

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE MISTURAS DE AMIDO
RESISTENTE E PECTINA COMO ESTRATÉGIA PARA LIBERAÇÃO CÍCLON
ESPECÍFICA DE FÁRMACOS.**

ANDRÉIA BAGLIOTTI MENEGUIN

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. RAUL CESAR EVANGELISTA

CO-ORIENTADORA: Dra. BEATRIZ STRINGHETTI FERREIRA CURY

ARARAQUARA - SP

2012

Ficha Catalográfica

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

Meneguim, Andréia Bagliotti
M541o Obtenção e caracterização de filmes de misturas de amido resistente e
pectina como estratégia para liberação cólon específica de fármacos /
Andréia Bagliotti Meneguim. – Araraquara, 2012
99 f.

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

Orientador: Raul Cesar Evangelista

Coorientador: Beatriz Stringhetti Ferreira Cury

1. Filme de revestimento. 2. Amido resistente. 3. Pectina. 4. Liberação
cólon-específica. I. Evangelista, Raul Cesar, orient. II. Cury, Beatriz
Stringhetti Ferreira, coorient. III. Título.

CAPES: 40300005

Dedico esse trabalho ao meu orientador Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista e à minha co-orientadora Beatriz Stringhetti Ferreira Cury, os responsáveis por este desafio tão importante em minha vida e sem os quais nada teria sido possível.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu **Deus** por todas as coisas que vivi no decorrer desses anos. Agradeço pelos bons momentos e os difíceis também, fundamentais para meu crescimento pessoal e profissional... por ter colocado determinadas pessoas em meu caminho para que essa realização fosse possível. E, por estar sempre ao meu lado, dando-me força, fé, paciência e persistência, sem os quais, nada disso seria possível,

À minha família, em especial, meus pais **Edson e Vânia**, e minha irmã **Viviane**, os maiores entusiastas do meu sucesso, sempre me encorajando para aceitar e vencer meus desafios. Pelo exemplo de caráter, sabedoria e determinação e por tanto confiarem na minha capacidade para realização desse trabalho.

Em especial, agradeço meu querido orientador **Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista**, pessoa que tanto admiro e que se tornou um espelho nessa jornada, mostrando-me que é possível ser um ótimo profissional e uma pessoa Humana ao mesmo tempo. Muito obrigada pela confiança no meu trabalho e por todo conhecimento e amor transmitidos durante todos os dias da nossa convivência,

À querida **Dr.^a Beatriz Stringhetti Ferreira Cury**, minha co-orientadora, por toda sua dedicação/contribuição incontestável para realização desse trabalho e pela amizade e carinho tão especiais pra mim. Um exemplo de dedicação e amor à pesquisa,

Aos amigos do laboratório, os quais fizeram desta história em Araraquara um momento muito feliz em minha vida: **Gustavo Rossanesi, Flávio Campos, Ana Luiza Ribeiro, Charlene Kill, Priscileila Ferrari, Flávia Chiva, Lilian Barbassa, Fernanda Kolenyak, Giovana Calixto, Gisela Rolfsen**, obrigada pela amizade, companheirismo, ideias e contribuição nos experimentos e discussão de resultados,

Agradecimentos

Em especial, à amiga **Fernanda Carbinatto**, primeira pessoa com quem tive contato no laboratório, por ter me recebido, inicialmente, como sua estagiária e, depois, ter se tornada essa amiga tão verdadeira, crítica e com quem sempre posso contar. À amiga **Márcia Helena Oyafuso**, exemplo de coração doce e bondade, por todos momentos que passamos, pela força mútua e amizade incontestável. Ao amigo **Guilherme Alves Ferreira**, exemplo de alma livre, por ter me mostrado e guiado para um novo caminho da vida, o caminho da Espiritualidade, responsável por toda minha transformação íntima e pela pessoa que sou,

Ao **Instituto de Química da UNESP/Araraquara**, pela realização de algumas análises,

À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP)**, especialmente à técnica de Laboratório Margarete, pela ajuda dada na realização de meus experimentos,

À **Seção de Pós-graduação**, em especial à Cláudia, Daniela, Joyce e Márcia, pela atenção e apoio,

Ao **Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud**, pelo auxílio no exame geral de qualificação,

Ao **Prof. Dr. Newton Andreo Filho**, pela contribuição na defesa de dissertação,

À **Prof.^a Dr.^a Ana Dóris de Castro** pela amizade, confiança e auxílio no exame geral de qualificação e na defesa de dissertação, contribuindo para o aperfeiçoamento do trabalho,

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. João Aristeu da Rosa**, pela colaboração com o uso do analisador de imagens,

Ao **Prof. Dr. Rubens Monti**, pelo esclarecimento de dúvidas e sugestões de experimentos a serem realizados,

À **Prof.^a Dr.^a Vera L.B. Isaac**, pela colaboração com o uso do reômetro,

À **Prof.^a Dr.^a Maria Palmira Daflon Gremião**, pelas contribuições prestadas, pelo apoio e amizade sempre,

Ao **Prof. Dr. Marlus Chorilli**, pelas contribuições e amizade,

À **FAPESP**, pelo apoio financeiro na forma de Bolsa de Mestrado.

“Do meu telescópio, eu via Deus caminhar! A maravilhosa disposição e harmonia do universo só pode ter tido origem segundo o plano de um Ser que tudo sabe e tudo pode. Isso fica sendo a minha última e mais elevada descoberta.”

