efeitos colaterais e maior colaboração do paciente ao tratamento (KUMAR e KUMAR, 2001).

Além disso, essa tecnologia pode prevenir inúmeros inconvenientes relacionados ao fármaco, através da melhoria da sua estabilidade com diminuição da velocidade de degradação (DUCLAIROIR et al, 2003). Desse modo, consegue-se incorporar numa única forma farmacêutica substâncias quimicamente incompatíveis.

O desenvolvimento de dispositivos de liberação controlada tem suas razões fundamentadas principalmente em três fatores:

- a) O direcionamento de fármacos para locais específicos de liberação, com conseqüente aumento da eficácia, prevenindo a degradação ou inativação do fármaco durante o trânsito até o local específico de ação. Desse modo, o organismo torna-se protegido de reações adversas provenientes da liberação em locais inespecíficos;
- b) Necessidade do desenvolvimento de sistemas capazes de promover a administração de produtos oriundos da biotecnologia e da engenharia genética, tais como peptídeos, proteínas, vacinas, entre outros;
- c) A geração de novas patentes de produtos contendo fármacos convencionais com o uso desta tecnologia. Isto constitui um motivo especial para a indústria desenvolver medicamentos de liberação controlada.

Desse modo, a indústria farmacêutica tem investido grandemente neste setor tecnológico, devido ao alto retorno financeiro que ele proporciona mesmo a longo prazo. Desde o aparecimento de companhias pioneiras nesta área, Alza Corporation

(EUA) e Elan Corporation (Irlanda), na década de 1960, mais de 350 companhias de dispositivos de liberação de fármacos surgiram no mundo todo com lucros de 22 bilhões de dólares (PILLAI et al., 2001).

A tecnologia relacionada aos medicamentos de liberação controlada é tão complexa, que tem originado uma terminologia, às vezes, ambígua e controversa. Assim, há uma variedade de termos designados para denominar a liberação de tais medicamentos (EVANGELISTA, 2000), tais como liberação modificada, sustentada, retardada, programada, controlada, entre outros.

A terminologia mais aceita é a que designa o termo geral como liberação controlada, pois denota que o sistema está apto a prover um real controle terapêutico (EVANGELISTA, 2000), seja de maneira temporal, controlando o tempo de liberação, ou espacial, através da vetorização de fármacos para locais específicos de ação.

Exemplos de sistemas citados na literatura, que são capazes de liberar o fármaco de maneira controlada são os lipossomas e as nano e micropartículas (MULLER *et al.*, 2000), os sistemas transdérmicos (KUMAR e KUMAR, 2001) e as microemulsões (VALENTA e SCHULTZ, 2004), entre outros.

O recobrimento de formas farmacêuticas com filmes poliméricos constitui tipos especiais de sistemas de liberação controlada, os chamados sistemas reservatórios. Na maioria das vezes, a liberação controlada do fármaco, a partir da forma farmacêutica revestida com filme, ocorre em consequência da dissolução do filme pelos fluidos do trato gastrointestinal ou pela penetração destes fluidos através do filme, com consequente difusão do fármaco neles dissolvido.

3.2 Perspectivas do uso de polissacarídeos em sistemas de liberação

Na tecnologia de liberação controlada, é muito importante que as características dos materiais poliméricos sejam conhecidas e estudadas. Sabe-se que muitos dos resultados obtidos em relação ao perfil de liberação de um dado fármaco estão diretamente ligados às propriedades do polímero, assim como às interações existentes entre o fármaco e o polímero e/ou na associação entre polímeros .

Vários polímeros vêm sendo estudados e utilizados nos sistemas de liberação controlada de fármacos com o intuito de liberá-los efetivamente no alvo pretendido e, dessa maneira, aumentar os benefícios terapêuticos do tratamento (SOPPIMATH et al., 2001).

Polímeros biodegradáveis de origem natural ou sintética são degradados *in vivo*, gerando produtos biocompatíveis e seguros do ponto de vista toxicológico, que são eliminados por processos metabólicos normais (JAIN, 2000).

Outra aplicação desses polímeros é a utilização no revestimento de substâncias administradas parenteralmente, a fim de se evitar a inconveniente inserção cirúrgica de implantes, constituindo, por conseguinte, formas farmacêuticas de liberação controlada de fármacos administrados por esta via (TICE e COWSAR, 1984).

Tais polímeros são muito úteis no controle da liberação de vários fármacos, como, por exemplo, vacinas, hormônios, insulina, agentes anti-tumorais, contraceptivos, etc (BIRNBAUM et al., 2000). Também atuam como carreadores de DNA, em terapia genética, e de proteínas e peptídeos, além de possuírem a capacidade de atingir tecidos ou órgãos particulares (SOPPIMATH et al., 2001).

Polímeros naturais, como a albumina sérica bovina, o colágeno e a gelatina têm sido estudados para constituírem sistemas de liberação controlada de fármacos (JAIN, 2000).

Polissacarídeos são polímeros naturais que vêm sendo amplamente estudados como materiais de revestimento (TIEN et al., 2003; DUCLAIROIR et al., 2003; KO et al., 2002; SHU e ZHU, 2002), no processo de formação de géis (MIYAZAKI et al., 1998; MIYAZAKI et al., 2001a; MIYAZAKI et al., 2001b; TAKAHASHI et al., 2002) e em outras aplicações na tecnologia de liberação controlada de fármacos (LEOPOLD, 1999; VANDAMME et al., 2002; UGHINI et al., 2004; VALENTA e SCHULTZ, 2004).

Os polissacarídeos são polímeros de monossacarídeos, constituindo moléculas de alto peso molecular. São compostos por unidades glicosídicas, podendo estar arranjados tanto em cadeias lineares quanto em cadeias ramificadas ou, ainda, formando redes com cadeias interligadas. O número de unidades monoméricas que forma a cadeia média do polímero é designado como grau de polimerização (GP) e varia com o tipo de polissacarídeo (WHISTLER e MILLER, 1997).

Os homopolissacarídeos, ou homoglicanas, contêm apenas um único tipo de unidade monomérica; os heteropolissacarídeos, ou heteroglicanas, contêm dois ou mais tipos diferentes de unidades monoméricas. Exemplos de homoglicanas encontradas na natureza são a celulose e a amilose, as quais são lineares. Um polissacarídeo que contém duas unidades monossacarídicas diferentes denomina-se diheteroglicana, com três é uma tri-heteroglicana, e assim por diante (WHISTLER e MILLER, 1997).

Considerando que quase 90% do peso seco de carboidrato *in natura* apresenta-se na forma de polissacarídeos, esses compostos apresentam grande disponibilidade e baixo custo (WHISTLER e MILLER, 1997). Isto representa uma das justificativas para

o uso desses compostos no desenvolvimento de sistemas poliméricos para liberação controlada de fármacos. Outras justificativas que também devem ser levadas em consideração relacionam-se com a biodegradabilidade e inocuidade destes compostos.

Os polissacarídeos apresentam características coloidais e, quando em contato com o solvente apropriado ou agente de intumescimento, produzem géis ou suspensões de elevada viscosidade mesmo em baixas concentrações. Apresentam uso consagrado na indústria alimentícia e farmacêutica, atuando como agentes filmógenos, espessantes, emulsionantes, estabilizantes, formadores de matrizes hidrofílicas e hidrogéis, entre outras aplicações (WHISTLER e MILLER, 1997).

A XIL, um polissacarídeo extraído de sementes de *Tamarindus indica*, o tamarindo, vem sendo extensivamente investigada (MIYAZAKI et al., 1998; MIYAZAKI et al., 2001a; MIYAZAKI et al., 2001b; TAKAHASHI et al., 2002). Estes trabalhos relatam a formação “in situ” de géis, que podem ser usados como veículos para administração retal (MIYAZAKI et al., 1998), oral (MIYAZAKI et al., 2001a), intraocular (MIYAZAKI et al., 2001b) e tópica (TAKAHASHI et al., 2002). O princípio para a formação dos géis é o mesmo em todos os estudos, e envolve, primeiramente, a hidrólise parcial da XIL por uma enzima denominada β -galactosidade, até a remoção de 44% de galactose de sua constituição (MIYAZAKI et al., 1998; MIYAZAKI et al., 2001a; MIYAZAKI et al., 2001b; TAKAHASHI et al., 2002). A XIL, em solução aquosa diluída, ao ser hidrolisada parcialmente por esta enzima, gera um produto com geleificação dependente da temperatura. Este fato não ocorre com a XIL em sua forma natural (MIYAZAKI et al., 1998). Tal comportamento é semelhante ao encontrado com polímeros sintéticos biodegradáveis, tais como os *Pluronic*s (TAKAHASHI et al., 2002). Porém, a vantagem que este polissacarídeo apresenta em relação à classe de polímeros sintéticos é que baixas concentrações do polissacarídeo, em torno de 3%

(M/V) são suficientes para que haja a formação de géis, (MIYAZAKI et al., 1998). Tais estratégias, envolvendo a formação de gel no local em que se pretende liberar o fármaco, têm levado a obtenção de novas formas farmacêuticas de liberação controlada.

Outro polissacarídeo muito relatado na literatura é a quitosana, macromolécula catiônica constituída por um copolímero de unidades combinadas de glucosamina e N-acetil-glucosamina, derivada da desacetilação alcalina da quitina, que é o principal componente do exoesqueleto de crustáceos (BERGER et al., 2004; LUCINDA-SILVA e EVANGELISTA, 2003; KO et al., 2002). Este polissacarídeo vem sendo extensivamente investigado na tecnologia de liberação de fármacos como carreador de proteínas e formador de géis para o aprisionamento de células e antígenos. Além disso, outros estudos mostram que a quitosana, devido às suas propriedades antiácidas, previne a irritação gástrica provocada por alguns fármacos (KO et al., 2002), pode também atuar como bioadesivo devido às suas cargas positivas no pH fisiológico, aumentando a retenção do medicamento no local de aplicação (BERGER et al., 2004).

Valenta e Schultz (2004) investigaram o uso da carragenana, um polissacarídeo aniônico, extraído de algas marinhas, muito utilizado na indústria de alimentos. A pesquisa teve o objetivo de avaliar a influência deste polissacarídeo nas propriedades reológicas de diferentes formulações de microemulsões e verificar se este polissacarídeo desempenhava algum papel importante na permeação cutânea de fluoresceína sódica. Concluíram que a carragenana pode ser usada para modificar as propriedades reológicas de preparações para uso tópico, podendo também ser útil nos processos de liberação controlada de fármacos.

Mais recentemente, num estudo com galactomananas e xantana provenientes, respectivamente, de *Mimosa scabrella* Bentham, árvore nativa conhecida como bracinga e de *Xanthomonas campestris* (UGHINI et al., 2004), foi avaliada a

potencialidade desses dois polissacarídeos como promotores de liberação controlada de diclofenaco sódico a partir de comprimidos e cápsulas, usando como matriz a mistura desses dois polissacarídeos. A xantana, um polímero hidrofílico com valor comercial reconhecido, vem sendo amplamente investigada para a preparação de matrizes com excelentes características de liberação de fármacos. Estes dois polissacarídeos (galactomanana e xantana) possuem propriedades espessantes e, quando associados, apresentam a interessante propriedade de formar géis. Os autores verificaram que ocorreu liberação com cinética de ordem zero, sendo a erosão o processo que regeu a liberação, considerando a mistura dos polissacarídeos interessante no controle da liberação de fármacos irritantes, como os antiinflamatórios não esteroidais.

3.3 Aplicações dos polissacarídeos na tecnologia de formação de filmes

Uma outra aplicação dos polissacarídeos é a formação de filmes de revestimento para liberação controlada de fármacos (OFORI-KWAKYE e FELL, 2001; MACLEOD et al., 1999; HOSNY et al., 1998).

Ofori-Kwakye e Fell (2001) realizaram um estudo de permeabilidade de filmes envolvendo uma mistura de polissacarídeos contendo quitosana, pectina e hidroxipropilmetilcelulose. O estudo mostrou que a adição de quitosana melhorou as propriedades dos filmes, tornando-os estáveis em todos os valores fisiológicos de pH, enquanto que os filmes contendo pectina e hidroxipropilmetilcelulose mostraram-se estáveis apenas em valores de pH maiores do que 3. O fármaco modelo utilizado foi o paracetamol e todos os filmes preparados foram permeáveis a ele. A permeabilidade dos filmes aumentou, quando foram expostos à ação de enzimas pectinolíticas em um

sistema desenvolvido para mimetizar as condições fisiológicas do cólon. Os filmes contendo a mistura de polissacarídeos mostraram ser uma alternativa eficiente, promovendo uma fase inicial de liberação lenta e controlável do fármaco, a qual pode ser modificada por mudanças na formulação, seguida de outra fase mais rápida ao alcançar o meio colônico.

As propriedades mecânicas e de permeabilidade à água de filmes contendo uma mistura de dispersões de etilcelulose (Acquacoat[®]) e de pectina foram estudadas por Macleod e colaboradores (1999). A técnica utilizada para a formação dos filmes foi a de evaporação do solvente e o plastificante utilizado na fórmula foi o dibutilsebacato (DBS). Apesar da inclusão de quantidades crescentes de pectina nos filmes, a permeabilidade à umidade permaneceu a mesma. Os resultados sugeriram que existe um limite da quantidade de pectina que pode ser adicionada à mistura de dispersões capaz de ainda produzir um filme com características satisfatórias, desde que a natureza protetora da etilcelulose não seja comprometida.

Jones e Medicott (1995) estudaram a liberação da clorexidina a partir de filmes de etilcelulose formados a partir da técnica de evaporação do solvente, sendo este constituído por uma mistura de etanol e diclorometano. Verificou-se que a taxa de liberação foi proporcional à raiz quadrada do tempo e a liberação foi descrita através do modelo difusional de Higuchi. Através de comparações estatísticas, pôde-se concluir que as taxas de liberação foram afetadas pela proporção dos componentes contidos na mistura do solvente utilizado. Verificaram-se maiores taxas de liberação quando a proporção de etanol/diclorometano foi de 70/30 (V/V) e as menores quando apenas o diclorometano foi utilizado como solvente.

Na área alimentícia, têm-se realizado estudos com filmes de proteínas e polissacarídeos. Atuando como material de embalagem, possuem potencial para

controlar, evitando ou diminuindo, a transferência de massa (umidade) entre o ambiente e o alimento e, desse modo, acabam estendendo o prazo de validade do alimento (MALI et al., 2005). Outra vantagem é que proteínas e polissacarídeos são amplamente encontrados na natureza, tornando-se matérias-primas viáveis para a produção dos filmes (AUDIC e CHAUFER, 2005; MALI et al., 2005; TAPIA-BLÁCIDO et al., 2005; VANIN et al., 2005).

A gelatina foi um dos primeiros materiais a serem estudados para a formação de filmes, tendo como resultado a produção de várias patentes. Considerada um produto abundante na natureza, é facilmente produzida em todo o mundo, além de conter excelentes características filmógenas (TAPIA-BLÁCIDO et al., 2005; VANIN et al., 2005).

As desvantagens dos filmes contendo polissacarídeos em relação aos que contêm polímeros sintéticos, é que aqueles não apresentam boas características mecânicas, além de apresentarem uma maior sensibilidade à água (maiores valores de permeabilidade ao vapor d'água) (AUDIC e CHAUFER, 2005). Estudos envolvendo a otimização das características mecânicas e físico-químicas de filmes de polissacarídeos pela adição de diferentes plastificantes foram realizados e sugerem que a adição dessas substâncias pode amenizar consideravelmente tais desvantagens (AUDIC e CHAUFER, 2005; MALI et al., 2005; MALI et al., 2006; VANIN et al., 2005; GODBILLOT et al., 2006).

3.3.1 Formação de filmes

O processo de revestimento de uma matriz por um filme polimérico envolve forças de *coesão*, que atuam entre as cadeias do polímero formador do filme, e forças de *adesão*, que atuam entre o filme e o suporte (CARVALHO, 1996). Entre os materiais

que constituem os suportes, são citados na literatura o acrílico (TÁPIA-BLACIDO et al., 2005; MALI et al., 2005), o poliestireno (AUDIC e CHAUFER, 2005), o vidro (GODBILLOT et al., 2006; VANIN et al., 2005), o polietileno (CARVALHO, 1996), e o politetrafluoretileno, Teflon[®] (HOSNY et al., 1998; WU e MCGINITY, 1999).

Duas técnicas podem ser usadas, basicamente, para a obtenção de filmes poliméricos livres: o processo de nebulização (“spraying”) e o processo conhecido como evaporação do solvente (“solvent casting”).

Durante o processo de “spraying”, o filme é formado por deposição de gotículas atomizadas, formando camadas homogêneas de filmes (KFURI, 2003).

O processo de evaporação do solvente envolve a dispersão do polímero em um solvente ou mistura de solventes adequados, formando um sistema relativamente viscoso. A dispersão é então vertida sobre uma superfície não adesiva (suporte) e é levada para uma estufa para que o solvente evapore. Depois que todo o solvente foi evaporado, o filme seco pode ser retirado do suporte (JONES e MEDLICOTT, 1995). Alguns fatores, tais como o tipo do solvente utilizado e as condições de evaporação (temperatura), exercem forte influência nas propriedades finais de filmes poliméricos (CARVALHO, 1996).

Alterações estruturais nos filmes podem ser obtidas se as dispersões de polímeros são preparadas com “solventes adequados ou não”, ou se são preparadas com uma mistura desses solventes. Pode-se dizer que um solvente é adequado para um polímero quando os valores dos parâmetros de solubilidade do solvente e do polímero forem semelhantes. Em “solventes adequados”, as moléculas poliméricas apresentam uma conformação em hélice de forma dilatada. Durante a evaporação do solvente, há um aumento da concentração da dispersão. Assim, as forças intermoleculares, entre os segmentos das cadeias de uma molécula polimérica e também entre os segmentos das

cadeias das moléculas poliméricas da vizinhança, tornam-se cada vez mais eficazes e o filme resultante é formado por uma estrutura densa e forte devido ao entrelaçamento das cadeias. Uma outra situação ocorre se o polímero for colocado em uma solução diluída contendo “solventes adequados ou solventes não adequados”. As hélices poliméricas são compactas e interagem somente superficialmente quando o solvente evaporar. O filme resultante é heterogêneo, pois sua estrutura apresentará microporos. Se o polímero for preparado com uma mistura de solventes, devido às diferentes taxas de evaporação de cada componente da mistura, uma situação crítica ocorrerá durante a formação do filme, na qual a separação do polímero a partir da solução acontecerá (formação do gel). A estrutura do filme polimérico é dependente do estágio no qual ocorre a separação de fases. Se a separação ocorrer precocemente, por exemplo, antes da formação do gel, então será obtido um filme com poros abertos em sua estrutura. De uma outra forma, se a separação ocorrer em um estágio posterior da formação do filme, quando as moléculas do polímero já estiverem interagindo fortemente (após a formação do gel), então filmes contendo poros fechados em sua estrutura serão formados. E se nenhuma separação ocorrer, filmes com estrutura densa serão formados de maneira similar aos filmes preparados com bons solventes (JONES e MEDLICOTT, 1995).