Isaac Newton

RESUMO

O revestimento de formas farmacêuticas sólidas com polissacarídeos degradáveis pela microflora colônica representa uma importante e confiável estratégia para obtenção de sistemas de liberação cólon-específica de fármacos. No entanto, a maioria dos polímeros naturais, quando utilizados isoladamente e sem uma modificação prévia, apresenta a desvantagem de ser altamente solúvel em água, o que compromete a proteção oferecida pelo revestimento. Tal efeito pode ser evitado através do emprego do amido resistente, o qual possui estrutura cristalina tridimensional mais ordenada e resistência à degradação enzimática nas porções superiores do TGI. Sua posterior associação com a pectina mostra-se interessante, uma vez que ela permanece como agregados de macromoléculas em meio ácido. Além disso, a associação polimérica resulta em características físico-químicas inexistentes nos polímeros isolados. Devido às pesquisas com amido resistente na área farmacêutica ainda ser muito restrita, um estudo detalhado nesse campo faz-se necessário. Filmes de revestimento foram obtidos através do método de evaporação do solvente, a partir de dispersões de alta amilose retrogradada e pectina, às quais foram adicionados os plastificantes glicerina ou propilenoglicol. A caracterização dos filmes foi realizada por análises de reologia, morfologia, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor d'água, intumescimento e difratometria de raios X. A avaliação do potencial como sistema de liberação cólon específica de fármacos foi realizada através da digestão enzimática *in vitro* dos filmes de revestimento em meios com diferentes valores de pH. O conjunto de resultados mostrou que a maioria das dispersões poliméricas apresenta comportamento de sistemas pouco organizados, com presença de comportamento predominantemente viscoso, uma vez que os módulos de perda foram superiores aos módulos de armazenamento. Dispersões contendo a mesma proporção de polímeros, na ausência de plastificantes, originaram sistemas mais organizados, cujas amostras apresentaram menor índice de intumescimento. Apesar de a pectina ter conferido uma maior flexibilidade aos filmes, verificou-se que aqueles obtidos com maior proporção de pectina (1:4) apresentaram superfície mais rugosa e que a adição de plastificantes, de maneira geral, tornou a superfície mais lisa e livre de poros. Consequentemente, os filmes plastificados exibiram melhor propriedade de barreira (menor PVA), assim como os filmes com menor concentração de polímero. As amostras mais concentradas apresentaram os maiores valores de dureza e deram origem a filmes mais compactados, espessos e quebradiços, o que resultou em propriedade mecânica deficiente, enquanto que os filmes obtidos a partir de dispersões menos concentradas foram mecanicamente mais resistentes. De acordo com as análises de DRX, houve alteração no padrão de difração após os processos de retrogradação e a cristalinidade foi mais evidente nos filmes sem plastificantes. As amostras 511G, 511P e 1014G apresentaram alto teor de amido resistente e, portanto, baixa taxa de digestão enzimática, demonstrando o potencial de aplicação desses filmes em sistemas de liberação cólon específica de fármacos.

ABSTRACT

Coating of solid dosage forms with polysaccharides that are degraded by colonic microflora represents an important and reliable strategy for obtaining colon specific delivery of drugs. However, most of natural polymers when used isolatedly or without a prior modification presents high water solubility, compromising the protection afforded by the coating. This effect can be avoided using resistant starch, which has more ordered three-dimensional crystalline structure and is resistant to enzymatic degradation in the upper portions of GI tract. The later association with pectin is interesting, since it remains as macromolecules aggregates in acidic medium. Furthermore, polymeric association results physical-chemical properties absent in the isolated polymers. Since resistant starch-related researches in the pharmaceutical field are still very limited, a detailed study in this field is required. Film coating was obtained by the method of solvent casting from retrograded high amylose and pectin dispersions, to which glycerol or propyleneglycol plasticizers were added. Films characterization was accomplished by rheology analysis, morphology, mechanical properties, water vapor permeability, swelling and X-ray diffraction. The potential as a colon specific drug delivery system was evaluated by performing *in vitro* enzymatic digestion of the coating films in media presenting different pH values. The result set showed that most of the polymeric dispersions has the behaviour of a poorly arranged system, with presence of a predominantly viscous behaviour, since the loss modules were superior to the storage modules. Dispersions containing the same proportion of polymers in the absence of plasticizers, originated more organized systems, whose samples showed less swelling index. Although the pectin have provided greater flexibility to the films, it was found that films obtained with a higher proportion of pectin (1:4) showed a rougher surface and the addition of plasticizers, generally, resulted in films with a smooth surface and apparently pore-free. Consequently, the plasticized films exhibited better barrier property (low WVP), as well as films with lower polymer concentration. The more concentrated samples showed higher hardness values and led to more compact, thick and brittle films, resulting in poor mechanical properties, whereas the films obtained from less concentrated dispersions were mechanically more resistant. According to XRD analysis, the diffraction pattern changed after the processes of retrogradation and cristallinity was more evident in the film without plasticizers. Samples 511G, 511P and 511W had high levels of resistant starch and, therefore, low rate of enzymatic digestion, indicating the potential application of these films for colon specific drug delivery systems.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Localização dos órgão do TGI.	21
Figura 2 – Diagrama esquemático da organização das camadas do TGI.	22
Figura 3 – Anatomia do intestino grosso.....	23
Figura 4 – Estruturas da amilose (a) e da amilopectina (b).	27
Figura 5 – Níveis estruturais do amido nos grânulos.	28
Figura 6 – Esquema da retrogradação da amilose.	29
Figura 7 – Principais órgãos que participam da digestão dos alimentos e as enzimas secretadas.....	31
Figura 8 – Representação esquemática da estrutura de pectinas.	32
Figura 9 – Dispositivo de Enslin para determinação de intumescimento.....	43
Figura 10 – Filme obtidos pelo método 1 (PARK et al., 2009).....	48
Figura 11 – Filme obtido pelo método 2 (DIMANTOV et al., 2004).	48
Figura 12 – Varredura de tensão das dispersões de alta amilose retrogradada e pectina.....	52
Figura 13 – Espectros mecânicos das dispersões de alta amilose retrogradada e pectina.....	53
Figura 14 – Fotomicrografias de diferentes dispersões de alta amilose/pectina sob luz normal e luz polarizada.....	57
Figura 15 – Fotomicrografias obtidas por MEV-FEG (10000x) das superfícies dos filmes.	62
Figura 16 – Fotomicrografias das seções transversais (1000x) dos filmes.	64
Figura 17 – Perfil de intumescimento em diferentes meios.	67
Figura 18 – Perfil da perda de massa de filmes de alta amilose retrogradada e pectina.	71
Figura 19 – Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) de filmes livres.	71
Figura 20 – Difratoogramas dos polímeros isolados.	73
Figura 21 – Difratoogramas das misturas físicas de alta amilose e pectina.	74
Figura 22 – Difratoogramas dos filmes de alta amilose retrograda e pectina sem plastificantes.	74

Figura 23 – Difratoogramas dos filmes de alta amilose retrograda e pectina plastificados.....	75
Figura 24 – Perfil de digestão dos filmes.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Segmentos e características do TGI.....	20
Tabela 2 – Estratégias abordadas na liberação cólon-específica de fármacos.	25
Tabela 3 – Filmes de alta amilose retrogradada e pectina, sob diferentes condições.....	39
Tabela 4 – Variáveis avaliadas na obtenção dos filmes.	47
Tabela 5 – Dureza das dispersões aquosas de alta amilose retrogradada e pectina.....	50
Tabela 6 – Valores G' , G'' e η^* do teste oscilatório para as dispersões de alta amilose retrogradada (tensão 0,5 Pa e frequência 1 Hz).....	55
Tabela 7 – Valores de regressão linear (r), da resistência do gel (S) e do expoente viscoelástico (n) das dispersões de alta amilose e pectina (tensão 5 Pa).....	56
Tabela 8 – Principais características macroscópicas dos filmes.....	59
Tabela 9 – Espessura dos filmes (média $\pm$ desvio padrão; $n=6$)	61
Tabela 10 – Propriedades mecânicas dos filmes.	65
Tabela 11 – Intumescimento (%) no equilíbrio (120 min) em diferentes meios.	69
Tabela 12 – Dissolução (%) dos filmes em meio ácido (2h) e tampão fosfato (3h).	79
Tabela 13 – Digestão enzimática (%) dos filmes ($n = 3$).	82

LISTA DE ABREVIATURAS

AA = Alta amilose

Ap = Alongamento durante a perfuração

AR = Amido resistente

AR-I = Amido resistente tipo 1

AR-II = Amido resistente tipo 2

AR-III = Amido resistente tipo 3

AR-IV = Amido resistente tipo 4

G_{Ac} = Grau de acetilação

GE = Grau de esterificação

E_p = Energia na perfuração por unidade de volume

GalA = Ácido galacturônico

HCl = Ácido clorídrico

HG = Homogalacturonana

MEV-FEG = Microscopia eletrônica de varredura com campo ampliado

P = Pectina

PVA = Permeabilidade ao vapor d'água

RG = Ramnogalacturonana

RG-I = Ramnogalacturonana tipo 1

RG-II = Ramnogalacturonana tipo 2

Rp = Resistência à perfuração

TGI = Trato gastrointestinal

541G = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 4:1, com glicerina

541P = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 4:1, com propilenoglicol

541S = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 4:1, sem plastificante

511G = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:1, com glicerina

511P = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:1, com propilenoglicol

511S = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:1, sem plastificante

514G = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:4, com glicerina

514P = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:4, com propilenoglicol

514S = 5% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:4, sem plastificante

1041G = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 4:1, com glicerina

1041P = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 4:1, com propilenoglicol

1041S = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 4:1, sem plastificante

1011G = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:1, com glicerina

1011P = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:1, com propilenoglicol

1011S = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:1, sem plastificante

1014G = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:4, com glicerina

1014P = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:4, com propilenoglicol

1014S = 10% de polímeros, alta amilose e pectina, proporção 1:4, sem plastificante

LISTA DE SÍMBOLOS

G' = módulo de armazenamento

G'' = módulo de perda

η^* = viscosidade complexa

γ = taxa de cisalhamento

τ = tensão de cisalhamento

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 Trato Gastrintestinal	20
2.1.1 Intestino Grosso.....	23
2.2 O cólon como órgão para absorção de fármacos	24
2.3 Amido	26
2.3.1 Amido Resistente.....	28
2.3.2 A digestão do amido nos humanos	30
2.4 Pectina.....	32
2.5 Plastificantes	34
3. OBJETIVOS	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 MATERIAL.....	37
4.1.1 Matérias-primas	37
4.1.2 Equipamentos	37
4.2 MÉTODOS	38
4.2.1 Retrogradação do amido associado à pectina	38
4.2.2 Determinação das condições para obtenção dos filmes.....	39
4.2.3 Análise de dureza das dispersões poliméricas filmógenas	40
4.2.4 Determinação do comportamento viscoelástico das dispersões filmógenas	40
4.2.5 Birrefringência das dispersões filmógenas	41
4.2.6 Exame macroscópico dos filmes	41
4.2.7 Determinação da espessura dos filmes	41
4.2.8 Microscopia eletrônica de varredura de campo ampliado de alta resolução (MEV-FEG)	41

4.2.9	Propriedades mecânicas dos filmes	42
4.2.10	Determinação do perfil de intumescimento	43
4.3	Análise de permeabilidade ao vapor d'água	44
4.4	Difração de raios X	44
4.5	Teste de dissolução dos filmes.....	45
4.6	Teste de digestão enzimática dos filmes.....	45
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5.1	Obtenção dos filmes.....	47
5.2	Análise de textura das dispersões	49
5.3	Determinação do comportamento viscoelástico das dispersões	51
5.4	Birrefringência das dispersões	57
5.5	Exame macroscópico dos filmes.....	59
5.6	Determinação da espessura dos filmes	60
5.6.1	Microscopia eletrônica de varredura de campo ampliado de alta resolução (MEV-FEG)	61
5.7	Propriedades mecânicas dos filmes	65
5.8	Determinação do perfil de intumescimento	66
5.9	Análise de permeabilidade ao vapor d'água (PVA)	70
5.10	Difração de raios-X.....	72
5.11	Teste de dissolução dos filmes.....	78
5.12	Teste de digestão enzimática dos filmes.....	80
6.	CONCLUSÕES.....	85
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

1. INTRODUÇÃO

Sistemas para liberação sítio-específica de fármacos mostram importantes vantagens biofarmacêuticas e farmacocinéticas, quando comparados aos sistemas convencionais, como redução da dose requerida, proteção do fármaco contra degradação, manutenção da biodisponibilidade, redução dos efeitos colaterais e otimização dos efeitos farmacológicos (MAIOR et al., 2008; SINHA; KUMRIA, 2003).

O cólon vem sendo extensivamente explorado como sítio de liberação de fármacos, tanto para o tratamento de patologias locais como sistêmicas, uma vez que oferece um ambiente mais ameno que as porções superiores do TGI, com pH mais próximo à neutralidade, reduzida atividade proteolítica e tempo de trânsito mais prolongado (MCCONNELL; TYSKA, 2007; CHOURASIA; JAIN, 2003; LIU et al., 2003; SINHA; KUMRIA, 2003).

Diferentes estratégias vêm sendo exploradas para a obtenção de sistemas de liberação cólon-específica, como revestimentos que sofrem degradação pH e/ou tempo dependentes, sistemas sensíveis à pressão luminal, síntese de pró-fármacos, sistemas osmóticos e sistemas degradáveis pela microflora colônica (MAIOR et al., 2008, SINHA; KUMRIA, 2001, KINGET et al., 1998).

Considerando a grande variabilidade do tempo de trânsito, bem como dos valores de pH ao longo do TGI, a atividade enzimática específica do meio colônico representa uma estratégia confiável em termos de liberação cólon-específica de fármacos e vem ganhando grande destaque nessa área de pesquisa (MAIOR et al., 2008; FADDA; BASIT, 2005).