Um dos problemas encontrados no processo de evaporação do solvente é que quando sistemas heterogêneos são empregados, como, por exemplo, quando o fármaco ou o polímero não forem solúveis no solvente, ocorre segregação durante a secagem do filme, resultando em filmes com duas ou mais camadas diferentes (KFURI, 2003).

3.4 Xiloglucanas de *Hymenaea courbaril*

Importantes são as sementes de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (jatobá), fonte de xiloglucanas, árvore brasileira, pertencente à família Caesalpiniaceae. As sementes contêm aproximadamente 40-45% de XIL, um carboidrato de reserva (BUSATO et al., 2001).

O jatobá é encontrado no território brasileiro, com maior incidência desde o nordeste do Piauí até o noroeste de São Paulo, podendo ser encontrado na região noroeste do Paraná e também no Distrito Federal (SOUZA-LIMA, 1997; LIMA et al., 1993). Cada árvore produz, em média, 10 kg de sementes por ano (LIMA et al., 1993).

A árvore geralmente tem de 10 a 15 m de altura e 40 a 80 cm de diâmetro, podendo atingir até 40 m de altura e 120 cm de diâmetro. Apresenta tronco reto, cilíndrico e rijo. A ramificação é racemosa, irregular, tem copa grande e arredondada, com folhagem densa (CARVALHO, 1994).

O fruto, mostrado na figura 1, é uma vagem oblonga, indeiscente, cilíndrica, aplanada, variável em comprimento (5-18 cm) e diâmetro (4-6 cm). Nas últimas etapas de maturação, forma uma massa pulverulenta, farinácea, amarelecida, com odor adocicado característico e comestível (figura2) (SOUZA-LIMA, 1997; CARVALHO, 1994).



Figura 1 – Frutos de *Hymenaea courbaril* (jatobá).



Figura 2 – Massa pulverulenta encontrada no interior do fruto de *H. courbaril*.

As sementes de jatobá (figura 3) constituem um número de 2 a 8 por fruto, possuindo cor vinho, forma oval, e apresentando, em média, 2 cm de comprimento (SOUZA LIMA, 1997).



Figura 3 – Sementes de *Hymenaea courbaril* (jatobá).

As xiloglucanas, de maneira geral, pertencem a uma importante classe de polissacarídeos de origem vegetal, com função estrutural e de reserva (LIMA et al., 1993; SOUZA-LIMA, 1997). Essas macromoléculas apresentam-se interligadas a microfibras de celulose por ligações de hidrogênio, formando uma rede entrelaçada de XIL e celulose (BUSATO et al., 2001).

Em geral, as xiloglucanas possuem uma cadeia principal, semelhante a da celulose, constituída por unidades de *D*-glicose unidas por ligações ($\beta 1 \rightarrow 4$), substituídas em O-6 por unidades de xilose, e unidades de β -D-galactose terminais, substituídas na posição 2 das unidades de xilose (SOUZA LIMA, 1997). A figura 4 apresenta um esquema da estrutura parcial da XIL de sementes de *H. courbaril*.

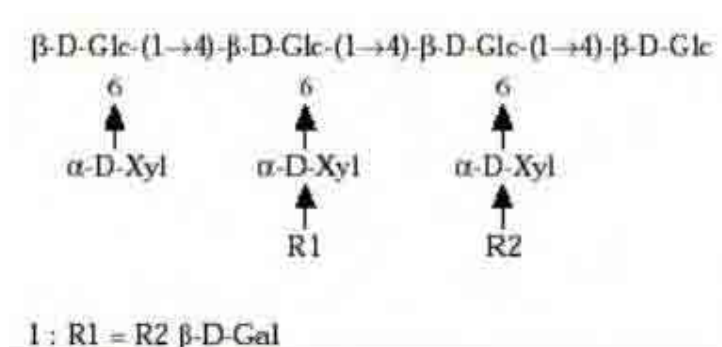


Figura 4 – Esquema da estrutura parcial da XIL.

Um trabalho muito interessante realizado por Hartemink e colaboradores (1996) relata um estudo a respeito da hidrólise e fermentação da XIL por bactérias presentes no intestino. As xiloglucanas não são digeridas pelas enzimas presentes no intestino delgado. Desse modo, alcançam o cólon de maneira inalterada. É conhecido que as xiloglucanas, assim como outras hemiceluloses, podem ser degradadas e fermentadas pelas bactérias do intestino grosso. Os gêneros de bactérias envolvidos na degradação são *Clostridium* spp., *Bifidobacterium* spp. e *Bacteroides* spp. As bactérias desses gêneros são capazes de produzir enzimas extracelulares, as quais degradam o esqueleto principal da XIL. Os autores concluíram que a XIL é degradada por enzimas endo- β -glucanases, principalmente as produzidas por espécies do gênero *Clostridium*. A degradação específica da XIL por tais enzimas faz com que esse polissacarídeo seja promissor como material de revestimento de micropartículas para liberação cólon específica.

Uma caracterização do material polimérico é necessária a fim de obter informações que podem ser aproveitadas no momento do desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos.

No Brasil, as xiloglucanas estão sendo estudadas desde 1993, quando Lima, Corrêa, Ganter e Sierakowski (1993) a isolaram a partir das sementes de *Hymenaea courbaril*, conhecido popularmente como jatobá. Posteriormente, Lima, Rechia, Ganter, Reicher e Sierakowski (1995) isolaram e estudaram alguns oligossacarídeos obtidos através de hidrólise enzimática, comprovando que a composição dos oligossacarídeos presentes nas sementes de *Hymenaea courbaril* (jatobá) era similar àquela encontrada nas sementes de *Tamarindus indica*. Outros estudos foram realizados por este grupo de pesquisa (MARTIN et al., 2003).

Porém, não foram encontrados, até o momento atual, registros na literatura de que xiloglucanas obtidas a partir de extração de *H. courbaril* tenham sido utilizadas como material polimérico na obtenção de filmes para liberação controlada de fármacos.

Baseado nessas considerações, a avaliação da possibilidade da XIL extraída de sementes de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* (jatobá) ser usada como material polimérico na obtenção de filmes, merece especial atenção.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

- Sementes de *H. Courbaril*, coletadas no estado do Mato Grosso, em 2003
- Água Purificada Milli-Q
- Acetona – SYNTH – Grau analítico
- Álcool Etílico absoluto QUIMEX
- Cloreto de Sódio p.a. –SYNTH
- Cloreto de Cálcio p.a. – SYNTH
- Cloreto de Cálcio Anidro para Dessescador - SYNTH
- Fenol
- Ácido Sulfúrico - MERCK
- Tartarato de Sódio e Potássio
- Carbonato de Sódio – SYNTH
- Hidróxido de Sódio –p.a.– Grupo Química
- Sulfato de Cobre
- Glicerol – SYNTH
- Propilenoglicol – SYNTH
- Reagente Folin-Ciocalteu
- Soroalbumina Bovina, BSA – A2153, Padrão Sigma, cedida pelo departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá

- Glicose Padrão Sigma, doada pelo departamento de Farmácia, Universidade Estadual de Maringá

4.2 Equipamentos e acessórios

- Agitador Magnético SELECTA[®], mod. MULTIMATIC 9S
- Aparelho de DSC METTLER – mod. SW 7.01
- Balança analítica - OHAUS[®], mod. AP250D
- Balança com sistema de secagem infravermelho METTLER P160N LP11
- Centrífuga - SORVAL[®], mod. TC - 6
- Espectrofotômetro de UV/VIS - HITACHI[®], mod. U-2000
- Espectrômetro infravermelho – SHIMADZU[®], mod.FTIR 8300
- Estufa de ar circulante SOC. SABBE[®]
- Lavadora ultra-sônica, TRANSTEK SYSTEMS[®], mod. soniclean
- Máquina universal de experimentos –EMIC[®] mod. DL 10000
- Micrômetro Mitutoyo[®]
- Microscópio eletrônico de varredura - JEOL[®], MOD. JSMT330A
- Peagômetro – QUIMIS[®], mod. Q-400M
- Placas de Teflon[®]
- Purificador de água MILLIPORE[®] – mod. Milli-Q Plus
- Reômetro - mod. CSL CARRIMED
- Ultracentrífuga HITACHI[®] – mod. CP 80β

4.3 Métodos

4.3.1 Extração e purificação do polissacarídeo

Os frutos de *H. courbaril* (jatobá) foram quebrados e as sementes foram retiradas do interior da massa pulverulenta de cor levemente esverdeada e odor característico. Em seguida, foram lavadas em água corrente e colocadas em imersão com água quente para amolecimento de suas cascas. Quando já estavam levemente soltas, as cascas foram retiradas com o auxílio de uma faca. Ao ficarem totalmente descascadas, foram submetidas à extração aquosa exaustiva à temperatura ambiente em turbolizador e o produto dessa etapa foi denominado extrato.

Os extratos ficaram em repouso até decantarem e, então, foram clarificados por filtração a vácuo. Posteriormente, foram vertidos em tubos de centrifugação e submetidos à ultracentrifugação durante 30 min a 36670 g. A etapa de centrifugação foi repetida por duas vezes, obtendo-se, então, extratos transparentes.

Após esta etapa, os extratos foram tratados com NaCl 0,1 Mol/l. Foram precipitados com etanol numa proporção 3:1 (etanol:extrato) e os produtos desta etapa foram denominados precipitados.

Após a filtração, os precipitados foram reunidos, lavados com etanol absoluto, novamente filtrados e lavados com acetona p. a., permanecendo em repouso nesta solução durante 30 min, sendo que este último procedimento foi realizado por duas vezes até os precipitados ficarem desidratados. Foram filtrados e retirados desta solução e foram submetidos à secagem em temperatura ambiente. Depois de estar seco, o material recolhido foi pulverizado em gral e denominado “xiloglucana”, sendo acondicionado apropriadamente em frascos âmbar de vidro (SOUZA LIMA, 1997).

A figura 5 ilustra um fluxograma que apresenta os passos da extração do polissacarídeo a partir das sementes do jatobá.

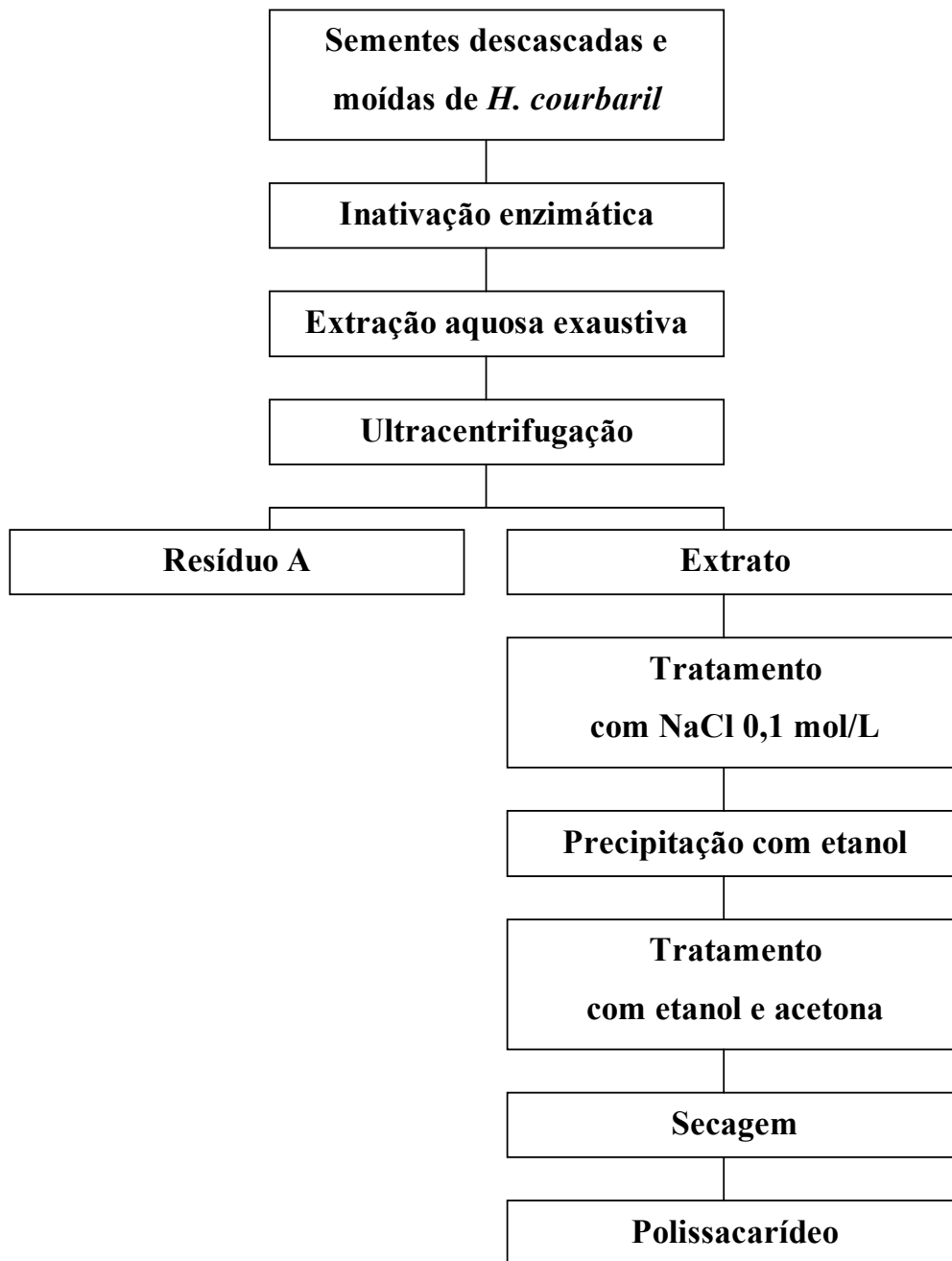


Figura 5 - Fluxograma do processo de extração e purificação da XIL (Adaptado de Souza Lima, 1997).

4.3.2 Caracterização do polissacarídeo

4.3.2.1 Determinação do teor de açúcares totais

A determinação do teor de açúcares totais foi realizada segundo metodologia descrita por Dubois et al. (1956). Este método, juntamente com o de determinação de proteínas, é útil para a verificação de impurezas na amostra extraída a partir das sementes do jatobá.

Um total de 0,3 ml de amostra de dispersão de XIL (2 mg/ml) foi colocado em tubos de ensaio para reagir com 0,3 ml de fenol a 5%. Foram adicionados 2,0 ml de ácido sulfúrico concentrado aos tubos que continham a amostra e o fenol. Os tubos foram agitados vigorosamente e ficaram em repouso por 30 min ao abrigo da luz. Após os tubos atingirem a temperatura ambiente, foi determinada a absorvância a 490 nm.

Uma curva analítica foi construída, usando-se padrões em concentrações previamente estabelecidas. Os tubos contendo os padrões receberam o mesmo tratamento que os tubos das amostras. O padrão utilizado foi a glicose padrão Sigma.

A concentração de açúcares totais das amostras foi determinada através dos resultados gerados pela equação da reta obtida a partir da curva analítica.

4.3.2.2 Determinação do teor de proteínas

A determinação do teor de proteínas foi realizada segundo metodologia descrita por Hartree (1972). As proteínas presentes na amostra extraída contendo XIL podem constituir o grupo de impurezas. Por este motivo, a realização da determinação do teor de proteínas se faz necessária.

Um total de 0,5 ml de amostra de xiloglucana (2 mg/ml) foi tratado com 0,45 ml da Solução A, os tubos foram colocados em banho-maria a 50 °C por 10 min. Estes mesmos tubos foram posteriormente tratados com 0,05 ml da solução B e permaneceram em temperatura ambiente por 10 min. Após resfriamento, foram acrescentados 1,5 ml da solução C e os tubos foram agitados vigorosamente durante 3 s em agitador de tubos. Foram novamente aquecidos a 50 °C por 10 s e, após resfriamento à temperatura ambiente, os tubos foram levados para a realização da leitura em espectrofotômetro. A composição das soluções A, B e C encontra-se descrita no final desta metodologia.

Uma curva analítica foi construída com concentrações previamente estabelecidas. Os tubos contendo os padrões receberam o mesmo tratamento que os tubos das amostras. O padrão utilizado foi a proteína soroalbumina bovina, código BSA-A2153, padrão Sigma.

As amostras e os padrões foram levados ao espectrofotômetro para a determinação das absorvâncias a 650 nm, e desse modo a concentração de proteínas nas amostras foi determinada.

- Composição da solução A:

2 g de tartarato de sódio e potássio e 100 g de carbonato de sódio dissolvidos em 500 mL e diluídos para 1000 mL com água destilada.

- Composição da solução B:

2 g de tartarato de sódio e potássio e 1 g de sulfato de cobre dissolvidos em 90 mL de água destilada e adicionados de 10 mL de solução de NaOH 1N.

- Composição da solução C:

Diluir 1 volume do reagente *Folin-Ciocalteu* com 15 volumes de água destilada.

4.3.2.3 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado por método gravimétrico, utilizando-se balança com sistema de secagem infravermelho. Aproximadamente 1g da amostra, exatamente pesado, foi colocado em prato de alumínio previamente tarado, e dessecado até peso constante em temperatura de 110 °C. Os resultados foram expressos em % p/p, média de três determinações.

4.3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Foi realizada com a finalidade de identificar as funções químicas características do polissacarídeo, usando-se pastilha obtida pela compressão da amostra com KBr. A pastilha obtida foi submetida à análise no intervalo de 400-2500 cm^{-1} em aparelho SHIMADZU FRTI-8300.

4.3.2.5 Determinação da capacidade de intumescimento

A capacidade de intumescimento do polissacarídeo (XIL) foi avaliada em água destilada e em meios com diferentes valores de pH. Os meios escolhidos para este ensaio foram água destilada, meio ácido (pH 1,2) e tampões fosfato pH 6,8 e pH 7,2.

Para a realização deste ensaio foi utilizado o dispositivo de Enslin adaptado. A figura 6 representa, de forma esquemática, este dispositivo. Este ensaio permite a determinação do volume de líquido absorvido pela amostra e foi realizado através de medições do volume de líquido captado durante o seguinte intervalo de tempo: 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 min.

Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de água captada pela média de três determinações.