O amido é um polissacarídeo amplamente empregado em formulações de medicamentos, alimentos e cosméticos devido à sua atoxicidade e baixo custo. A partir da década de 1980, trabalhos de Englyst e Cummings (1987) iniciaram as pesquisas a respeito das frações do amido, assim como suas classificações, propriedades físico-químicas e susceptibilidade à hidrólise enzimática.

Dessa forma, em função de sua velocidade de digestão *in vitro* na presença de amilase pancreática e amiloglicosidase a 37°C o amido foi classificado como rapidamente digerível (conversão em 20 minutos), lentamente digerível (conversão em 120 minutos) e amido resistente – AR (resistente à ação das enzimas digestivas) (Englyst et al., 1992).

Embora resistente à ação enzimática, o AR pode ser fermentado e desintegrado pela microflora colônica (HARALAMPU, 2000; THOMPSON, 2000), o que o torna um potencial candidato para a obtenção de sistemas de liberação cólon-específica de fármacos.

Dentre as diferentes classes de amido resistente, destaca-se o AR tipo 3, que é obtido através da retrogradação do amido, processo no qual o amido gelatinizado, que se encontra no estado amorfo, passa para um estado mais cristalino ou ordenado durante o armazenamento (CHUNG et al., 2006; THOMPSON, 2000; YUAN et al., 1993).

A alta amilose vem sendo considerada o material preferido para obtenção de produtos com elevado teor de AR, através da retrogradação por tratamento hidrotérmico (HTOON et al., 2009; DIMANTOV et al., 2003; FISHMAN et al., 1996), pois a amilose é responsável pela formação de uma matriz amorfa onde os cristalitos formados ficam embebidos e, assim, protegidos da rápida exposição às enzimas digestivas (CUI; OATES, 1997).

A pectina é um polissacarídeo amplamente empregado como excipiente na obtenção de sistemas de liberação cólon-específica, já que em meio ácido permanece como agregados de macromoléculas, além de ser resistente a proteases e amilases presentes nas porções superiores do TGI, sendo, no entanto, digerida pela microflora colônica (VANDAME et al., 2002; SINHA; KUMRIA, 2001). O grande desafio no uso da pectina na obtenção de filmes de revestimento destinados à obtenção de sistemas para liberação colônica de fármacos é reduzir sua elevada solubilidade em meio aquoso, que favorece a liberação prematura e muitas vezes indesejável do fármaco (LIU et al., 2007).

Filmes de revestimento de alta amilose e etilcelulose mostraram-se resistentes aos fluidos gástrico e intestinal simulados por 12h, mas permitiram a liberação do fármaco em mistura de inoculado de bactérias fecais (WILSON; BASIT, 2005; MILOJEVIC et al., 1996). Dimantov e colaboradores (2004) avaliaram o desempenho de filmes para liberação colônica constituídos de alta amilose enriquecida com 20% de AR em associação com a pectina e observaram que o aumento da proporção de alta amilose promoveu a redução das taxas de liberação em meios gástrico e entérico simulados, além de favorecer a resistência enzimática.

Filmes poliméricos são extensivamente usados na indústria farmacêutica, uma vez que representam uma barreira estrutural, que pode permitir o ajuste da cinética de

liberação do fármaco às necessidades farmacocinéticas delineadas. Assim, os filmes vêm sendo empregados tanto na preparação de formas farmacêuticas sólidas revestidas (comprimidos, cápsulas, *pellets*, micropartículas), como na obtenção de sistemas mais sofisticados de liberação controlada, visando tanto o controle da taxa de liberação do agente ativo como seu direcionamento para um órgão ou tecido específico (LUO et al., 2008).

A associação de polímeros com características físico-químicas diferentes em uma mesma formulação pode favorecer características filmógenas inexistentes ou deficientes nos polímeros isolados, como, por exemplo, uma eventual baixa resistência mecânica (SIEPMANN et al., 2008).

Portanto, a obtenção e caracterização de filmes a partir de misturas de polímeros constituem importante objeto de estudo para a avaliação da potencialidade de novos materiais a serem usados no delineamento de sistemas de liberação controlada de fármacos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Trato Gastrintestinal

A principal função do trato gastrintestinal (TGI), além da digestão dos alimentos, é a absorção de água e nutrientes. Cada porção do TGI é responsável por uma função e apresenta condições diferentes, como valores distintos de pH, tempo de trânsito e área de superfície (Tabela 1) (KAPP, 2007).

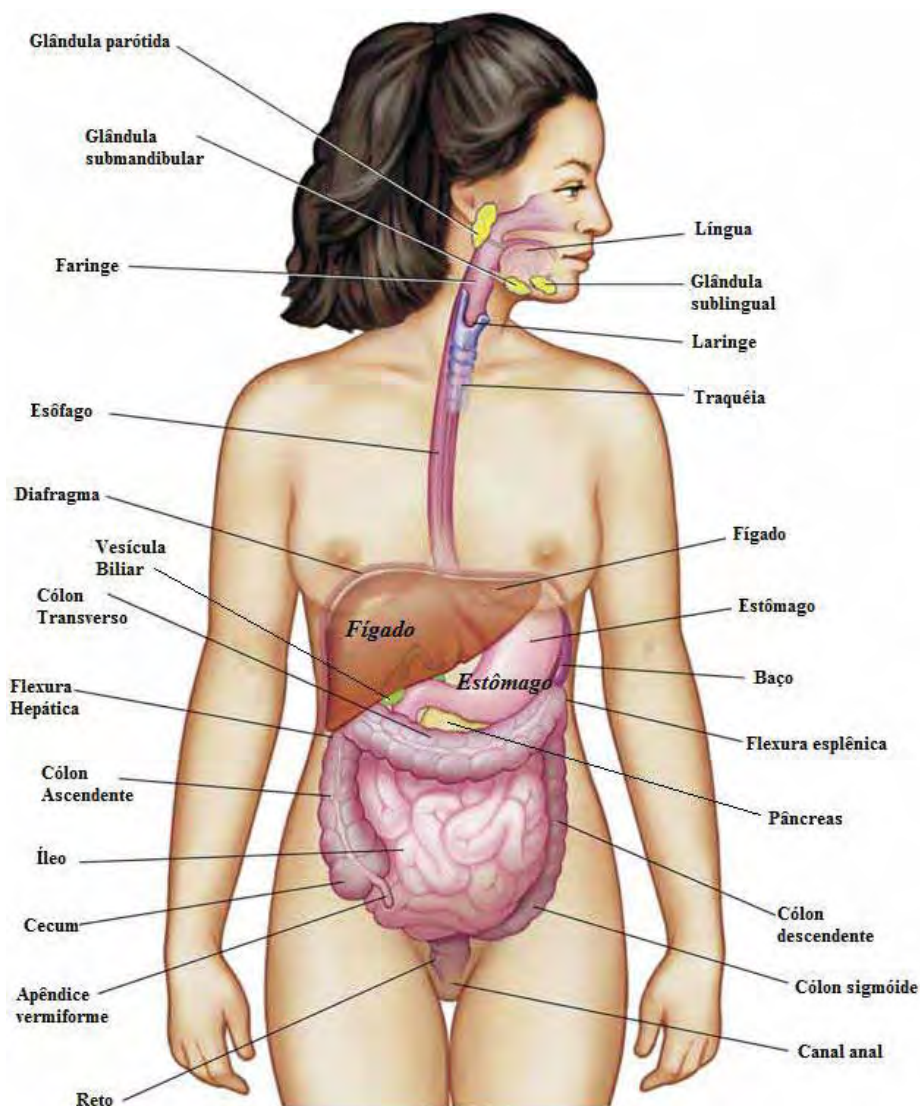
Tabela 1 – Segmentos e características do TGI