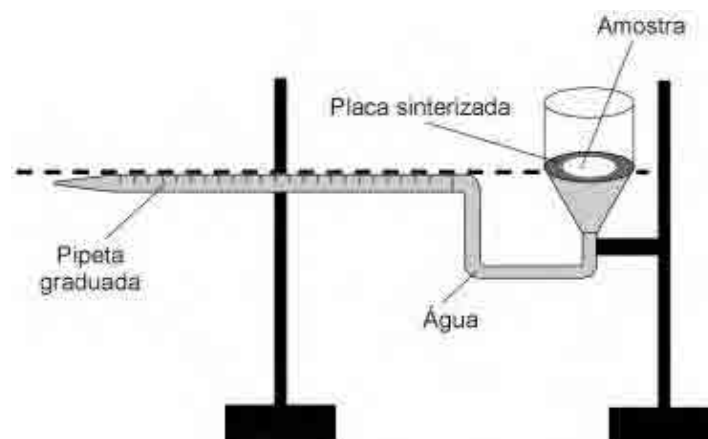


Figura 6 – Representação esquemática do dispositivo de Enslin.

4.3.2.6 Determinação do comportamento reológico

Dispersões do polissacarídeo em água destilada foram obtidas nas concentrações de 2, 5 e 10 g/L. O comportamento reológico das dispersões foi determinado em reômetro modelo CSL CARRIMED[®], cone-placa. Os parâmetros usados no procedimento foram:

- Temperatura: 25 °C;
- Diâmetro do cone: 6 cm;
- Gradiente de velocidade na ida: 0 a 1000 cm⁻¹;
- Gradiente de velocidade na volta: de 1000 a 0 cm⁻¹.

4.3.2.7 Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Uma amostra de XIL foi precisamente pesada em célula de alumínio. Posteriormente, foi lacrada e submetida a um aquecimento de 10°C/min na faixa de

temperatura de 25 a 300°C, sob atmosfera de nitrogênio (120 mL/min). A aferição da célula DSC foi verificada antes dos experimentos, utilizando padrão de Índio.

Como suporte para a amostra foram empregadas célula de alumínio com tampa perfurada e como referência célula de alumínio vazia com tampa perfurada.

4.3.3 Estudos preliminares para a obtenção de filmes

A técnica escolhida para a formação dos filmes foi a de evaporação do solvente (“solvent casting”). O material utilizado como suporte foi uma placa revestida por Teflon[®], a qual apresentou baixa aderência pelos filmes formados.

Foram realizados estudos preliminares para a verificação da influência de alguns fatores no processo de formação dos filmes. Os fatores considerados foram a temperatura (°C), a concentração de XIL na dispersão (%) e o tempo de secagem (h). O quadro 1 apresenta a quantificação dos fatores e os sinais – e + indicam o valor mínimo e máximo desses valores, respectivamente.

Quadro 1 – Valores mínimos e máximos dos fatores estudados para a formação dos filmes.

DADOS EXPERIMENTAIS		
Fatores	-	+
1. Temperatura (°C)	30	50
2. Concentração XIL (%)	0,5	1
3. Tempo (h)	8	12

Foi desenhado um protocolo experimental a partir do cruzamento dos fatores 1, 2 e 3 a partir de uma análise fatorial 2^3 , gerando um total de 8 ensaios. A resposta de cada um dos ensaios será SIM, quando houver a formação dos filmes, e NÃO, quando não houver.

O quadro 2 representa um protocolo experimental a partir do cruzamento dos três fatores.

Quadro 2 – Protocolo para os estudos preliminares de formação dos filmes.

	FATORES		
ENSAIO	1 (Temperatura)	2 (Concentração)	3 (Tempo de Secagem)
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	-	-	+
5	+	+	-
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

4.3.4 Formação dos filmes contendo xiloglucana

A partir dos estudos preliminares, decidiu-se preparar os filmes a partir de uma metodologia padrão para todos.

As dispersões foram formadas e levadas a banho de ultrassom durante 10 min. Este procedimento evita o aparecimento de bolhas na superfície dos filmes. 10 mL da dispersão de XIL a 1% foram vertidos em placas revestidas por Teflon® e levadas à estufa de ar circulante para ocorrer o processo de evaporação de solvente a 30°C durante um período de 12 h.

4.3.5 Formação de filmes contendo xiloglucana a 1% e plastificantes

Os filmes contendo plastificantes em sua composição foram formados pela secagem das dispersões a 30°C durante 20 h. Às dispersões de XIL (1 g de XIL/100 mL de água) foram adicionados plastificantes, glicerol (GLI) ou propilenoglicol (PPG), nas seguintes concentrações: 10, 30 e 50 g plastificante/ 100 g de XIL.

4.3.6 Caracterização dos filmes

4.3.6.1 Espectroscopia de infravermelho

Para a realização da espectroscopia de infravermelho, a amostra foi preparada por mistura e subsequente compactação com KBr. A pastilha obtida foi submetida à análise no intervalo de 400-2500 cm^{-1} em aparelho SHIMADZU FRTI-8300.

Foram analisados filmes de XIL a 1% sem plastificantes, filmes de XIL a 1% com GLI e filmes de XIL a 1% com PPG como plastificantes.

4.3.6.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A superfície dos filmes com e sem plastificantes foi observada em microscópio eletrônico de varredura. As amostras foram recobertas com ouro coloidal sob vácuo. A seguir, a amostra foi colocada na câmara de microscopia, sendo obtidas fotomicrografias utilizando feixes de elétrons de 10 e 20 kV.

4.3.6.3 Análise mecânica

Os filmes foram removidos do suporte e cortados em tiras de 4,0 cm x 1,0 cm. Cada filme foi examinado para verificação de qualquer defeito, como, por exemplo, bolhas de ar. Antes de cada filme ser testado, a espessura média dos filmes foi medida com micrômetro Mitutoyo® em locais diferentes do filme.

A amostra do filme a ser testada foi presa por grampos mecânicos da máquina EMIC® DL 10000, sendo que a área exposta de cada filme foi de 2,0 cm x 1,5 cm. Um dos grampos é mantido em posição estacionária, fixado a uma célula de carga, enquanto

o outro é movido a uma razão pré-determinada. Uma carga conhecida é aplicada ao filme como resultado do movimento do grampo. A célula de carga é acoplada a uma placa transcodificadora amplificada conectada a um computador, no qual os sinais provenientes desta célula são lidos, transformados e arquivados para futura análise (CARVALHO, 1996).

4.3.6.4 Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Amostras de filmes de XIL a 1% sem plastificantes, filmes de XIL a 1% com 10, 30 e 50 g de GLI/100 g de XIL e filmes de XIL a 1% com 10, 30 e 50 g de PPG/100 g de XIL foram precisamente pesadas em célula de alumínio. Posteriormente, cada amostra foi lacrada e submetida a aquecimento de 10°C/min na faixa de temperatura de 25 a 300 °C, sob atmosfera de nitrogênio (120 mL/min). A aferição da célula DSC foi verificada antes dos experimentos, utilizando padrão de Índio.

Como suporte para as amostras, foi empregada célula de alumínio com tampa perfurada e, como referência, célula de alumínio vazia com tampa perfurada.

4.3.6.5 Estudos de permeabilidade ao vapor d'água

Os estudos de permeabilidade ao vapor d'água foram conduzidos segundo metodologia descrita por Mali e colaboradores (2006).

Este método utiliza um aparato simples, constituído por um corpo de plástico com tampa, também denominado “célula de permeação”. Na tampa do pote, é cortado um círculo com diâmetro determinado capaz de prover uma área superficial conhecida. O filme é tampado de maneira que a área do círculo seja a área de transmissão de vapor d'água. A área da abertura circular da tampa foi de 0,0004 m². Dentro da célula de

permeação, foi adicionado cloreto de cálcio anidro (0%UR). A célula de permeação foi colocada dentro de um dessecador e, juntamente com ela, foi colocado um outro recipiente contendo uma solução saturada de um sal, que fornece uma umidade relativa conhecida. A célula de permeação foi pesada a cada duas horas durante as primeiras 12 horas, depois uma outra pesagem foi feita a 24 h de experimento, finalizando-se as medidas em 48 h. As mudanças no peso da célula de permeação (0,0001) foram registradas e plotadas em função do tempo. A inclinação de cada curva foi calculada por regressão linear, com $r^2 > 0,99$, e os valores de transmissão de vapor d'água (TVA) foram calculados a partir do valor da inclinação da reta (g/s) dividido pela área de transferência (m^2). Depois de finalizado o teste de permeação, a espessura do filme foi medida e os valores de permeabilidade ao vapor d'água ($gPa^{-1}m^{-1}s^{-1}$) foram calculados a partir da seguinte equação:

$$P = \left[\frac{TVA}{S} \cdot (R_1 - R_2) D \right]$$

- P é a permeabilidade ao vapor d'água,
- TVA é a transmissão de vapor d'água,
- S é pressão do vapor d'água na temperatura do experimento,
- R_1 é a umidade relativa no dessecador,
- R_2 é a umidade relativa na célula de permeação,
- D é a espessura do filme.

Foram utilizadas soluções saturadas de cloreto de sódio (75% UR) e de cloreto de cálcio (0% UR).

Todos os testes foram conduzidos em duplicata e em sala climatizada com temperatura de 20°C.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração e purificação do polissacarídeo

A obtenção de um polissacarídeo, seja no laboratório ou seja na indústria para produção comercial, começa com a sua extração ou seu isolamento a partir da sua origem. Polissacarídeos podem ser extraídos de plantas, muito comumente das sementes. Também podem ser obtidos a partir do isolamento em meios de cultura, quando o polissacarídeo for sintetizado por algum microrganismo (WHISTLER e MILLER, 1997).

Desse modo, a extração de polissacarídeos constitui uma etapa muito importante, pois determina o rendimento que viabilizará ou não o processo produtivo.

A extração é seguida de uma outra etapa denominada purificação ou fracionamento, que separa o polissacarídeo de materiais que não são carboidratos, tais como proteínas, ou também de outros polissacarídeos que não se deseja extrair. Na maioria das vezes, a purificação ocorre por precipitação do polissacarídeo da solução. A precipitação é normalmente alcançada através da adição de um álcool, como, por exemplo, o etanol ou o 2-propanol. Este último é mais utilizado em escala industrial. A precipitação também pode ocorrer pela adição de um agente complexante ou pela mudança do pH da solução coloidal (WHISTLER e MILLER, 1997).

Anteriormente à etapa de extração da XIL a partir das sementes de jatobá, os frutos foram quebrados para que as sementes pudessem ser retiradas do seu interior. As sementes de *H. courbaril* foram limpas e, depois de estarem secas, foram pesadas. A massa das sementes obtida foi de 1075,62 g. As sementes foram submetidas à fervura

para que ocorresse a inativação enzimática e, em seguida, foram submetidas à extração aquosa em temperatura ambiente para a obtenção do extrato contendo o polissacarídeo. Duas etapas importantes foram realizadas no extrato mucilaginoso: a centrifugação cujo objetivo foi retirar as impurezas presentes e o tratamento com NaCl 0,1 Mol/L, que foi realizado a fim de que ocorresse um aumento da solubilidade das proteínas livres (efeito *salting in*). A separação do polissacarídeo de materiais que não são carboidratos foi realizada a partir de um tratamento com etanol, originando um precipitado com aspecto esbranquiçado, o qual continha a XIL. O precipitado foi recolhido por filtração a vácuo, reunido em um recipiente contendo álcool etílico e a solução aquosa contendo as proteínas dissolvidas foi descartada. Ao término da extração, todo o precipitado foi reunido, novamente filtrado e lavado com acetona, permanecendo neste solvente para que ocorresse a desidratação do polissacarídeo. O precipitado, então, foi filtrado e seco à temperatura ambiente e recebeu a denominação de “XIL” (figura 7).



Figura 7 - XIL obtida por extração aquosa das sementes de jatobá.

A massa de XIL obtida foi de 372, 44 g, representando um rendimento de extração de 34,62% em relação à massa total de sementes.

Os autores Souza Lima (1997) e Lima e colaboradores (1993) obtiveram o rendimento, respectivamente, 40% e 45%, para a extração aquosa do polissacarídeo de sementes de *H. courbaril*.

O menor valor de rendimento de extração do polissacarídeo obtido neste trabalho, em relação à massa total de sementes, pode ser explicado a partir da etapa de centrifugação introduzida no presente trabalho, a fim de separar ao máximo as impurezas, com o objetivo de conseguir um extrato mais puro em XIL.

5.2 Caracterização do polissacarídeo

5.2.1 Determinação do teor de açúcares totais

As soluções padrão e amostra (de ambas as diluições) foram tratadas pelo método descrito no item 4.3.2.1. Para cada valor de absorbância foram determinadas as concentrações pela equação da reta $y = 0,0071x - 0,0113$, com $r^2 = 0,99767$, obtida da curva analítica, sendo que o y desta equação representa cada absorbância lida e x representa a concentração em $\mu\text{g/ml}$.

A média do teor de açúcares totais obtida para esta diluição foi de 84,47%, com desvio-padrão de 0,56.

Souza Lima (1997) obteve um teor de 83,0% de açúcares totais, enquanto Lima (1993) encontrou um valor de 63,0% para este mesmo teste. Ambos autores utilizaram a mesma metodologia para a quantificação de açúcares totais (DUBOIS et al., 1956) e que é a mesma que foi utilizada no presente trabalho.

5.2.2 Determinação do teor de proteínas

A partir dos resultados obtidos na curva analítica, a equação da reta foi determinada. As soluções padrão e amostra foram tratadas pelo método descrito no item 4.3.2.2. As concentrações das amostras foram determinadas para cada absorbância lida, através da equação da reta $y = 0,0014x - 0,0306$, com $r^2 = 0,9937$, sendo que o y desta equação representa cada absorbância lida, e x representa a concentração em $\mu\text{g/ml}$.

A média do teor de proteínas obtida foi de 4,71%, com desvio-padrão de 0,04.

Lima (1993) obteve um teor de proteínas de 12,2%, enquanto Souza Lima (1997) encontrou um valor de 12,8% para este mesmo teste. Ambos autores utilizaram a mesma metodologia utilizada neste trabalho para a quantificação de proteínas (HARTREE, 1972).

Os resultados obtidos comprovam a validade da introdução da etapa de centrifugação, que, embora tenha causado decréscimo no rendimento de XIL, possibilitou a obtenção de extrato muito mais puro.

5.2.3 Determinação do teor de umidade

A água desempenha um papel importante nas propriedades físicas e funcionais dos polissacarídeos. A maioria dos polissacarídeos possui unidades glicosídicas que, em média, apresentam três grupos hidroxilas. 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 afinidade para aprisionar moléculas de água e capacidade de rapidamente se hidratar. Os polissacarídeos devem apresentar um teor de umidade na faixa de 8-12% (WHISTLER e MILLER, 1997).

O polissacarídeo foi colocado em uma balança de secagem e a perda de água foi medida por gravimetria. A média do teor de umidade encontrada para este material foi de 10,24%, com desvio padrão de 0,54 e CV de 5,24%, estando dentro dos limites citados. Após esta análise, observou-se um escurecimento do polissacarídeo, sugerindo a presença de compostos fenólicos (SOUZA LIMA, 1997).

5.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Uma amostra do polissacarídeo extraído a partir das sementes de *H. courbaril* (jatobá) foi utilizada para a realização da espectroscopia de absorção na região do infravermelho.

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho é uma das técnicas mais utilizadas na identificação das funções químicas (SILVERSTEIN et al., 1994). Esta técnica é útil na caracterização de substâncias químicas e fármacos, pois através dos espectros obtidos é que se identifica a presença de grupamentos químicos.

Uma das desvantagens desta técnica é que os espectros no infravermelho não diferenciam uma amostra pura de uma impura. O espectro de um produto bruto que contém muitos tipos diferentes de moléculas pode apresentar bandas de absorção arredondadas e mal resolvidas devido a diversas absorções presentes. Substâncias de alto peso molecular, como os polímeros, geralmente produzem espectros aparentemente mal resolvidos (SILVERSTEIN et al., 1994).

O espectro do polissacarídeo obtido neste trabalho está apresentado na figura 8.

A principal banda de grande intensidade resulta do estiramento da ligação entre oxigênio e hidrogênio na região entre 3200 a 3550 cm^{-1} , referente à deformação axial correspondente aos grupamentos OH. Outra banda presente é a relativa ao estiramento de ligação entre C-O-C para polissacarídeos, próxima a 1000 cm^{-1} .

Outras bandas são relativas às vibrações das ligações entre carbono e hidrogênio. A banda de estiramento assimétrico desta ligação para o grupo metileno (CH_2) encontra-se próxima a 2900 cm^{-1} . As bandas de deformação angular desta ligação aparecem na região

de 1300 a 1400 cm^{-1} . Pode ser observado o desdobramento da banda a 2900 cm^{-1} devido à presença de grupos CH_3 na estrutura da XIL.

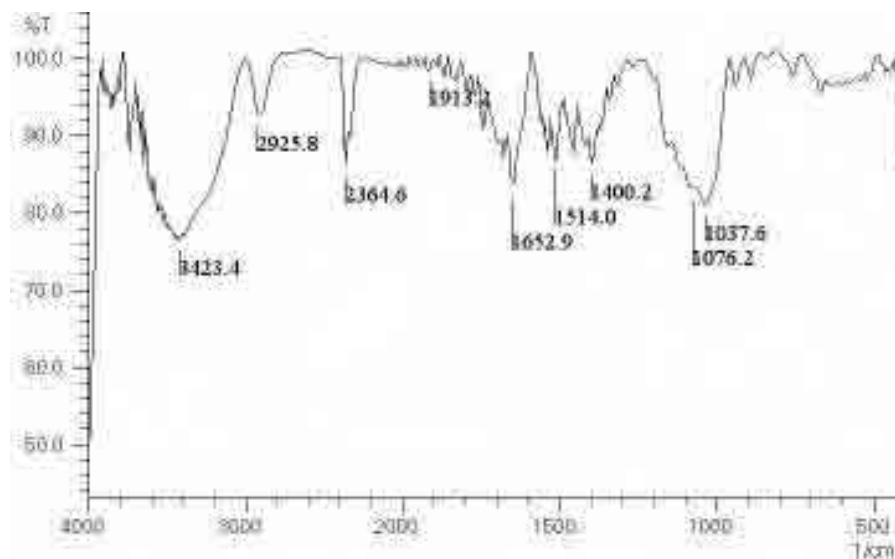


Figura 8 – Espectro da XIL na região do infravermelho.

As bandas presentes entre 1600 e 1650 cm^{-1} são causadas por deformação axial da ligação $\text{C}=\text{C}$, que sugerem a presença de compostos fenólicos, o que explica o rápido escurecimento do polissacarídeo quando submetido ao processo de secagem (SILVERSTEIN et al., 1994).

5.2.5 Análise do comportamento de intumescimento

O intumescimento de polissacarídeos pode ser influenciado pelo pH do meio em que ele se encontra, especialmente os polissacarídeos classificados como polieletrólitos.

Os polieletrólitos são polissacarídeos que existem em solução aquosa na forma de poliíons, que contêm grupos ionizáveis ao longo da sua cadeia macromolecular (SOUZA LIMA, 1997).

A quitosana, um biopolímero catiônico, pode formar um complexo polieletrólítico com outra macromolécula com carga oposta, sendo a atração eletrostática entre os grupos iônicos dessas macromoléculas o fator crucial para a formação do complexo (BERGER et al., 2004).

Os complexos polieletrólíticos podem exibir um intumescimento sensível ao pH tanto em condições ácidas quanto em condições básicas. Em meio ácido, o poliânion é neutralizado, enquanto que os grupamentos amino da quitosana apresentam cargas positivas. Ocorre, então, além da entrada de água, a repulsão mútua dessas cargas, favorecendo o afastamento e relaxamento das cadeias poliméricas e, posteriormente, o intumescimento. Em meio básico o mecanismo é o mesmo, porém o intumescimento é induzido pelas cargas negativas do poliânion, uma vez que o policátion é neutralizado (BERGER et al., 2004).

Conhecendo esse mecanismo, pode-se admitir que o intumescimento de polieletrólitos é sensível a variações no pH, porém não se pode afirmar que o mesmo acontece para macromoléculas neutras, tais como a XIL.

Este ensaio foi realizado com a finalidade de verificar se o intumescimento da XIL pode ser afetado quando em contato com meios de diferentes valores de pH.

A figura 9 apresenta os perfis de intumescimento da XIL para todos os meios estudados.

Conforme pode ser observado na figura 9, observa-se a interferência do pH nos percentuais de intumescimento da XIL quando em contato com meios com diferentes valores de pH.

Ao final do ensaio, o percentual médio de intumescimento obtido foi de 422,83, 397,27, 351,37 e 338,11 quando a XIL foi mantida em contato com soluções tampão fosfato pH 7,2, tampão fosfato pH 6,8, água pH 5,5 e solução HCl 0,08N pH 1,2, respectivamente.

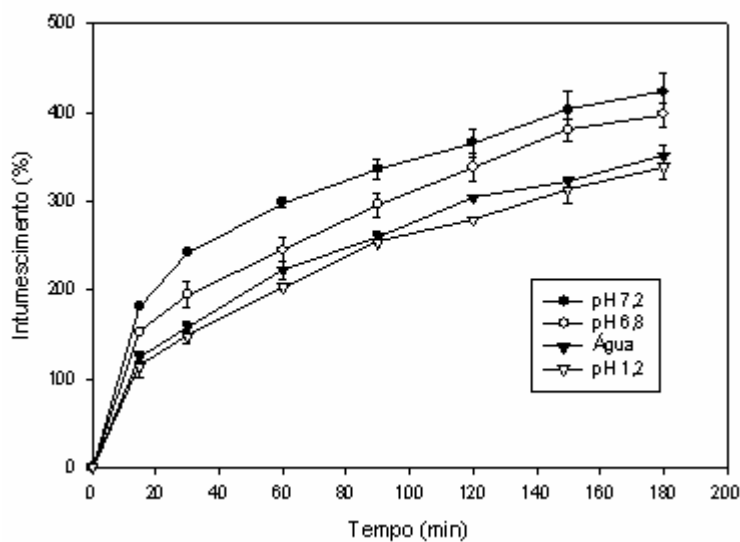


Figura 9 - Perfil de Intumescimento (%) de XIL em diferentes meios.

Em todos os tempos analisados, a XIL apresentou percentuais maiores de intumescimento quando em contato com soluções com pH básico, enquanto que o menor percentual apresentado foi aquele obtido em meio com pH 1,2.

Houve uma semelhança no perfil de intumescimento da XIL nos diferentes meios utilizados (figura 9).

5.2.6 Comportamento reológico

A reologia pertence a um ramo da física que estuda as propriedades de escoamento e deformação de matérias sob a ação de forças. A designação reologia deriva da palavra grega “rheo” (que significa escoamento) e foi sugerida por M. Reiner e E. C. Bingham, considerados os pioneiros desta área (ALMEIDA e BAHIA, 2003).

A reologia encontra aplicação nos mais variados setores, entre eles a área farmacêutica, para caracterização de emulsões e pastas, em cosmetologia, no desenvolvimento de esmaltes, batons e tintas para cabelo, no estudo e caracterização de polímeros, entre outras.

Direcionando a discussão para a aplicação da reologia no campo de polímeros, o estudo do comportamento reológico é o método mais sensível para a caracterização desses materiais, pois a característica de fluxo é determinada por propriedades como massa e distribuição de massa molecular, além de permitir a caracterização do comportamento hidrodinâmico (SOUZA LIMA, 1997).

Antes de iniciar a análise dos resultados obtidos, faz-se necessário definir alguns termos teóricos para que a sua interpretação possa ser mais coerente.

Os fluidos podem ser classificados em duas categorias: Newtonianos e não-Newtonianos, considerando-se o tipo de escoamento e a deformação. O fluido Newtoniano caracteriza-se por apresentar viscosidade constante, independentemente da velocidade de

cisalhamento aplicada, enquanto que o fluxo não-Newtoniano caracteriza-se por uma variação da viscosidade quando ocorre variação da velocidade de cisalhamento.

A viscosidade é a grandeza que mede a fricção interna do fluido. Esta fricção se torna aparente, quando uma camada de fluido move-se em relação a outra camada fixa. A viscosidade de um fluido específico é função desta resistência, que é a força necessária para causar o movimento das camadas. Portanto, o cisalhamento (*shearing*) ocorre quando o fluido é fisicamente movido ou distribuído. Fluidos altamente viscosos necessitam de força maior para mover-se que materiais menos viscosos (SOUZA LIMA, 1997).

A diferença de velocidade (dv) entre dois planos de líquido separados por uma distância dx , é o gradiente de velocidade de cisalhamento ou gradiente de cisalhamento, expresso como $\gamma = (dv/dx)$, que tem como unidade s^{-1} (1/segundo). A força por unidade de área (F/A) requerida para o escoamento é chamada de tensão de cisalhamento (TOKUMOTO, 1996).

A lei de Newton pode ser escrita como $\tau = \eta \cdot \gamma$, em que η (Pa.s) é denominado coeficiente de viscosidade. Assim, quanto maior a viscosidade de um fluido maior a tensão de cisalhamento necessária para produzir certa taxa de cisalhamento (TOKUMOTO, 1996). A curva de tensão de cisalhamento (τ) em função da taxa de cisalhamento (γ) é um reograma, que para fluidos Newtonianos é uma linha reta que passa pela origem.

As dispersões sólidas concentradas de polímeros, as suspensões coloidais e as emulsões, por exemplo, não obedecem ao comportamento previsto pela equação de Newton para o escoamento (TOKUMOTO, 1996). Esses materiais apresentam comportamentos mais complexos, que não são descritos pela lei de Newton, aos quais se dá o nome de “fluidos não-Newtonianos ou fluidos de Stokes”. Este tipo de comportamento se caracteriza

por variações da viscosidade aparente (η_{ap}) em função da velocidade de cisalhamento aplicada à amostra (ALMEIDA e BAHIA, 2003).

Os fluidos não-Newtonianos são materiais que podem ser classificados em plásticos, pseudoplásticos e dilatantes.

O material é dito possuir comportamento plástico quando apresenta escoamento a partir de uma tensão mínima. Em repouso, esses materiais comportam-se como sólidos, devido à associação interpartículas (forças de Van der Waals). A força externa tem de ultrapassar estas forças internas e destruir a estrutura do material. A tensão de cisalhamento crítica necessária para produzir o escoamento designa-se valor ou tensão de cedência “*yield stress*” (ALMEIDA e BAHIA, 2003). O escoamento plástico está associado à presença de partículas floculadas em suspensões concentradas, resultante de uma estrutura contínua e organizada por todo o sistema (TOKUMOTO, 1996).

O comportamento pseudoplástico se caracteriza pela diminuição da resistência do material ao escoamento com o aumento da velocidade de deformação (ALMEIDA e BAHIA, 2003). Este comportamento é observado geralmente em polímeros em solução. A curva de comportamento reológico de um material pseudoplástico não é linear e passa pela origem, desse modo não apresentando ponto de escoamento. Os reogramas destes materiais resultam de uma ação de cisalhamento sobre materiais de cadeia longa. Conforme a tensão de cisalhamento aumenta, as moléculas alinham-se na direção de escoamento do fluido, reduzindo a resistência interna do material para cada tensão de cisalhamento sucessiva. (TOKUMOTO, 1996).

Os materiais dilatantes exibem um aumento na resistência ao escoamento com o aumento da velocidade de cisalhamento. Esses materiais apresentam alto teor de sólidos em

seu conteúdo, geralmente sendo suspensões com uma alta percentagem de partículas pequenas defloculadas. Entre os exemplos clássicos encontram-se as gomas, colas e pastas de amido e de argilas (TOKUMOTO, 1996).

As figuras 10, 11 e 12 apresentam os reogramas de dispersões de XIL em água a uma concentração de 2 g/L; 5 g/L e 10 g/L, respectivamente.

Os reogramas apresentados evidenciam que as dispersões de XIL apresentam um comportamento não-Newtoniano do tipo plástico, com um valor de cedência (Pa) de aproximadamente 0,06, 0,12 e 0,24, respectivamente. Isto indica que o material apresenta forças internas que o mantêm em inércia de fluxo até um determinado valor de gradiente de cisalhamento e após este valor ele começa a fluir.

Materiais com baixos valores de cedência se assemelham ao comportamento de fluidos newtonianos. Ou seja, baixos valores de cedência significam que o polímero requer tensões mínimas para começar a fluir, o que é de grande importância comercial, com relação à recuperação e aplicação dentro da tecnologia de polímeros, especialmente pela baixo desperdício de material e processo de dissipação que esses passam a apresentar em fluxo (SOUZA LIMA, 1997).

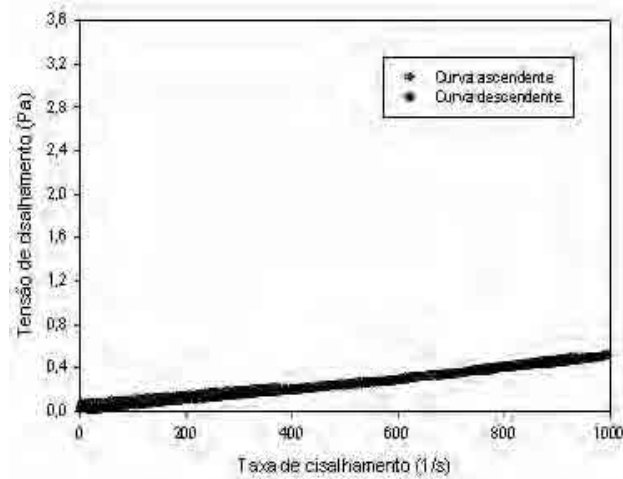


Figura 10 - Reograma da dispersão de XIL com concentração de 2 g/L.

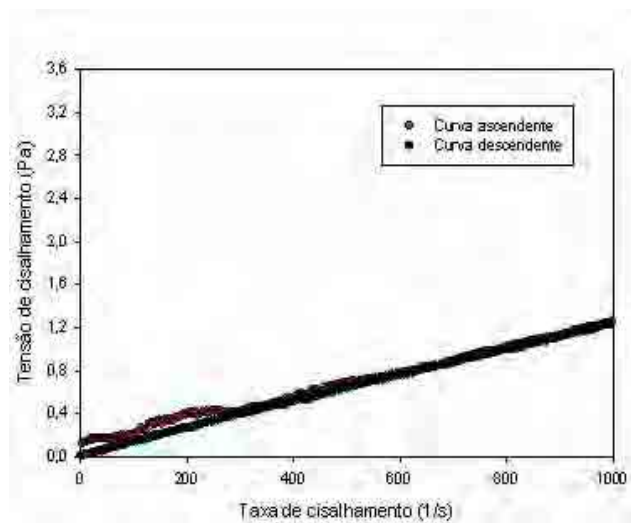


Figura 11 - Reograma da dispersão de XIL com concentração de 5 g/L.

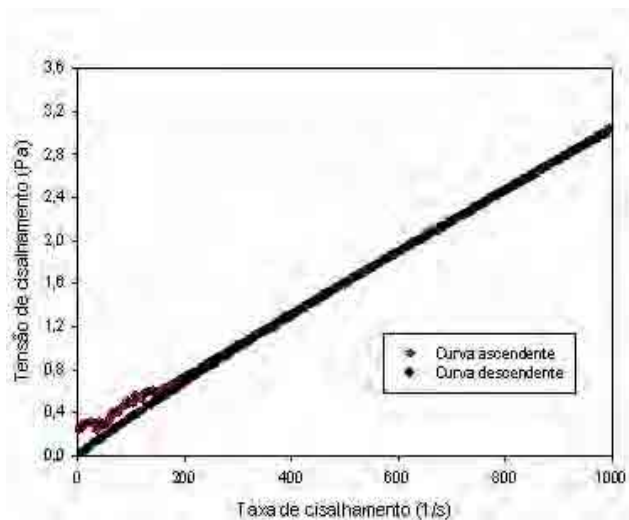


Figura 12 - Reograma da dispersão de XIL com concentração de 10 g/L.

A análise do comportamento reológico de dispersões com concentrações de 2 g/L de galactoxiloglucana, galactoxiloglucana sulfatada e galatomanana, todas extraídas de *H. courbaril* foi realizada por Souza Lima (1997). Observou-se que todas as dispersões apresentaram um comportamento não-Newtoniano do tipo plástico. Segundo Souza Lima (1997), tanto a XIL não sulfatada como a sulfatada apresentaram um valor de cedência de $0,01 \text{ N/m}^2$, concluindo que mesmo a introdução de grupamentos sulfato nas cadeias laterais da XIL não alterou o comportamento do movimento, que depende, portanto, unicamente da cadeia principal do polímero. A dispersão de galactomanana apresentou um valor de cedência mais elevado de $0,10 \text{ N/m}^2$.

Outro tipo de representação gráfica que pode ser exibida é a relação entre a viscosidade e a velocidade de cisalhamento. As figuras 13, 14 e 15 exibem a relação viscosidade (Pa.s) *versus* o gradiente de cisalhamento (1/s) das dispersões de XIL em água nas concentrações de 2 g/L; 5 g/L e 10 g/L, respectivamente.

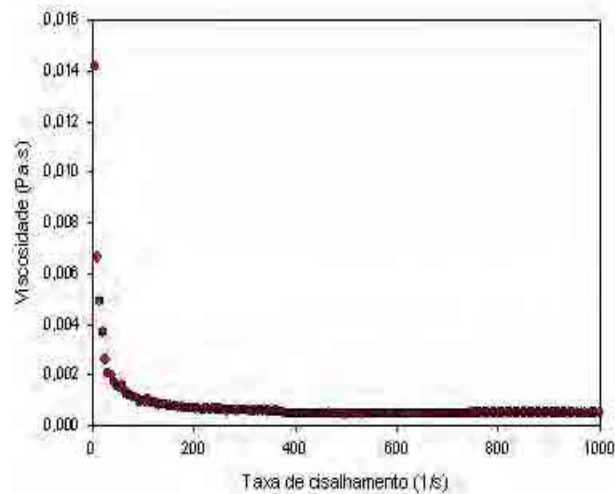


Figura 13 – Representação gráfica da relação entre viscosidade *versus* gradiente de cisalhamento da dispersão de XIL com concentração de 2 g/L.

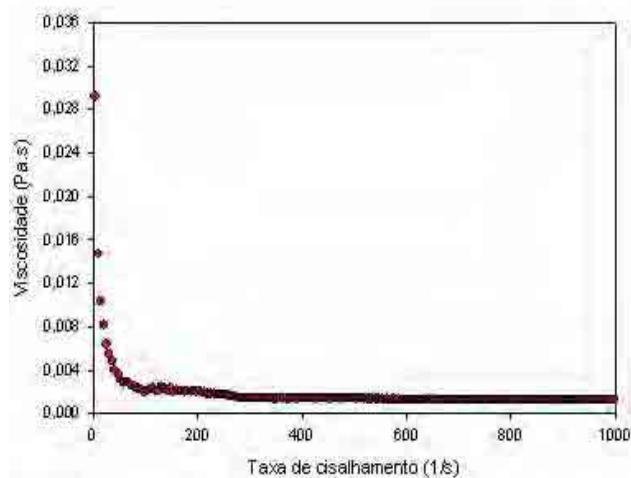


Figura 14 – Representação gráfica da relação entre viscosidade *versus* gradiente de cisalhamento da dispersão de XIL com concentração de 5 g/L.

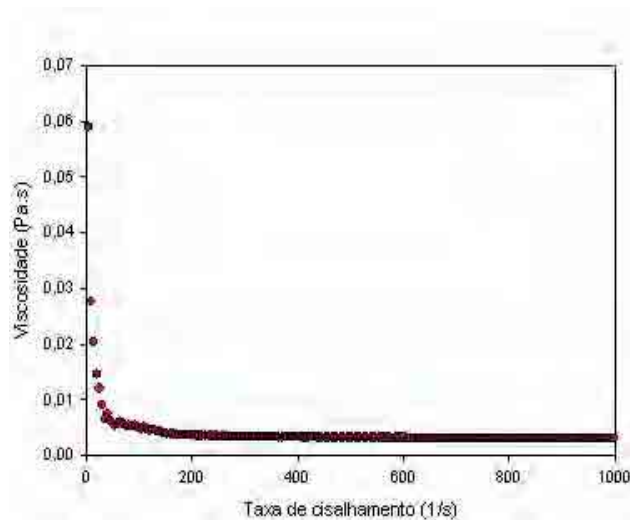


Figura 15 – Representação gráfica da relação entre viscosidade *versus* gradiente de cisalhamento *da* dispersão de XIL com concentração de 10 g/L.

Conforme pode ser observado (figuras 13, 14 e 15), todas as amostras apresentaram uma resistência, ou viscosidade, maior ao escoamento, quando foram submetidas a um gradiente de cisalhamento inicial. A amostra com concentração de 10 g/L apresentou a maior viscosidade, que foi próxima de 0,06 Pa.s, enquanto que a dispersão com concentração de 2 g/L apresentou uma viscosidade de 0,006 Pa.s, que foi a menor de todas elas. Isso pode evidenciar a relação que existe entre concentração de polissacarídeo na dispersão e viscosidade. Observa-se uma constância nos valores de viscosidade a partir de um gradiente de cisalhamento de aproximadamente 200 s^{-1} para todas as dispersões estudadas.