Segmento do TGI	Função	Secreções	pH	Tempo de trânsito
Cavidade oral	Mastigação	Saliva	~ 7	Curto
Esôfago	Condução ao estômago	Muco	5-6	Curto
Estômago	Armazenamento, mistura e digestão dos alimentos, principalmente as proteínas	Suco gástrico (pepsina, tripsina, ácido clorídrico, sais inorgânicos)	<3	30min-2h
Intestino Delgado	Digestão e absorção	Suco intestinal, (maltase, sucrase, lactase, aminopeptidase, dextrinase e nuclease)	6-8	3-4 h
Intestino Grosso	Absorção de água e eletrólitos	Muco alcalino, ácidos graxos de cadeias curtas, íons H ⁺ , glucosidades, polissacaridases, esterases e amidases	5-8	22-36 h

Adaptado de: KAPP, 2007

O TGI é composto por cavidade oral, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso, reto, canal anal e ânus (Figura 1). Vários fatores influenciam a absorção de substâncias no TGI, como a área de superfície disponível e o tempo de contato da substância a ser absorvida com o epitélio absorvivo, sendo esse tempo de contato dependente da taxa de propulsão e conhecido como tempo de trânsito (DESESSO; WILLIAMS, 2008).

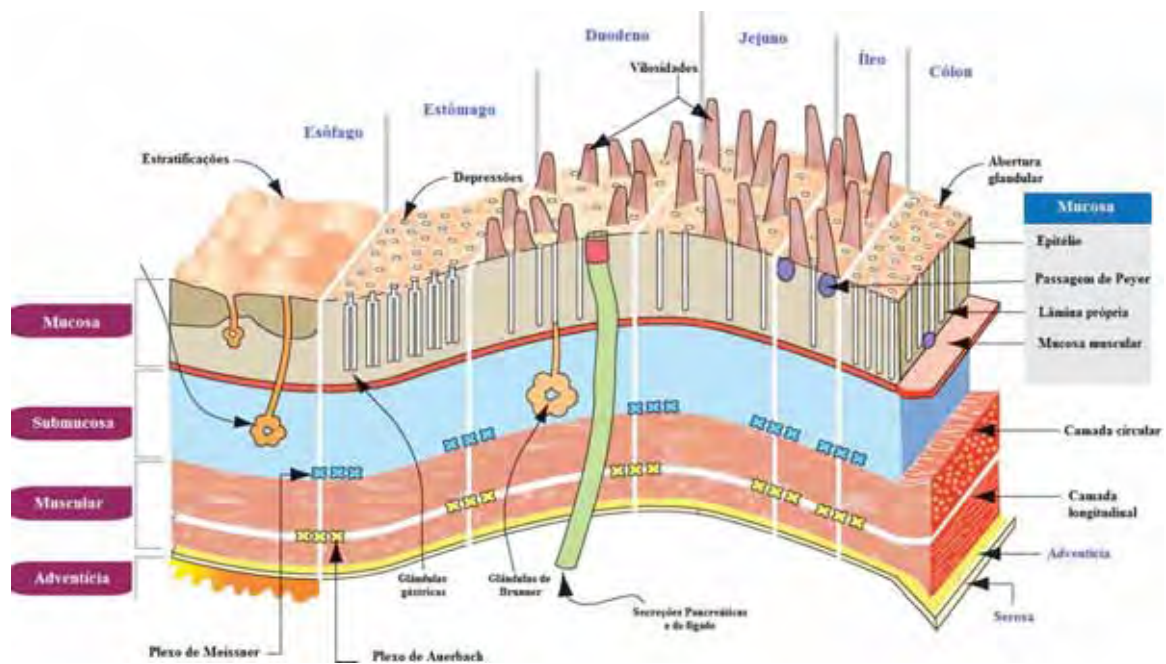
Figura 1 – Localização dos órgãos do TGI.



Adaptado de: REED; WICKHAM, 2009.

O TGI, do esôfago ao ânus, tem a estrutura parecida com a de um tubo, que é composto dos seguintes componentes de dentro pra fora (Figura 2): *lúmen*, por onde o material ingerido passa; *mucosa*, que juntamente com o muco e outras substâncias forma a primeira linha de defesa contra agentes tóxicos; *lâmina própria*, que é vascularizada; *mucosa muscular*, camada fina de músculo liso; *submucosa*, outra camada vascularizada; *externa muscularis*, composta por duas camadas de músculo liso, sendo uma camada circular e outra longitudinal; *serosa* ou *adventícia* (SAKAMOTO, 2010).

Figura 2 – Diagrama esquemático da organização das camadas do TGI.



Adaptado de: SAKAMOTO, 2010.

O esôfago, órgão que dá início ao TGI, faz a conexão entre a faringe e a extremidade superior do estômago. Tem aproximadamente 25 cm de comprimento e sua função é completar a deglutição. Apresenta dois esfíncteres, sendo um superior, que previne a entrada de ar, e um inferior, que serve como barreira entre esôfago e estômago (REED; WICKHAM, 2009).