5.2.7 Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O conhecimento das características físico-químicas inerentes a um polímero é fundamental para a compreensão de seu desempenho termomecânico (CANEVAROLO, 2002).

O principal objetivo da técnica de análise por DSC é registrar temperaturas de transição, através da comparação de temperaturas da amostra e de uma referência que é totalmente inerte dentro da faixa de temperatura ensaiada. Observando como esta diferença de temperatura varia com o aquecimento a uma taxa constante, é possível registrar as transições importantes, como a temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de início de degradação, que resultam em picos endotérmicos ou exotérmicos no gráfico de quantidade de calor *versus* temperatura (HATAKEYAMA citado por REGIANE, 2000).

De um modo geral, os polímeros podem apresentar pelo menos três temperaturas de transição importantes: de transição vítrea, de fusão cristalina e de cristalização (CANEVAROLO, 2002).

As aplicações dos estudos de DSC no campo de polímeros estendem-se na verificação da T_g , do grau de cristalinidade, na determinação de T_g de copolímeros e blendas poliméricas, nos estudos de estabilidade através da determinação da temperatura de decomposição e numerosos outros parâmetros (CAMPBELL e WHITE, 1989).

A T_g é o valor médio da faixa de temperatura que, durante o aquecimento de um material polimérico, permite que as cadeias da fase amorfa adquiram mobilidade. Abaixo da T_g , o polímero não tem energia interna suficiente para permitir o deslocamento de uma cadeia em relação à outra por mudanças conformacionais. Ele está no estado vítreo, em que se apresenta duro, rígido e quebradiço. Acima da T_g a cadeia polimérica sofre rotação e

movimentos difusionais, estando o polímero no estado elástico (CANEVAROLO, 2002). Como qualquer outra transição física, esta também é consequência de um aumento da temperatura do sistema (REGIANE, 2000).

A curva DSC da XIL está apresentada na figura 16.

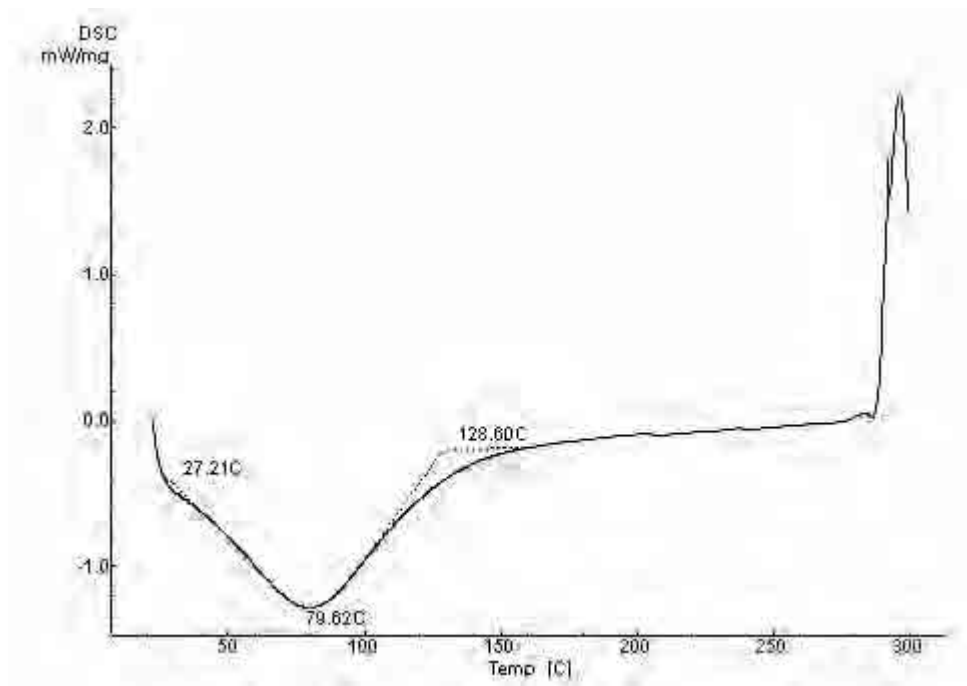


Figura 16 - Curva DSC da XIL sob atmosfera de nitrogênio ($120 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) com razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.

Observa-se um pico endotérmico em $79,62^\circ\text{C}$ referente à T_g do polissacarídeo (figura 16). Abaixo desse valor de T_g , a mobilidade das cadeias do polímero é muito baixa. Polímeros com valores de T_g maiores do que a temperatura fisiológica de 37°C são vítreos na natureza. Dessa maneira, apresentam uma estrutura de cadeias poliméricas rígidas, as quais exibem significativo estiramento mecânico para serem formulados como dispositivos de liberação controlada (JAIN citado por MAINARDES, 2004).

Um outro fator importante, que pode ser observado na figura 16, é que não existe um pico endotérmico agudo, podendo-se concluir que o polímero apresenta-se no estado

amorfo. O pico exotérmico presente em aproximadamente 300°C pode se referir à temperatura inicial de decomposição da XIL.

5.4 Formação dos filmes contendo xiloglucana

Para cada ensaio realizado nos testes de estudos preliminares para a verificação da influência dos três fatores no processo de formação dos filmes (temperatura, a concentração de XIL na dispersão e o tempo de secagem), houve um resultado denominado como “resposta”, indicando se houve ou não a formação dos filmes.

A resposta de cada um dos ensaios será SIM quando houver a formação dos filmes e NÃO quando não houver.

A tabela 01 apresenta as respostas para os oito ensaios realizados.

Tabela 01 – Respostas obtidas indicando se houve a formação de filmes

ENSAIO	RESPOSTA
1	NÃO
2	SIM
3	NÃO
4	SIM
5	SIM
6	SIM
7	SIM
8	SIM

Após a realização dos ensaios **1** e **3**, observou-se que não houve a formação de filmes. Isso aconteceu, pois não houve evaporação completa do solvente durante as 8 h de secagem.

Houve a formação de filmes nos ensaios **2** e **4**, porém a concentração de XIL utilizada na formulação foi insuficiente para completar a área do molde utilizado. Os filmes formados no ensaio **2** ficaram mais quebradiços que os formados no ensaio **4**. Este fato pode ter ocorrido devido à temperatura (50°C) aplicada no ensaio **2** ser maior que aquela aplicada no ensaio **4** (30°C).

Verificou-se ao final dos ensaios **5**, **6** e **8** que houve a formação dos filmes, porém confirmando o fato que ocorrera no ensaio **4**, os filmes ficaram muito quebradiços no manuseamento, indicando ser muito drástica a temperatura de 50°C tanto no período de secagem de 8 h quanto no de 12 h.

Os filmes formados no ensaio **7**, que foram secos a 30°C durante 12 h, ficaram facilmente manipuláveis, não ocorrendo sua fratura quando tocados. A aplicação de temperatura mais branda por período de tempo mais longo foi ideal para a formação de filmes homogêneos.

A partir desses estudos, optou-se pela utilização das condições usadas no ensaio **7**, que incluem: temperatura de 30°C, concentração de 1% de XIL e tempo de 12 h.

A figura 17 mostra um dos filmes formados no ensaio **7**.



Figura 17 – Fotografia de um filme de XIL a 1%.

Os filmes de XIL a 1% apresentaram-se totalmente livres da superfície (sem aderência), eram homogêneos, transparentes, sem rachaduras, apresentaram poucas bolhas de ar e um pouco de rugosidade.

5.4.1 Formação de filmes contendo xiloglucana a 1% e plastificantes

Os plastificantes são substâncias de baixo peso molecular que podem causar um aumento da flexibilidade e extensibilidade de filmes devido a sua capacidade em reduzir as interações intercadeias poliméricas, uma vez que enfraquecem as ligações de hidrogênios formadas entre elas (AUDIC e CHAUFER, 2005; VANIN et al., 2005).

Os plastificantes mais eficientes devem ser compatíveis e mais semelhantes com a estrutura do polímero (MALI et al., 2005; VANIN et al., 2005). Podem evitar a quebra do filme durante o manuseio e o armazenamento, além de afetar as características de permeabilidade dos filmes frente a gases, solutos e vapor d'água (MALI et al., 2006).

Os polióis são freqüentemente citados na literatura como bons plastificantes, especialmente para filmes formados a base de polissacarídeos (MALI et al., 2005; MALI et al., 2006; TAPIA-BLACIDO et al., 2005) e gelatina (VANIN et al., 2005). Podem ser citados, como exemplos de plastificantes, o glicerol (GLI) e o sorbitol (TAPIA-BLACIDO et al., 2005; VANIN et al., 2005), o etilenoglicol (ETG), o dietilenoglicol (DiETG) e o propilenoglicol (PPG) (VANIN et al., 2005) e o tri- e o tetraetilenoglicol (AUDIC e CHAUFER, 2005).

Os filmes contendo plastificantes foram formados através da secagem das dispersões a 30°C durante 20 h. Observou-se que, com a adição dos plastificantes, houve uma necessidade de se prolongar o tempo de evaporação do solvente, uma vez que com 12 h os filmes não estavam totalmente secos. Isto pode ter ocorrido devido ao caráter hidrofílico que os plastificantes apresentam.

5.5 Caracterização dos filmes

Os filmes podem ser caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas e mecânicas, as quais ajudam a prever a estabilidade e as características de liberação das formas farmacêuticas nas quais serão empregados (KFURI, 2003).

Também é interessante conhecer as propriedades físico-químicas de filmes quando se deseja avaliar os efeitos produzidos por modificações implementadas, como por exemplo, a introdução de adjuvantes (CARVALHO, 1996). Esse conhecimento deve contribuir para uma otimização das formulações, dessa forma, acarretando um máximo benefício através de tais modificações.

Entre as propriedades de filmes livres que devem ser estudadas estão a permeabilidade, grau de hidratação, propriedades térmicas e mecânicas, estrutura física, estabilidade a luz e temperatura (CARVALHO, 1996).

5.5.1 Espectroscopia no infravermelho

A análise por espectroscopia no infravermelho permite observar e classificar algumas bandas relativas a vibrações características dos grupos funcionais presentes nos compostos. Na figura 18 é apresentada a sobreposição do espectro obtido para o filme de XIL a 1% sem plastificantes com os espectros dos filmes de XIL a 1% com PPG e com GLI usados como plastificantes.

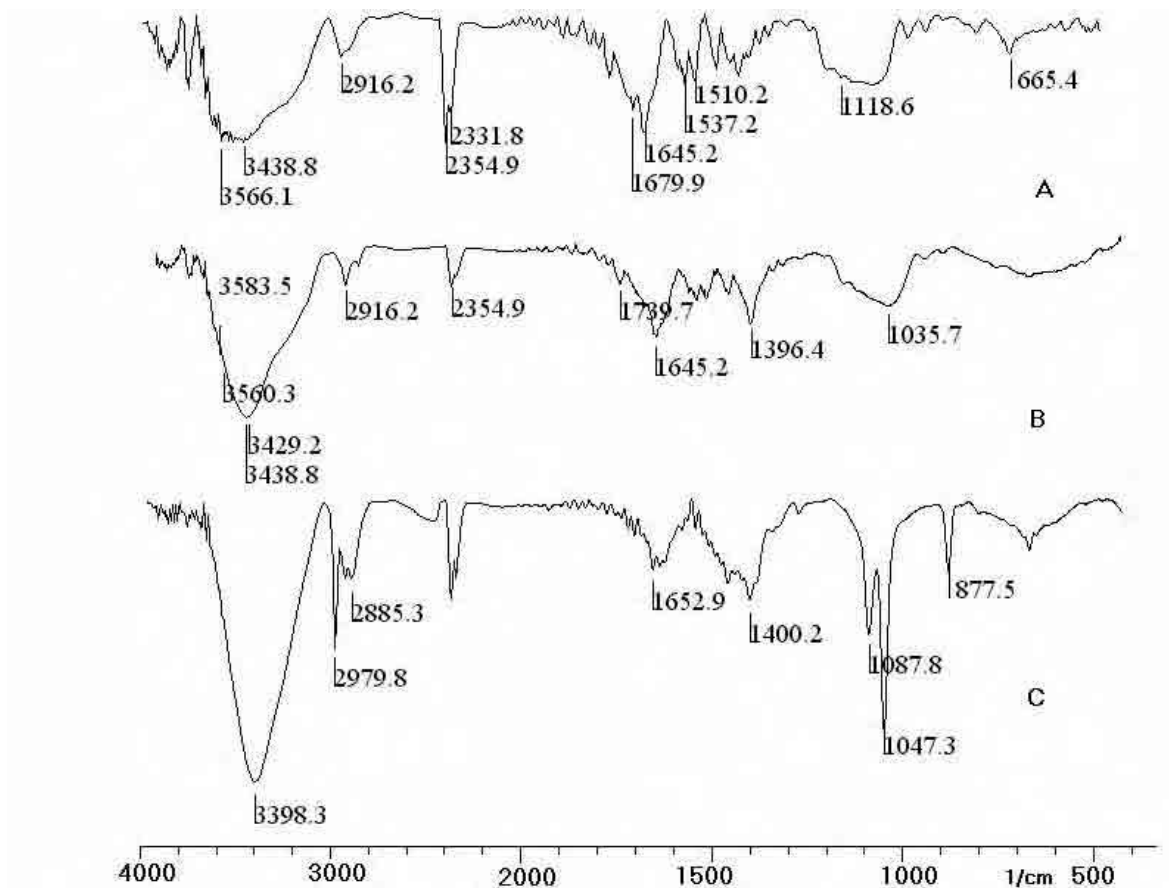


Figura 18 – Espectros de infravermelho de filmes de XIL a 1%, sem plastificante (A), com PPG (B) e com GLI (C) como plastificantes.

Conforme pode ser observado, todos os espectros apresentaram as mesmas bandas de absorção presentes no espectro da XIL (item 5.2.1). Uma banda resultante do estiramento da ligação entre oxigênio e hidrogênio na região entre 3200 a 3550 cm^{-1} , referente à deformação axial correspondente aos grupamentos OH. A banda relativa ao estiramento de ligação entre C-O-C para polissacarídeos próxima a 1000 cm^{-1} também

aparece. Outras bandas são relativas às vibrações das ligações entre carbono e hidrogênio. A banda de estiramento assimétrico desta ligação para o grupo metileno (CH_2) encontra-se próxima a 2900 cm^{-1} e as bandas de deformação angular desta ligação aparecem na região de 1300 a 1400 cm^{-1} (SILVERSTEIN et al., 1994).

A partir da análise dos espectros pode-se sugerir que a inclusão dos plastificantes não causou nenhuma modificação na estrutura da XIL, indicando que esses plastificantes são compatíveis com ela. Também se pode confirmar que os plastificantes atuam colocando-se entre as cadeias poliméricas sem formar nenhum tipo de ligação química com a estrutura do polímero.

5.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A MEV é uma ferramenta que se tornou amplamente disponível no final da década de 1960. Apesar de usar instrumentos altamente sofisticados, eles são facilmente operáveis e as informações que fornece são normalmente fáceis de se interpretar. Além de ser amplamente empregada na área das ciências biológicas, também serve com muita utilidade para o estudo das ciências dos materiais, como por exemplo no estudo de polímeros (CAMPBELL e WHITE, 1989).

A MEV também pode ser amplamente empregada na tecnologia de liberação de fármacos, tanto na visualização da morfologia de nano e micropartículas (SHU e ZHU, 2002; KO et al., 2002) quanto na análise da superfície de filmes formados (CARVALHO, 1996), entre outros. A microscopia eletrônica de varredura por microanálise de Raios-X é utilizada para verificação da possibilidade de organização de cargas na formação do filme (CARVALHO, 1996).

A figura 19 apresenta as fotomicrografias das superfícies dos filmes de XIL a 1%.

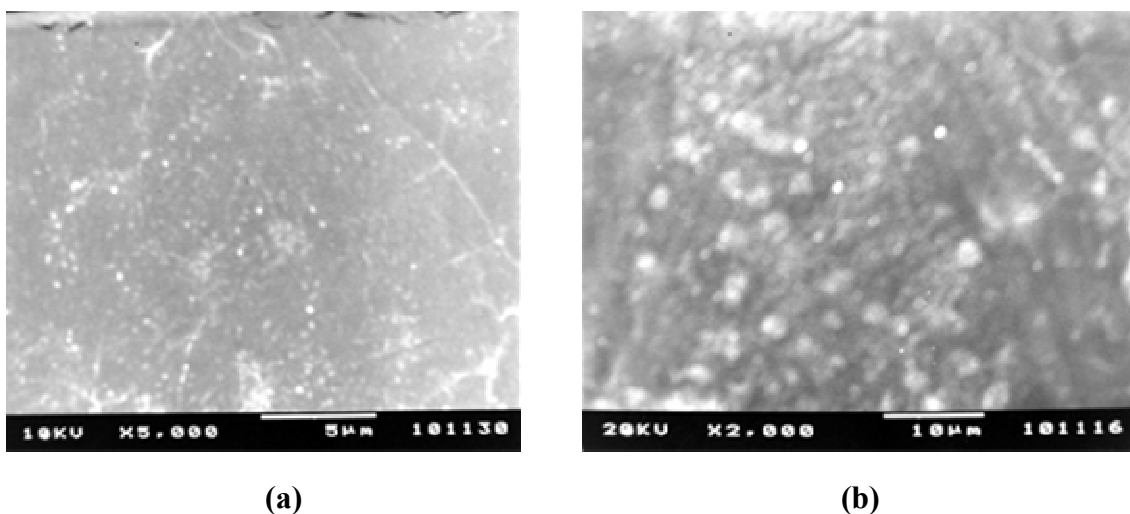


Figura 19 – Fotomicrografias de filme de XIL obtidas por MEV em aumento de 5000 x (a) e 2000 x (b).

Analisando-se as fotomicrografias do filme de XIL sem plastificante, conclui-se que este apresentava muitos poros em sua superfície, não constituindo um filme com superfície contínua.

As figuras 20 e 21 apresentam as fotomicrografias de filmes de XIL com o PPG e o GLI, respectivamente, como plastificante, nas seguintes concentrações: 10 g; 30 g e 50 g de plastificante/100 g XIL.

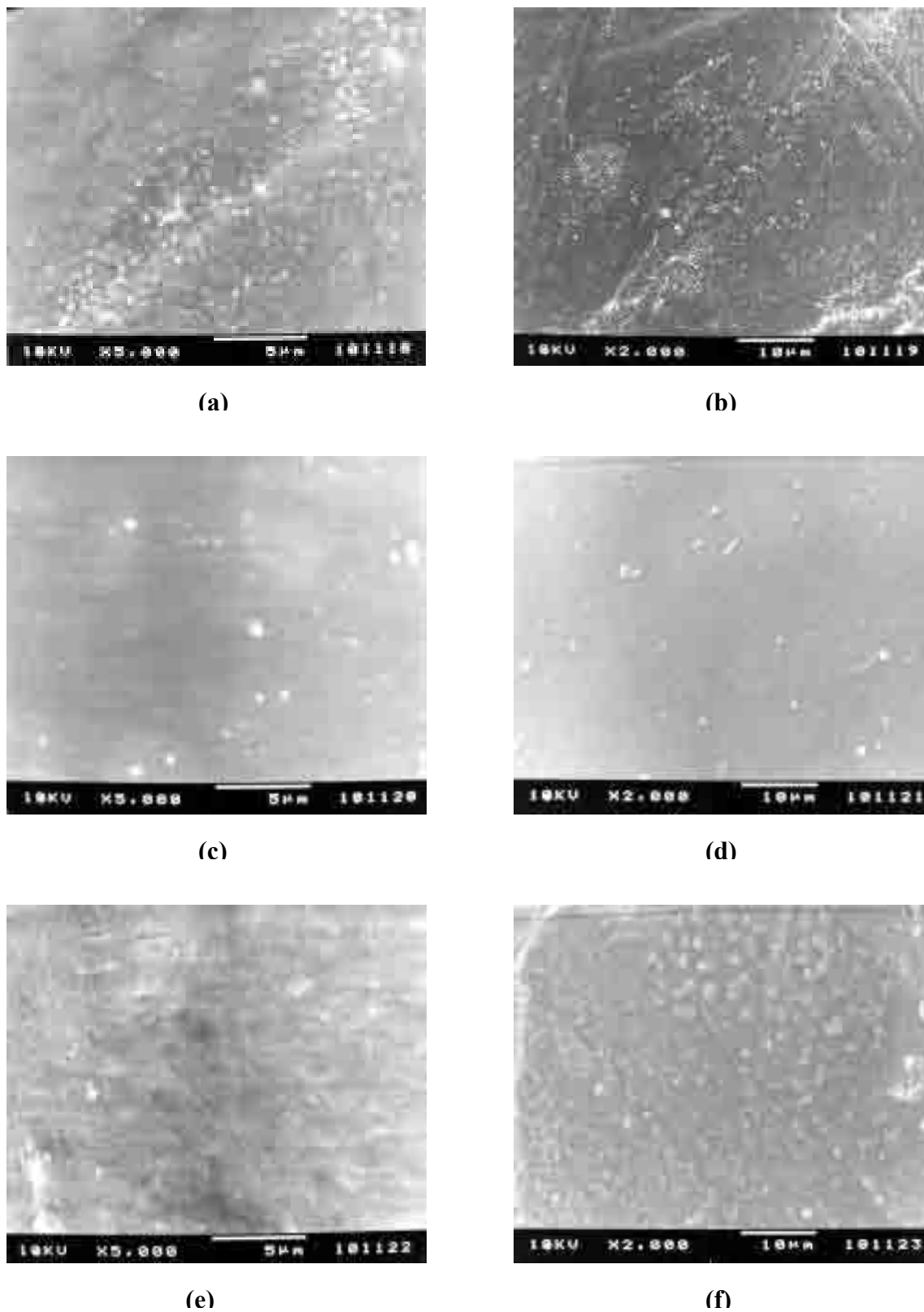


Figura 20 – Fotomicrografias de filmes obtidas por MEV com aumento de 5000 X (a), (c), (e) e 2000 X (b), (d), (f). Filmes nas concentrações de 10 g (a), (b); 30 g (c), (d) e 50 g (e), (f) de PPG/100 g de XIL.

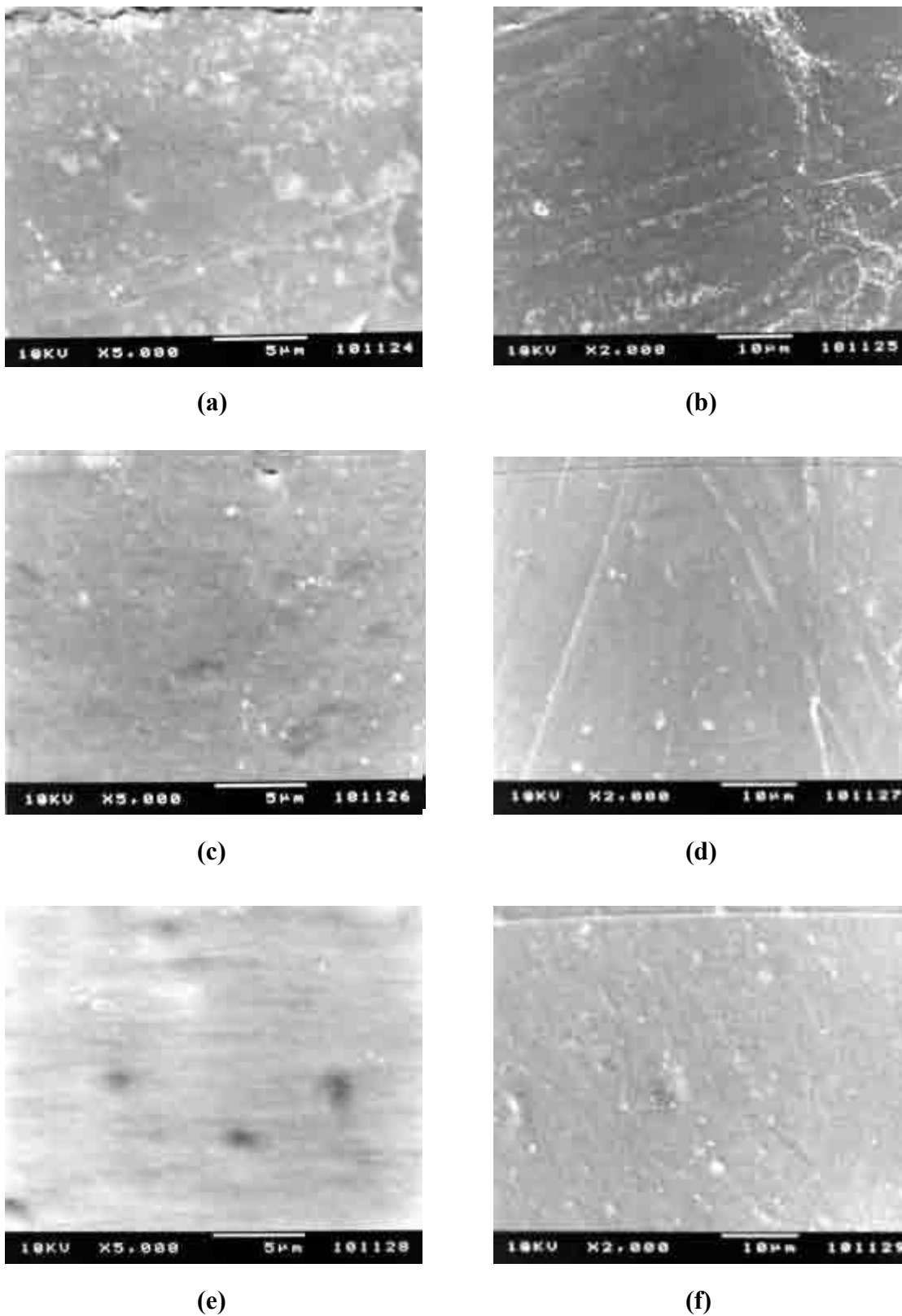


Figura 21 – Fotomicrografias de filmes obtidas por MEV com aumento de 5000 X (a), (c), (e) e 2000 X (b), (d), (f). Filmes nas concentrações de 10 g (a), (b); 30 g (c), (d) e 50 g (e), (f) de glicerol/100 g de xilogucana.

A figura 20 apresenta filmes que continham PPG. O filme contendo 30 g de PPG/100 g de XIL foi aquele que apresentou superfície mais lisa e uniforme, com poucos microcanais em sua superfície. O filme com a maior concentração de PPG (figura 21e) apresentou falta de homogeneidade na superfície.

O filme com maior concentração de GLI (figura 21) foi o que apresentou a superfície mais lisa e homogênea, podendo indicar que a concentração de GLI utilizada afeta as características da superfície de filmes de XIL. O filme com menor concentração de GLI foi aquele que apresentou a maior quantidade de microcanais em sua superfície.

5.5.3 Análise mecânica

É importante o conhecimento das características mecânicas de filmes livres, pois podem fornecer informações para seleção do material polimérico que será usado na formação de filmes de revestimentos. Porém, as propriedades mecânicas dos filmes livres testados em laboratório podem não corresponder ao seu comportamento mecânico quando os filmes são usados em formas farmacêuticas (CARVALHO, 1996).

Parâmetros estruturais do polímero afetam diretamente o seu desempenho sob solicitações mecânicas. Assim, características estruturais do polímero, tais como cristalinidade, presença de grupos polares, massa molecular, copolimerização, ligações cruzadas, podem alterar drasticamente o seu comportamento mecânico. Parâmetros externos, tais como presença de plastificante, elastômero, monômero residual, reforço com fibras, etc., também afetam o comportamento mecânico do composto (CANEVAROLO, 2002).

Para a determinação das propriedades mecânicas dos filmes livres o teste de tensão de deformação foi criado para medir, continuamente, a força produzida em uma amostra de filme quando este é alongado a uma razão constante. São determinados valores de tensão de ruptura (em MPa), alongamento (%) e módulo elástico (em MPa) para cada filme analisado (MALI et al., 2005; MALI et al., 2006; AUDIC e CHAUFER, 2005; TAPIA-BLÁCIDO et al., 2005).

A deformação tensional de um filme polimérico livre pode dar informações mecânicas valiosas sobre o ponto crítico, força de quebra, alongamento de quebra e módulo de elasticidade. A resistência à ruptura e a elasticidade são as principais propriedades mecânicas de caracterização. Estes parâmetros são especialmente importantes quando investiga-se a influência de variáveis na preparação de filmes (CARVALHO, 1996).

Em muitos casos, plastificantes são adicionados à formulação contendo um polímero para reduzir a resistência à ruptura no produto acabado, alterando fortemente seu comportamento mecânico (CANEVAROLO, 2002).

Com o objetivo de verificar a influência de fatores como a concentração e o tipo de plastificante adicionado nas propriedades mecânicas de filmes de XIL a 1% é que foram determinados valores de tensão de ruptura, alongamento e módulo elástico para cada filme analisado.

Para efeito de comparação, as propriedades mecânicas dos filmes sem plastificante e com plastificantes estão apresentadas nas figuras 22, 23 e 24 quando o plastificante utilizado foi o PPG e nas figuras 25, 26 e 27 quando foi o GLI.

As figuras 28, 29 e 30 apresentam uma comparação dos valores de alongamento (%), módulo elástico e tensão de ruptura *versus* concentração de plastificante entre os filmes que continham GLI e PPG.

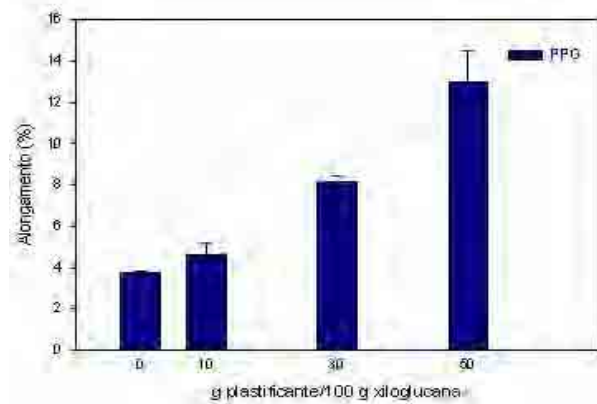


Figura 22 - Alongamento (%) *versus* concentração de plastificante.

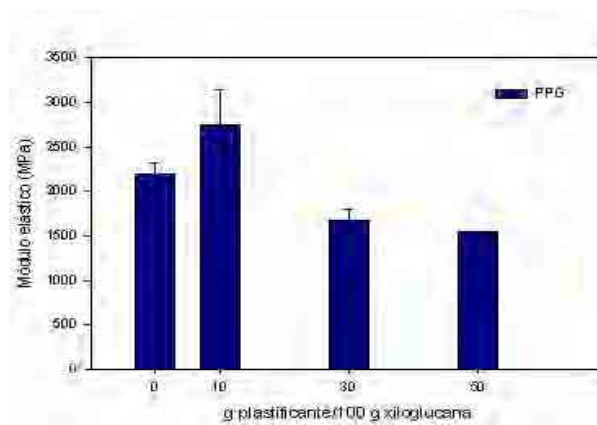


Figura 23 - Módulo elástico (MPa) *versus* concentração de plastificante.

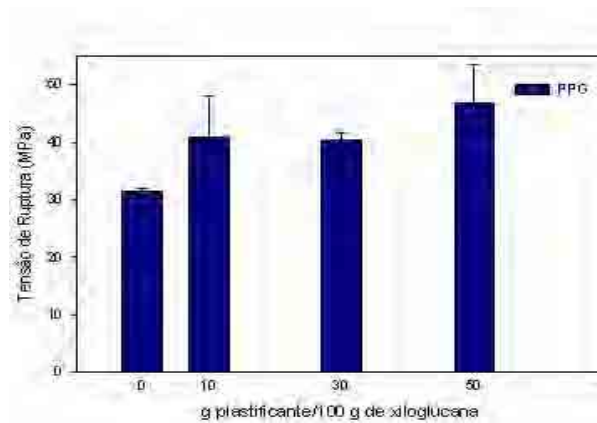


Figura 24 - Tensão de ruptura (MPa) *versus* concentração de plastificante.

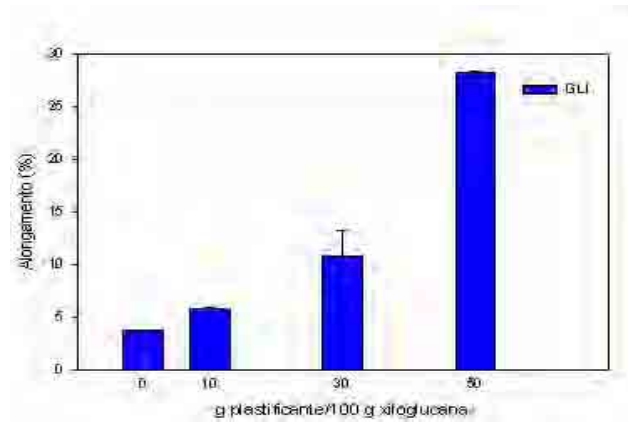


Figura 25 - Alongamento (%) *versus* concentração de plastificante.

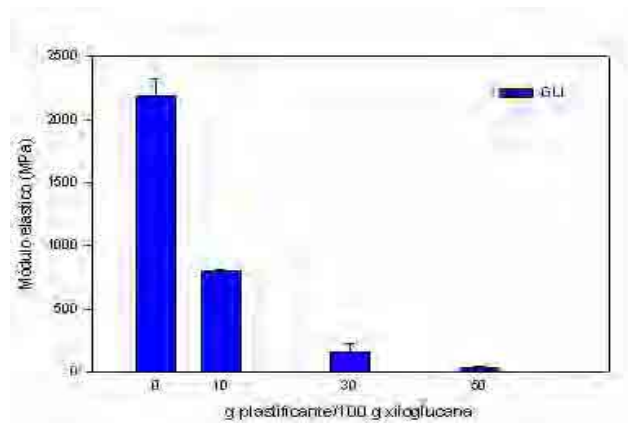


Figura 26 - Módulo elástico (MPa) *versus* concentração de plastificante.

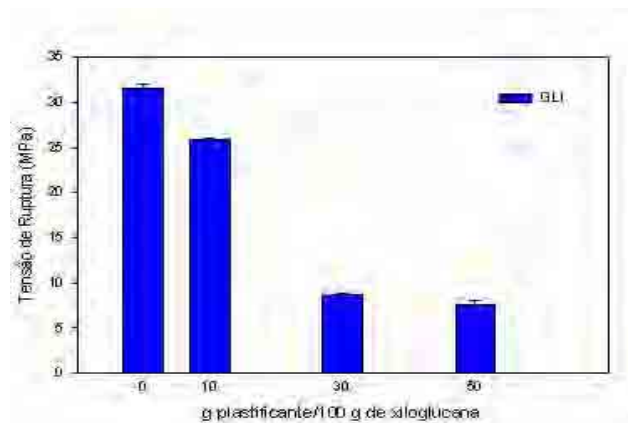


Figura 27 - Tensão de ruptura (MPa) *versus* concentração de plastificante.

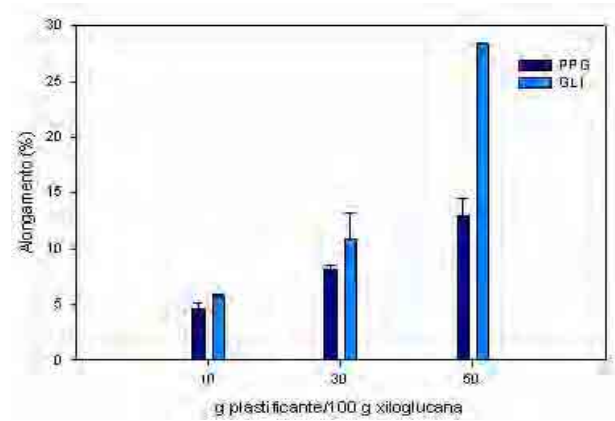


Figura 28 - Alongamento (%) *versus* concentração de plastificante.

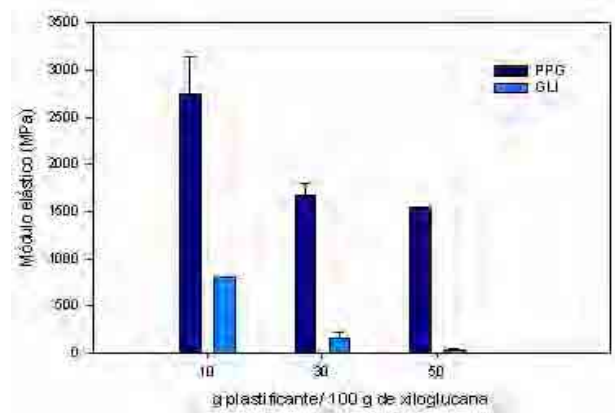


Figura 29 - Módulo elástico (MPa) *versus* concentração de plastificante.