O estômago, de pH ácido ($\text{pH} < 3$) e capacidade de aproximadamente 1 L, é um órgão em forma de “J” e encontra-se abaixo do diafragma. É uma área de estoque temporário de alimentos, no qual serão quebrados tanto química quanto fisicamente e misturados com água e suco gástrico, momento em que esse produto passa a ser chamado de quimo, para posterior liberação no intestino delgado (HUETHER, 2006).

As células parietais do estômago produzem suco gástrico, responsável pela morte de bactérias e desnaturação de proteínas, além da absorção de vitamina B12. Os conteúdos altamente ácidos presentes no estômago ativam o pepsinogênio, que é convertido em pepsina, uma enzima proteolítica que compõe o suco gástrico. O fluido estomacal também possui muco, para proteção do estômago contra a alta acidez (GRIFFIN-SOBEI, 2007; JOHNSON, 2007; HUETHER, 2006).

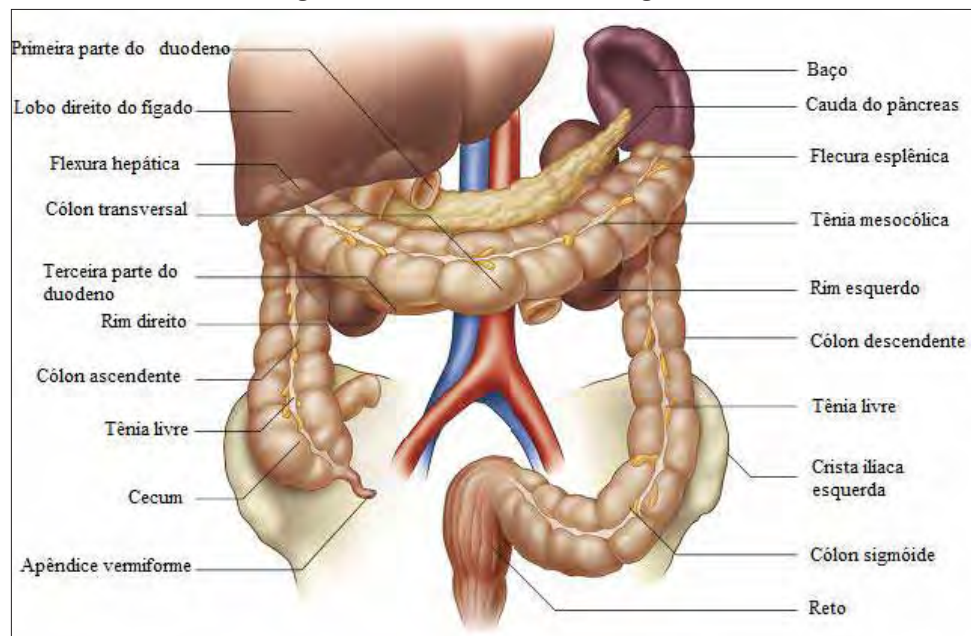
O intestino delgado é composto por duodeno, jejuno e íleo (CARROLL, 2007; HUETHER, 2006; THIBODEAU; PATTON, 2002). Com extensão de

aproximadamente 7 m e área total de 120m², o pH do intestino delgado torna-se mais básico à medida em que se distancia do estômago, variando entre pH 6-8. O tempo de trânsito é de aproximadamente 3-4 horas (KAPP, 2007). A maior parte da absorção de nutrientes ocorre nesse órgão, devido à presença das vilosidades intestinais que aumentam a superfície luminal, sendo que cada vilosidade apresenta uma artéria, uma veia e um canal linfático, para o transporte dos nutrientes. A válvula íleo-cecal é o local de término do intestino delgado e ela controla o fluxo de material digerido para o intestino grosso (JOHNSON, 2007; ALCAMO, 1996).

2.1.1 Intestino Grosso

O intestino grosso é a porção terminal do TGI e pode ser dividido em ceco e apêndice, cólon ascendente, cólon transversal, cólon descendente, cólon sigmóide, reto e ânus, tendo uma extensão de aproximadamente 1,5 m, diâmetro de 6,5 cm e pH de 5-8 (Figura 3) (ELLIS, 2011; FREIRE et al., 2006).

Figura 3 – Anatomia do intestino grosso.



Fonte: ELLIS, 2011

É constituído por um tubo cilíndrico revestido por uma mucosa rósea úmida e seu espaço interior é chamado de lúmen. Apesar de não apresentar vilosidades, as pregas semilunares aumentam a superfície intestinal do cólon para aproximadamente

0,13m². Tanto a fisiologia colônica quanto as propriedades físicas do conteúdo luminal do cólon mudam ao longo de sua extensão (SARASIJA; HOTA, 2002). O cólon é abastecido com sangue através das artérias mesentéricas e é drenado pela circulação porta-hepática, pelas veias mesentéricas e circulação linfática, sendo essa última a que apresenta menor eficiência (MARONI et al., 2012).

As principais funções do cólon envolvem a transformação do conteúdo intestinal em fezes, através da absorção de água e eletrólitos, formação de um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos, expulsão das fezes em tempo adequado e secreção de potássio e bicarbonato. O movimento responsável pela retenção fecal ocorre num sentido distal-proximal e é conhecido como antiperistaltismo (MARONI et al., 2012; SICCARDI et al., 2005; CUMMINGS; MACFARLANE, 1997).

O cólon humano é um ambiente que contém mais de 400 espécies diferentes de bactérias, sendo essas na sua maioria, anaeróbicas, com uma população de 10¹¹ a 10¹² UFC. Bacteróides, Bifidobacterium, Eubacterium compõem cerca de 60% da flora total. Essas bactérias produzem um amplo espectro de enzimas que têm atividade redutora (nitroreduases e azoreduases) e hidrolítica (glicosidases) e estão envolvidas em muitos processos bioquímicos, como na fermentação de carboidratos e proteínas que escaparam da digestão no estômago e intestino delgado (YANG, 2008).

2.2 O cólon como órgão para absorção de fármacos

O cólon vem sendo extensivamente explorado como sítio de liberação de fármacos, tanto para o tratamento de patologias locais como sistêmicas, uma vez que oferece um ambiente mais ameno que as porções superiores do TGI, apresentando pH mais próximo à neutralidade, reduzida atividade proteolítica e tempo de trânsito mais prolongado (MCCONNELL; TYSKA, 2007; CHOURASIA; JAIN, 2003; LIU et al., 2007; SINHA; KUMRIA, 2003).

Entre as categorias de fármacos que são direcionadas para esse sítio estão os fármacos que são instáveis no TGI superior e/ou não são absorvidos nesse local, os fármacos utilizados para o tratamento de patologias colônicas e fármacos para os quais um prolongamento na absorção faz-se necessário do ponto de vista terapêutico (PINTO, 2010; SINHA; KUMRIA, 2003).

A absorção colônica de fármacos ocorre principalmente no cólon ascendente, devido ao conteúdo intestinal nessa porção não ser tão viscoso (FREIRE et al., 2006), enquanto que a absorção torna-se limitada no cólon transversal e descendente, devido à presença de gases e quantidade limitada de água e à consolidação de material fecal, os quais inibem a dissolução e absorção do fármaco, respectivamente (WILSON, 2010).

Diferentes estratégias são utilizadas para a vetorização de fármacos para o cólon e, geralmente, se baseiam em sistemas dependentes do pH e do tempo de trânsito, na síntese de pró-fármacos e nos polímeros biodegradáveis pela microflora colônica (Tabela 2) (KENAWY et al., 2011).

Tabela 2 – Estratégias abordadas na liberação cólon-específica de fármacos.

Estratégia	Liberação do fármaco	Observação
Sistemas pH-dependentes	Combinação de polímeros com solubilidade dependente do pH	Sítio-especificidade imprecisa devido às variações inter-individual e similaridade de pH entre intestino delgado e cólon
Sistemas tempo-dependentes	Solubilidade dos polímeros são dependentes do tempo de esvaziamento gástrico	Sítio-especificidade imprecisa devido à elevada variação dos tempos de retenção gástrica
Pró-fármacos	Clivagem das ligações entre fármaco e transportador via redução e hidrólise através das enzimas colônicas	Apresenta sítio-especificidade
Sistemas ativados pela microflora colônica	Fermentação de polissacarídeos pelas bactérias do cólon	Estratégia promissora devido à habilidade de alguns polissacarídeos serem somente degradados no cólon.

Adaptado de: YANG et al., 2002.

Os sistemas com revestimento entérico são os mais comumente usados, devido à sua habilidade em promover liberação sustentada de fármacos e protegê-los da degradação ácida no TGI. No entanto, apresentam como desvantagem a possibilidade de liberar uma quantidade significativa de fármaco no intestino delgado antes que o sistema alcance o cólon. Isso se deve ao fato de que a diferença de pH entre o intestino delgado e o intestino grosso não ser muito pronunciada (KHUNAWATTANAKUL et al., 2011; SINHA, KUMRIA, 2001).

A vasta microflora presente no cólon produz um grande número de enzimas e fornece energia necessária para a fermentação de diversos tipos de substratos que

escaparam da digestão nas porções superiores do TGI. Dessa maneira, uma forma farmacêutica pode servir como substrato quando presente no cólon, levando à redução ou otimização da biodisponibilidade sistêmica do fármaco (Tabela 3) (FREIRE et al., 2006).

2.3 Amido

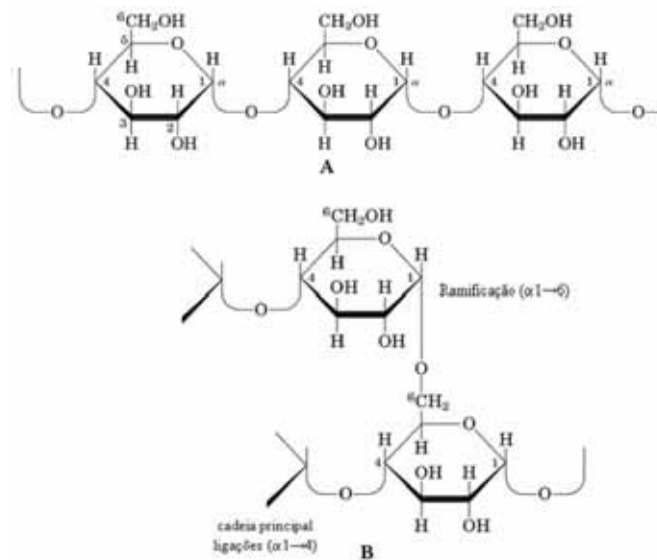
Os polissacarídeos naturais são utilizados como matérias-primas de produtos farmacêuticos para diversas aplicações e têm sido objeto de intensa pesquisa, devido à atoxicidade, grande disponibilidade e baixo custo, além de serem metabolizados pela microflora colônica (RANA et al., 2011).

A utilização do amido e seus derivados tem sido muito explorada na indústria farmacêutica, principalmente na obtenção de filmes de revestimento, microesferas, comprimidos e cápsulas, devido à biocompatibilidade e biodegradabilidade (RASHID et al., 2011). No entanto, o amido nativo muitas vezes não apresenta propriedades físicas e químicas adequadas para aplicações específicas e, por isso, são modificados por processos físicos, químicos ou enzimáticos (ZAVAREZE et al., 2011).

O amido é abundante nos grãos de cereais, incluindo arroz, trigo, milho, cevada e sorgo, bem como nos tubérculos. Sua estrutura e empacotamento no interior dos grânulos variam amplamente entre as espécies. Os diversos tipos de amido diferem em seus conteúdos de amilose, amilopectina, proteína e lipídio; assim, o amido de arroz pode ser ceroso e não-ceroso, enquanto o de milho pode conter altos ou baixos conteúdos de amilose (DONA et al., 2010).

O amido ocorre em muitos tecidos vegetais na forma de grânulos, de 1 a 100 μm de diâmetro, sendo composto por amilose e amilopectina. A amilose é um poliglicano de cadeia linear apresentando 1000 ligações glicosídicas α -1,4. Já a amilopectina é um glicano ramificado, composto de aproximadamente 4000 unidades de glicose com ramificações ocorrendo como ligações α -1,6 (figura 4). O amido fica compactado dentro do grânulo e essa estrutura limita o acesso das enzimas digestivas (HARALAMPU, 2000).

Figura 4 – Estruturas da amilose (a) e da amilopectina (b).



No processo conhecido como gelatinização, os grânulos de amido são rompidos devido ao aquecimento na presença de água, tornando a molécula acessível à digestão enzimática. Sob resfriamento, o amido sofre o processo de retrogradação, no qual sua estrutura sofre uma reassociação, tornando-se compactada, o que é estabilizado por ligações de hidrogênio (HARALAMPU, 2000).