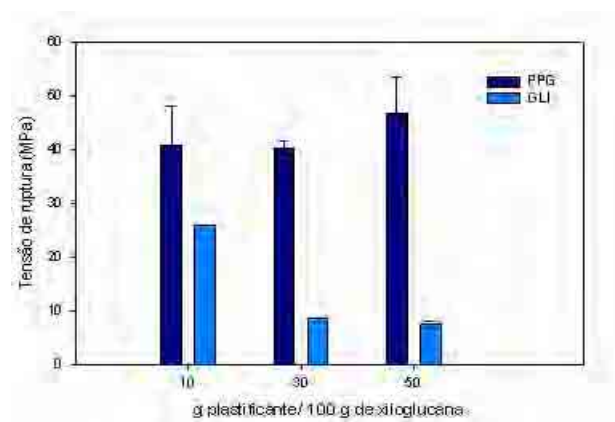


Figura 30 - Tensão de ruptura (MPa) *versus* concentração de plastificante.

O comportamento mecânico ideal de filmes deve vir acompanhado de altos valores de alongamento associados com baixos valores de tensão de ruptura (AUDIC e CHAUFER, 2005).

Os valores de alongamento ou deformação no escoamento são maiores em filmes com maiores concentrações de plastificante, tanto para filmes com PPG (figura 22) quanto para filmes com GLI (figura 25). Observou-se um menor valor dessa propriedade mecânica em filmes que não continham plastificantes em sua composição (figuras 22 e 25).

O módulo de Young ou módulo elástico é a medida da elasticidade de um filme. Quanto maior o valor do módulo, menor é a elasticidade do material. Ao se aumentar o conteúdo de plastificante nos filmes, diminui-se o valor do módulo de Young, aumentando-se a flexibilidade desses materiais (MALI et al., 2005; MALI et al., 2006).

Comparando-se aos filmes que continham PPG na formulação (figura 23), o valor de módulo foi maior para os filmes sem plastificantes em comparação com os filmes com 30 e 50 g PPG/100 g de XIL. Com exceção dos filmes preparados com 10 g de PPG/100 g de XIL, que apresentaram o maior valor de módulo elástico de todos, indicando que esses filmes possam ser os mais “duros” e menos flexíveis.

Os valores de módulo elástico dos filmes diminuíram conforme houve um aumento na concentração de GLI, o que pode ser observado na figura 26. O maior valor de módulo elástico foi para os filmes sem plastificantes, estando em torno de 2200 MPa.

O tipo de plastificante também pode afetar os valores de módulo elástico. Audic e Chaufer (2005) obtiveram os menores valores dessa propriedade mecânica com filmes de caseinato de sódio com GLI e trietanolamina (TEA) em sua composição, quando comparados aos filmes contendo ETG, DTG e tri- e tetraetilenoglicol.

Comparando-se os valores de módulo elástico entre filmes com PPG e GLI em sua composição, pode-se observar que os filmes contendo PPG apresentaram os maiores valores de módulo elástico (figura 29) em todas as concentrações estudadas.

Os filmes sem plastificantes apresentam os maiores valores de tensão de ruptura do que aqueles que continham GLI (figura 27). Um comportamento oposto foi observado nos filmes com PPG (figura 24).

Os filmes que continham GLI apresentaram maiores valores de alongamento (figura 28), menores valores de módulo elástico (figura 29) e tensão de ruptura (figura 30) do que aqueles com PPG.

Conforme já citado antes neste trabalho, um filme com boas características mecânicas deve possuir altos valores de alongamento (%) associados a baixos valores de tensão de ruptura. Os filmes com concentração de 50 g de GLI/ 100 g de XIL apresentaram este comportamento (figuras 28 e 30). Esses filmes apresentaram os maiores valores de deformação no escoamento (%) e os menores valores de tensão de ruptura (MPa), sugerindo ser o GLI, nesta concentração, a melhor opção, entre os plastificantes estudados, quando se leva em conta as propriedades mecânicas analisadas.

Sabe-se que a concentração de plastificantes na composição de filmes está relacionada com a flexibilidade e extensibilidade desses compostos. O aumento da elasticidade de filmes hidrofílicos através do aumento da concentração de plastificantes tem sido relatada na literatura (MALI et al., 2005; MALI et al., 2006; VANIN et al., 2005). Este comportamento pode estar relacionado às modificações estruturais da rede polimérica quando o plastificante é incorporado, tornando-a menos densa e facilitando o movimento das cadeias poliméricas (MALI et al., 2005).

Os efeitos dos plastificantes (glicerol, sorbitol e uma mistura glicerol:sorbitol) em filmes a base de amido de mandioca foram avaliados por Mali e colaboradores (2005). Três concentrações de plastificantes foram estudadas (0, 20 e 40 g/100 g de amido). Os autores concluíram que o tipo e a concentração de plastificante afetaram as propriedades mecânicas dos filmes. A presença dos plastificantes resultou em menores valores de tensão de ruptura e de módulo elástico. Os filmes contendo GLI foram os mais afetados em suas propriedades mecânicas, indicando que este plastificante exerceu um efeito mais realçado.

Um outro fator que tem sido relatado por alguns autores (CUQ et al., 1997; MALI et al., 2005) se relaciona com o peso molecular (PM) dos plastificantes. Eles relataram que compostos com menores valores de PM produziram um efeito superior do que os plastificantes com maiores valores na mesma concentração. Segundo esses autores isso ocorre pois o número de moles de plastificantes incorporados no filme é maior para aqueles que apresentam o PM menor. Isso faz com que o plastificante fique mais distribuído ao longo de todo o polímero, tornando o seu efeito mais eficiente.

Entretanto, esta teoria do PM não se aplica para os filmes obtidos neste trabalho uma vez que o GLI que possui o PM (92 g/mol) maior do que o PPG (76 g/mol) apresentou um efeito plastificante mais pronunciado.

Vanin e colaboradores (2005) também observaram que os comportamentos obtidos para os plastificantes utilizados em seu trabalho não podem ser explicados por esta teoria. O GLI se apresentou como plastificante mais eficiente quando comparado ao PPG e ETG. O PM do GLI é maior do que o do ETG e do PPG.

De acordo com Donhowe e Fennema (1993) esta teoria pode ser aplicada quando o PM dos plastificantes for muito diferente, o que não é o caso neste trabalho.

A forma pela qual as cadeias poliméricas estão arranjadas estruturalmente é um fator que deve ser considerado ao se tratar das propriedades mecânicas de filmes. Um exemplo que pode ser citado é para filmes a base de amido, os quais possuem propriedades mecânicas dependentes da proporção amilose/amilopectina em sua composição (LOURDIN et al., 1995). A amilose, com cadeia linear, e a amilopectina, com cadeia ramificada, exibem comportamentos diferentes com relação à geleificação, desenvolvimento de cristalinidade e capacidade de formar filmes. Quando os grânulos de amido são aquecidos em água, eles se intumescem e rompem, liberando amilose e amilopectina. As cadeias ramificadas da amilopectina apresentam, em solução, uma fraca tendência a interagir e, conseqüentemente, os filmes de amilopectina são fracos, coesivos e flexíveis. As cadeias lineares da amilose apresentam, em solução, uma maior tendência de interagir por meio de ligações de hidrogênio e, conseqüentemente, os filmes de amilose são mais rígidos do que os filmes de amilopectina (RINDLAV-WESTLING et al., 1998; MALI et al., 2006).

5.5.4 Estudos de calorimetria exploratória diferencial

A técnica de DSC tem sido utilizada em estudos de caracterização de filmes, principalmente como ferramenta para a determinação da temperatura de transição vítrea (T_g). A T_g de filmes pode variar dependendo da composição dos filmes e do tempo de armazenamento (MALI et al., 2006).

Sabe-se que a T_g de materiais pode também afetar as suas propriedades mecânicas. A diminuição da “dureza” dos filmes poderia ser explicada pela diminuição dos valores de T_g provocada por plastificantes (VANIN et al., 2005).

Quando um plastificante é adicionado, as interações diretas e a proximidade entre as cadeias são menores. Desse modo, sob a ação de forças mecânicas o movimento das cadeias é facilitado, uma vez que houve a diminuição da T_g desses materiais, melhorando a sua extensibilidade (MALI et al., 2006).

Portanto, o uso de plastificantes em polímeros torna possível a obtenção de materiais com um amplo espectro de propriedades mecânicas, utilizando-se o mesmo polímero base sem modificações químicas (CANEVAROLO, 2002).

Em polímeros tais como Nylons, poliuretanos e plásticos à base de celulose, a presença de água absorvida pode causar um grande efeito sobre suas propriedades mecânicas. A absorção preferencial de água nesses polímeros ocorre em função da possibilidade de formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e grupos oxigenados da cadeia polimérica, funcionando como um plastificante (CANEVAROLO, 2002).

Foram realizados estudos de DSC em amostras contendo PPG (figura 31) e outras contendo GLI (figura 32) em três concentrações: 10,30 e 50 g plastificante/100 g de XIL. Também foram realizados os mesmos estudos para amostras de filmes de XIL sem plastificantes (figuras 31 e 32), para que fosse possível avaliar a influência da adição desses plastificantes e compará-los entre si.

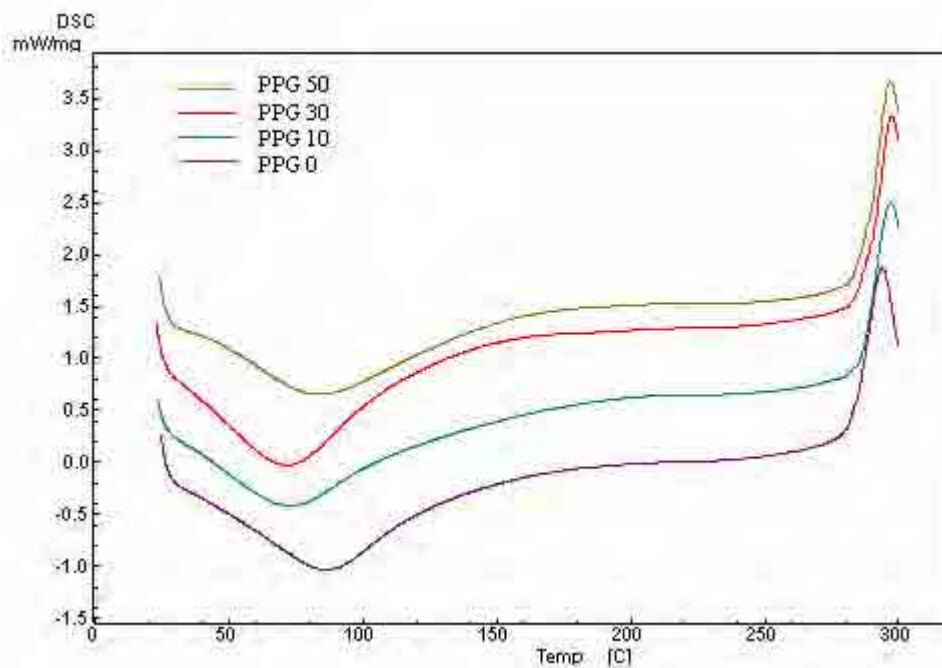


Figura 31 - Curva DSC de filmes de XIL (de baixo para cima) sem plastificante, com 10, 30 e 50 g de PPG/100 g de XIL.

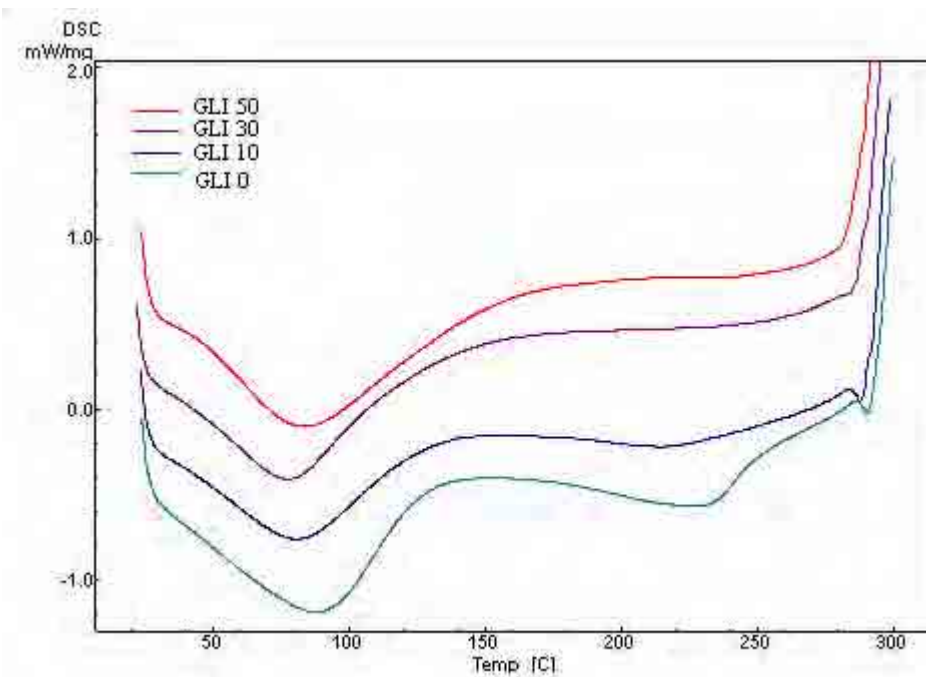


Figura 32 - Curva DSC de filmes de XIL (de baixo para cima) sem plastificante, com 10, 30 e 50 g de GLI/100 g de XIL.

Conforme observado nas figuras 31 e 32, com a adição de plastificantes houve um deslocamento para valores inferiores de temperatura. Exceto para as amostras que continham 50 g plastificante/100 g de XIL, em que houve um t nuo deslocamento para valores maiores. Este comportamento ocorreu tanto para o GLI quanto para o PPG.

Vanin e colaboradores (2005) avaliaram as propriedades térmicas de filmes a base de gelatina, utilizando, como plastificantes, GLI, ETG, PPG e DiETG. Exceto para os filmes plastificados com o ETG, a redução da resistência do filme poderia ser explicada pela diminuição dos valores de T_g provocada por plastificantes. Os menores valores de T_g foram observados com o DiETG, seguido por PPG e GLI, principalmente na menor concentração de plastificante. Isto indica que o tipo e a concentração de plastificante podem afetar a T_g .

A diminuição da T_g provocada pelo aumento da concentração dos plastificantes é um comportamento esperado e tem sido observada em vários experimentos (MALI et al., 2006; VANIN et al., 2005).

5.5.5 Estudos de permeabilidade ao vapor d' gua

A permeabilidade de filmes   uma propriedade que pode ser estudada por meio do método de determinação das taxas de transmissão de vapor.

O método mais utilizado para a determinação dessas taxas é o método do "pote" (SPROCKEL, 1990). Este método é assim conhecido, pois se utiliza de um aparelho simples, constituído por um corpo de plástico com tampa, t mbero denominado "célula de permeação". Na tampa do pote, é cortado um círculo com diâmetro determinado, o qual fornece uma área superficial conhecida. O filme   tampado de maneira que a área do

círculo seja a área de transmissão de vapor d'água. Dentro do recipiente, é adicionada uma massa de cloreto de cálcio anidro, o qual fornecerá uma umidade relativa de 0%. A célula de permeação é colocada dentro de um dessecador e junto com ela é colocado um outro recipiente contendo uma solução saturada de um sal, que proverá uma umidade relativa conhecida. A umidade relativa dentro da célula de permeação será sempre menor do que fora dela. Desse modo, a transmissão de vapor d'água pode ser determinada através do ganho de peso da célula de permeação (CARVALHO, 1996; MALI et al., 2006).

O coeficiente de permeabilidade é dependente das características físico-químicas dos polímeros, tais como peso molecular do polímero, hidrofobicidade, reticulação e cristalinidade (KFURI, 2003; CARVALHO, 1996), incluindo também composição do solvente utilizado no processo de formação do filme e presença de plastificantes (CARVALHO, 1996).

Com o objetivo de verificar a influência da concentração e do tipo de plastificante adicionado nas propriedades de permeação de filmes de XIL a 1% é que foram determinados valores de permeabilidade ao vapor d'água (P) para cada filme analisado.

Para efeito de comparação, os valores de P (em $\text{gPa}^{-1}\text{s}^{-1}\text{m}^{-1}$) dos filmes sem plastificante e com plastificantes estão apresentados na figura 33, quando o plastificante utilizado foi o PPG, e na figura 34, quando foi o GLI (GLI), nas condições de 75% de umidade relativa (UR).

A figura 35 apresenta uma comparação dos valores de P *versus* concentração de plastificante entre os filmes que continham GLI e PPG, nas mesmas condições de umidade.

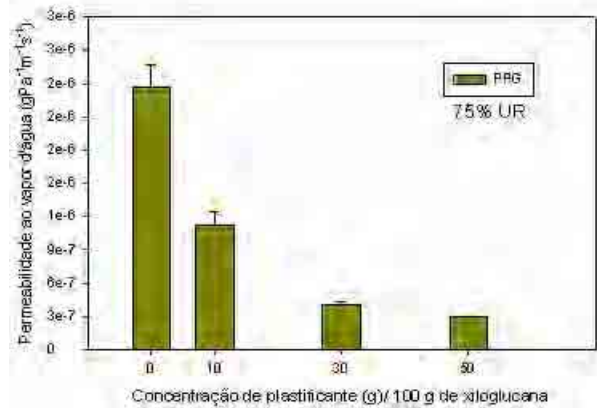


Figura 33 - P versus concentração de plastificante (propilenoglicol).

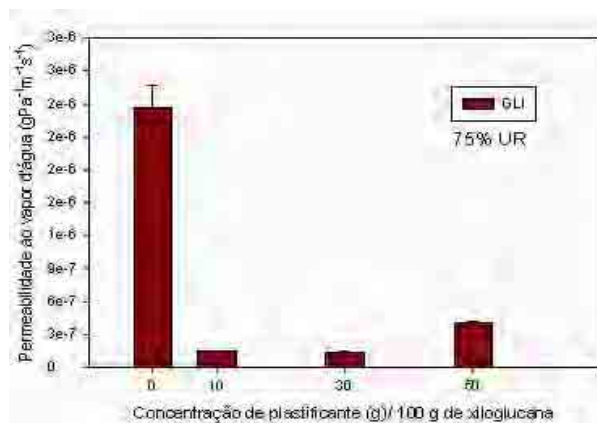


Figura 34 - P versus concentração de plastificante (glicerol).

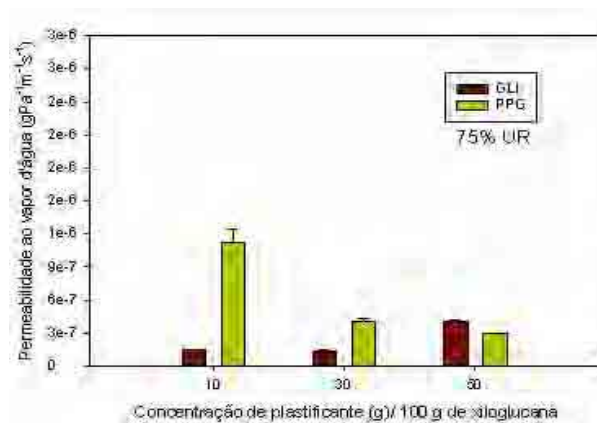


Figura 35 - P versus concentração de plastificante.

Observou-se que os valores de P diminuíram conforme houve aumento da concentração de PPG. Os filmes sem plastificantes apresentaram um maior valor dessa propriedade quando comparado aos filmes com PPG (figura 33).

Os filmes sem plastificantes apresentaram o maior valor de P. Os filmes com concentração de 50 g GLI/100 g de XIL apresentaram maior valor desta propriedade quando comparados aos filmes com concentração de 10 e 30 g GLI/100 g de XIL (figura 34). Isto pode ter ocorrido pois, ao se aumentar a concentração de GLI de 30 g/100 g de XIL para 50 g/100 g de XIL, os filmes podem ter se tornado menos densos e este fato, aliado ao caráter hidrofílico do GLI, que é favorável a adsorção e dessorção de moléculas de água, pode ter levado a maiores valores de P.

Mali e colaboradores (2006) obtiveram os maiores valores de P para filmes sem plastificantes. Segundo os autores, filmes a base de amido sem plastificante são filmes duros que apresentam poros ou rachaduras, os quais facilitam a permeação do vapor d'água. Entretanto, em filmes com concentração de 20 g GLI/100 g de amido, a formação dos poros foi evitada pois houve a formação de uma estrutura mais compacta (com oclusão dos poros), que resultou em menores valores de P. Porém, ao se aumentar a concentração de GLI de 20 para 40 g GLI/100 g de amido, houve um aumento dos valores de P, indicando um comportamento semelhante ao obtido neste trabalho.

Os valores de P dos filmes sem plastificante e com PPG e GLI como plastificantes estão apresentados nas figuras 36 e 37, respectivamente, todos nas condições de 32% de umidade relativa (UR). A comparação desses valores *versus* concentração de plastificante dos filmes que continham GLI e PPG, nas mesmas condições de umidade está na figura 38.

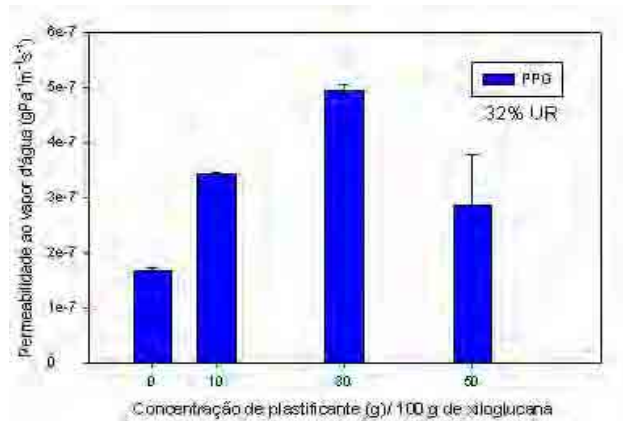


Figura 36 - P versus concentração de plastificante (propilenoglicol).



Figura 37 - P versus concentração de plastificante (glicerol).

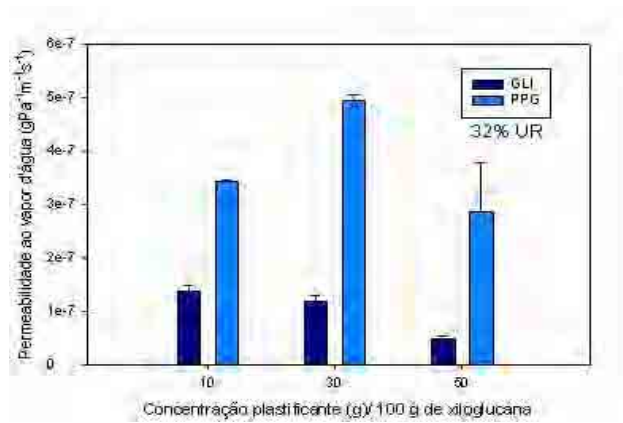


Figura 38 - P versus concentração de plastificante (glicerol).

Quando submetidos à UR de 32%, os filmes sem plastificantes apresentaram valores de P menores do que os filmes com as concentrações de 10, 30 e 50 g PPG/100 g de XIL (figura 36). Entretanto, ao se comparar com os filmes contendo GLI (figura 37), eles apresentaram valores maiores de P.

Também pode ser observado (figura 37) que, conforme houve aumento na concentração de GLI, houve também diminuição dos valores de P.

Ao comparar diferentes plastificantes na mesma concentração em filmes a base de gelatina, Vanin e colaboradores (2005) observaram que os valores de P foram similares para todos os filmes analisados. Porém, ao se aumentar a concentração desses compostos, verificaram uma diminuição nos valores de P, especialmente para filmes contendo DiETG, seguidos por GLI e por ETG.

Ao analisar a mesma concentração de plastificante utilizada, observa-se que os filmes contendo PPG apresentaram os maiores valores de P quando comparados aos filmes com GLI nas três concentrações utilizadas. Este comportamento ocorre nas duas condições de umidade relativa estudadas, 75 e 32% UR, e pode ser observado nas figuras 35 e 38, respectivamente.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que a extração aquosa foi um método viável para a obtenção do polissacarídeo. A etapa de centrifugação introduzida neste trabalho originou um extrato mais puro, o que foi confirmado através do baixo teor de proteínas obtido.

Usando-se a evaporação do solvente, foi possível preparar filmes com a XIL purificada, observando-se que as condições de concentração do polissacarídeo, tempo e temperatura de secagem e presença de plastificantes influenciaram o processo. Por exemplo, a aplicação de temperatura mais branda por um período de tempo mais longo foi mais adequada para a formação de filmes homogêneos enquanto que a adição de plastificantes à formulação prolongou o processo de evaporação do solvente dos filmes.

Os filmes de XIL sem plastificantes apresentaram-se totalmente livres, homogêneos, transparentes, sem rachaduras, com poucas bolhas de ar, leve rugosidade e superfície muito porosa.

Enquanto que os filmes preparados com 30 g de PPG/100 g de XIL foram aqueles que apresentaram superfície mais lisa e uniforme, mesmo quando comparados com os que continham GLI em sua composição.

Com relação aos testes mecânicos realizados, observou-se que a presença dos plastificantes modifica as propriedades mecânicas de filmes de XIL. Os valores de alongamento (%) são maiores em filmes com maiores concentrações de plastificante, tanto para filmes com PPG quanto para filmes com GLI. Observou-se um menor valor dessa propriedade mecânica em filmes que não continham plastificantes em sua composição. De

um modo geral, os valores de módulo elástico diminuíram conforme houve aumento na concentração de plastificantes, tanto para o PPG quanto para o GLI, com exceção dos filmes preparados com 10 g de PPG/100 g de XIL, que apresentaram o maior valor de módulo elástico, indicando que esses filmes são menos flexíveis. Os filmes sem plastificantes apresentam maiores valores de tensão de ruptura do que aqueles que continham GLI. Um comportamento oposto foi observado nos filmes com PPG. Os filmes com GLI apresentaram maiores valores de alongamento, menores valores de módulo elástico e de tensão de ruptura do que os filmes com PPG, indicando que estes últimos apresentam maior dureza e menor flexibilidade do que aqueles.

Os resultados obtidos a partir dos estudos de DSC sugerem que a concentração de plastificantes é um fator que afeta a T_g dos filmes. Filmes com concentrações de 30 g de plastificantes/100 g de XIL apresentaram os menores valores de T_g independente do tipo de plastificante.

Os valores de permeabilidade ao vapor d'água de filmes podem ser afetados de acordo com o tipo e a concentração de plastificantes. Nas duas condições de umidade relativa estudadas, 32 e 75% UR, e nas mesmas concentrações de plastificantes, observou-se que os filmes contendo PPG apresentaram maiores valores de P do que filmes com GLI. Este resultado sugere que os filmes com PPG possuem uma estrutura mais porosa e menos organizada do que os que continham GLI.

O conjunto dos resultados obtidos sugere que é possível preparar filmes com a XIL extraída de *Hymenaea courbaril* (jatobá) e vislumbra uma promissora utilização em sistemas de liberação controlada de fármacos. Para concretizar esta utilização, novos experimentos mais aplicados se fazem necessários, tanto para a otimização da obtenção de filmes como na transformação deles em formas farmacêuticas especializadas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I. F.; BAHIA, M. F. Reologia: interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. **Cosmet. & Toiletries** v.15, p. 96-100, 2003.

AUDIC, J.L.; CHAUFER, B. Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. **Eur. Polym. J.** v.41, p. 1934-1942, 2005.

BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J.M.; FELT, O.; GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **Eur. J. of Pharm. and Biopharm.** V.57, p. 35-52, 2004.

BIRNBAUM, D. T.; KOSMALA, J. D.; HENTHORN, D. B.; BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release of β -estradiol from PLGA microparticles: The effect of organic phase solvent on encapsulation and release. **J. of Control. Release** v.65, p.375-387, 2000.

BUSATO, A.P.; VARGAS-RECHIA, C.G.; REICHER, F. Xyloglucan from the leaves of *Hymenaea courbaril*. **Phytochemistry** v. 58, p. 525-531, 2001.

CAMPBELL, D.; WHITE, J.R. Scanning electron microscopy. In: **Polymer characterization: physical techniques**. Chapman & Hall London, 1989. p.242.

CANEVAROLO, S. V. **Ciências dos polímeros**. São Paulo: Artliber, 2002.

CARVALHO, J.S. **Caracterização de filmes de caseína e caseína acilada.** 1996. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras – recomendações silviculturais – potencialidade e uso da madeira.** Brasília:EMPRAPA, 1994. p. 49-57.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. **J. Agricult. and Food Chem.** v.45, p. 622-626, 1997.

DONHOWE, I.G.; FENNEMA, O. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. **J. Food Proces. and Preserv.** v. 17, p. 247-257, 1993.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. e SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUCLAIROIR, C.; ORECCHIONI, A.M.; DEPRAETERE, P.; OSTERSTOCK, F.; NAKACHE, E. Evaluation of gliadins nanoparticles as drug delivery systems: a study of three different drugs. **Int. J. of Pharm.** v.253, p. 133-144, 2003.

EVANGELISTA, R. C. Formas farmacêuticas sólidas de liberação controlada (prolongada). **Fármacos & Medicamentos**, n. 02, p.14-22, 2000.

GODBILLOT, L.; DOLE, P.; JOLY, C.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Analysis of water binding in starch plasticized films. **Food Chem.**, v.96, n.3, p. 380-386, 2006.

HARTEMINK, R.; VAN LAERE, K.M.J.; MERTENS, A.K.C.; ROMBOUITS, F.M. Fermentation of xyloglucan by intestinal bacteria. **Anaerobe** v.2, p. 223-230, 1996.

HARTREE, E. F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Anal. Biochem.** v.49, p. 422-427, 1972.

HOSNY, E.A.; ABDEL HADY, S.S.; NIAZY, E.M. Effect of film composition and various penetration enhancers concentrations on prazosin release from acrylic polymeric films. **Pharm.Acta Helv.** v.72, p. 247-254, 1998.

JAIN, R.A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. **Biomaterials** v.21, p. 2475-2490, 2000.

KFURI, C. R. **Revestimento gastro-resistente em comprimidos de diclofenaco sódico pelo processo de leite de jorro fluidizado**. 2003. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.

KO, J.A.; PARK, H.J.; HWANG, S.J.; PARK, J.B.; LEE, J.S. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. **Int. J. of Pharm.** v. 249, p.165-174, 2002.

KUMAR, M.N.V.R.; KUMAR, N. Polymeric controlled drug-delivery systems: perspective issues and opportunities. **Drug Dev. and Ind. Pharm.** v.27, n. 1, p. 1-30, 2001.

JONES, D.S.; MEDLICOTT, N.J. Casting solvent controlled release of chlorhexidine from ethylcellulose films prepared by solvent evaporation. **Int. J. of Pharm.** v.114, p. 257-261, 1995.

LEOPOLD, C.S. Coated dosage forms for colon specific drug delivery. **PSTT.** v.2, n.5, p.197-204, 1999.

LIMA, N.N.; REICHER, F.; CORRÊA, J.B.C; GANTER, J.L.M.S.; SIERAKOWSKI, M.R. Partial structure of a xyloglucan from the seeds of *Hymenaea courbaril* var. *Stilbocarpa* (jatobá). **Carbohydr. Res. Brazil** v.45, n. 1, p.22-26, 1993.

LORDIN, D.; VALLE, G.; COLONIA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydr. Polym.** v.27, p. 275-280, 1995.

LUCINDA-SILVA, R.M.; EVANGELISTA, R.C. Microspheres of alginate-chitosan containing isoniazid. **J. Microencapsul.**, v.20, n. 2, p. 145-152, 2003.

MACLEOD, G.S.; FELL, J.T.; COLLETT, J.H. An *in vitro* investigation into the potential for bimodal drug release from pectin/chitosan/ HPMC-coated tablets. **Int. J. of Pharm.** v. 188, p.11-18, 1999.

MAINARDES, R.M. **Preparação e caracterização de nanopartículas de ácido poli (D,L-láctico-CO-glicólico) contendo praziquantel.** 2004. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

MALI, S.; SAKANAKA, L.S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydr. Polym.** v. 60, p.283-289, 2005.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.; GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. **J. Food Eng.** v.75, n.4, p. 453-460, 2006.

MARTIN, S.; FREITAS, R.A.; OBAYASHI, E.; SIERAKOWSKI, M.R. Physico-chemical aspects of galactoxyloglucan from seeds of *Hymenaea courbaril* and its tetraborate complex. **Carbohydr. Polym.** v. 54, p.287-295, 2003.

MIYAZAKI, S.; SUISHA, F.; KAWASAKI, N.; SHIRAKAWA, M.; YAMATOYA, K.; ATTWOOD, D. Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for rectal drug delivery. **J. Control. Release** v. 56, p. 75-83, 1998.

MIYAZAKI, S.; KAWASAKI, N.; KUBO, W.; ENDO, K.; ATTWOOD, D. Comparison of in situ gelling formulations for the oral delivery of cimetidine. **Int. J. Pharm.** v. 220, p. 161-168, 2001a.

MIYAZAKI, S.; SUZUKI, S.; KAWASAKI, N.; ENDO, K.; TAKAHASHI, A.; ATTWOOD, D. In situ gelling xyloglucan formulations for sustained release ocular delivery of pilocarpine hydrochloride. **Int. J. Pharm.** v. 229, p. 29-36, 2001b.

MÜLLER, R.H.; MÄDER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. **Eur. J. Pharm.** v.50, p. 161-177, 2000.

OFORI-KWAKYE, K.; FELL, J.T. Biphasic drug release: the permeability of films containing pectin, chitosan and HPMC. **Int. J. Pharm.** v.226, p. 139-145, 2001.

PILLAI, O.; DHANIKULA, A.B.; PANCHAGNULA, R. Drug delivery: an odyssey of 100 years. **Curr. Opin. Chem. Biol.** V.5, p.439-446, 2001.

PERUGINI, P.; CONTI, G. B.; MODENA, T.; PAVANETTO, M.F. Periodontal delivery of ipriflavone: new chitosan/PLGA film delivery system for a lipophilic drug. **Int. J. Pharm.** v.252, p. 1-9, 2003.

REGIANE, A.M. Eletrólitos sólidos poliméricos à base de polissacarídeos: síntese e caracterização. 2000. Doutorado em Ciências na área de Físico-química. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

RINDLAV-WESTLING, A.; STADING M.; HERMANSSON, A.M.; GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydr. Polym.** v.36, p. 217-224, 1998.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C.. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 5 ed. Rio de Janeiro: LTC, 1994.

SIMAL, A.L. **Estrutura e propriedades dos polímeros.** São Carlos:EDUFSCar, 2002.

SHU, X.Z.; ZHU, K.J. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure. **Int. J. Pharm.** v.233, p.217-225, 2002.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: I. Estratégias gerais para aumento da biodisponibilidade oral. **Rev. Bras. Cienc. Farmac.** v.38, n.2, p. 125-140, 2002.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Rev. Bras. Cienc. Farmac.** v.39, n.1, p. 1-20, 2003.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: III. Aplicação à insulina. **Rev. Bras. Cienc. Farmac.** v.39, n.1, p. 21-40, 2003.

SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T.M.; KULKARNI, A.R.; RUDZINSKI, W.E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **J. Control. Release** v.70, p.1-20, 2001.

SOUZA LIMA, M.M. **Polissacarídeos nativos e modificados das sementes de *Hymenaea courbaril***. 1997. Mestrado em Bioquímica. Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SPROCKEL, O.L.; PRAPAITRAKUL, W.; SHIVANAND, P. Permeability of cellulose polymers: water vapour transmission rates. **J. Pharm. and Pharm.** v.42, p.152-157, 1990.

TAKAHASHI, A.; SUZUKI, S.; KAWASAKI, N.; KUBO, W.; MIYAZAKI, S.; LOEBENBERG, R.; BACHYNSKY, J.; ATTWOOD, D. Percutaneous absorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from in situ gelling xyloglucan formulations in rats. **Int. J. Pharm.** v.246, p.179-186, 2002.

TAPIA-BLÁCIDO, D.; SOBRAL, P.J.; MENEGALLI, F.C. Development and characterization of biofilms based on Amaranth flour (*Amaranthus caudatus*). **Journal of Food Eng.** v.67, p.215-223, 2005.

TICE, T.R.; COWSAR, D.R. Biodegradable controlled-release parenteral systems. **Pharmac. Tech.** p.27-34, 1984.

TIEN, C.L.; LACROIX, M.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M. N-acylated chitosan: hydrofobic matrices for controlled drug release. **J. Control. Release** v.93, p.1-13, 2003.

TOKUMOTO, M. S. **Evolução Estrutural durante a transição sol-gel em suspensões coloidais aquosas de SNO₂: abordagem reológica.** 1996. Mestrado em Físico-química. Departamento de Físico-Química, Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual, Araraquara.

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. **Inter. J. Pharm.** v.271, p.197-205, 2004.

VALENTA, C.; SCHULTZ, K. Influence of carrageenan on the rheology and skin permeation of microemulsion formulations. **J. Control. Release** v.95, p.257-265, 2004.

VANDAMME, TH. F.; LENOURRY, A.; CHARRUEAU, C.; CHAUMEIL, J. C. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. **Carbohydr. Polym.** v.48, p.219-231, 2002.

VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. **Food Hydrocol.** v.19, p.899-907, 2005.

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

WU, C.; MCGINITY, J.W. Non-traditional plasticization of polymeric films. **Int. J. Pharm.** v.177, p.15-27, 1999.