A estrutura do amido no grânulo pode ser classificada em 6 níveis (figura 5) (BALL et al., 1996):

Nível 1: Ramificações individuais – distribuição de cadeia no sentido do comprimento das ramificações em uma amostra, sendo da ordem de 1nm;

Nível 2: Moléculas de amido inteiras - estrutura das moléculas ramificadas;

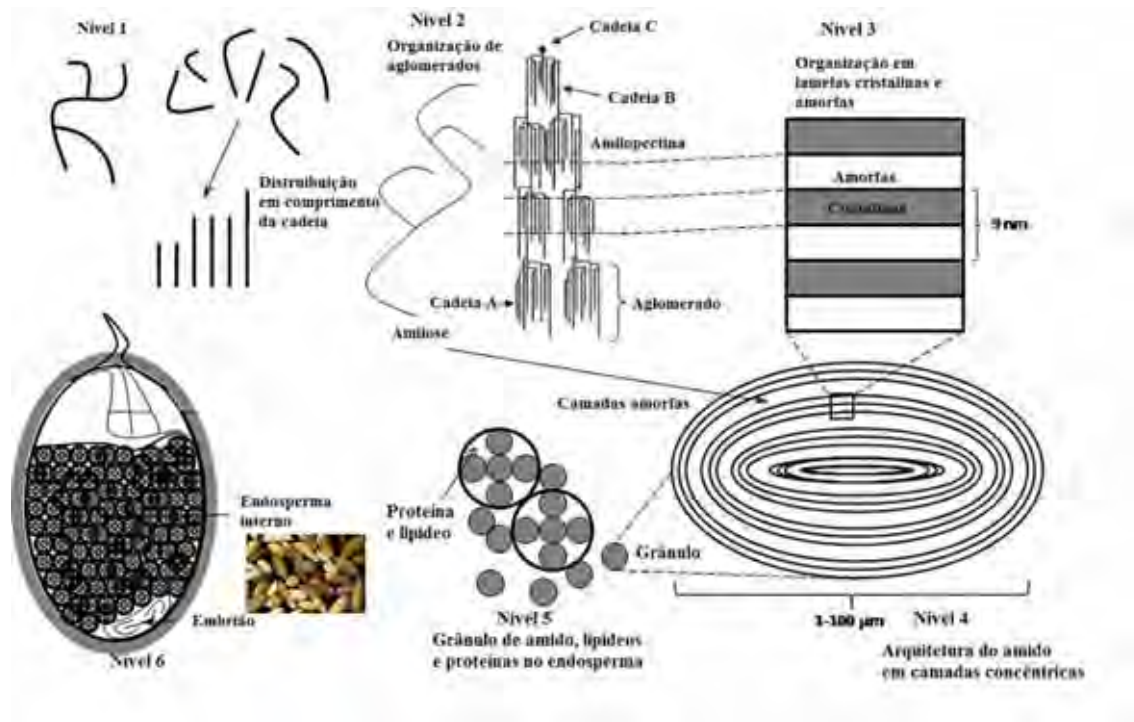
Nível 3: Estrutura lamelar - no amido nativo, o empacotamento das cadeias de glicano permite seu entrelaçamento para formação de duplas hélices, as quais criam regiões cristalinas, compostas por aglomerados de porções mais curtas de ramificações de amilopectina, enquanto que a amilose fica mais restrita às regiões amorfas;

Nível 4: Grânulos - as estruturas lamelares ocupam a parte mais interna da arquitetura dos grânulos de amido, organizando-se em camadas de crescimento concêntricas de espessura de 100-400 nm, que são separadas por regiões de estruturas amorfas, sendo que as lamelas cristalinas e amorfas se alternam radialmente;

Nível 5: Endosperma – compreende os grânulos de amido, juntamente com proteínas e lipídios.

Nível 6: Grão inteiro – nível final, de 1 mm de tamanho, incluindo estruturas mais ordenadas.

Figura 5 – Níveis estruturais do amido nos grânulos.



Adaptado de DONA et al., 2010.

2.3.1 Amido Resistente

O amido resistente (AR) é a fração do amido que escapa da digestão no intestino delgado, sendo fermentado pelas enzimas bacterianas em ácidos graxos de cadeias curtas ao atingir o cólon (HTOON et al., 2010). Baseado na suscetibilidade à digestão enzimática e no tempo de conversão em glicose, o amido pode ser classificado em rapidamente digerível (conversão em 20 minutos), lentamente digerível (conversão em 120 minutos) e amido resistente (resistente à ação das enzimas digestivas) (SHRESTHA et al., 2010; ENGLYST et al., 1992), o qual pode ser fermentado e desintegrado pela microflora colônica (HARALAMPU, 2000; THOMPSON, 2000), propriedade fundamental para sua aplicação em sistemas de liberação cólon-específica de fármacos.

O AR pode ser dividido em 4 subtipos de acordo com a natureza do amido, sendo o AR tipo 1 fisicamente inacessível à digestão por seu aprisionamento na matriz,

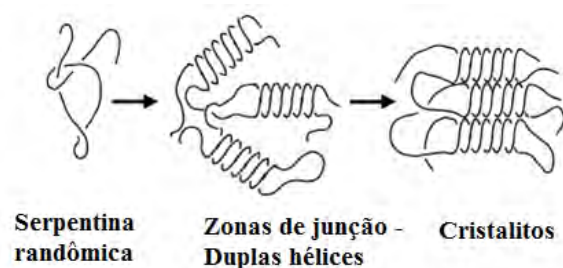
o AR tipo 2 é o amido não gelatinizado, enquanto que o AR tipo 3 é o amido retrogradado e o AR tipo 4 o amido quimicamente modificado (APARICIO-SAGUILÁN et al., 2007; HARALAMPU, 2000).

O amido retrogradado (AR tipo 3) tem despertado maior interesse, devido a sua estabilidade térmica e baixa solubilidade, características essas que tornam o AR-3 um promissor material de revestimento na obtenção de sistemas de liberação cólon-específica (DIMANTOV et al., 2004; THOMPSON, 2000; FISHMAN et al., 1996; EERLINGEN et al., 1993a; EERLINGEN et al., 1993b; SIEVERT; POMENRAZ, 1989).

O AR tipo 3 é obtido através da combinação dos processos de *gelatinização*, na qual o aquecimento do amido em excesso de água leva ao intumescimento seguido de rompimento da estrutura granular (KAWAI et al., 2012), e *retrogradação*, que é a recristalização lenta dos componentes do amido, através do armazenamento e resfriamento (ZHANG et al., 2011; DONA et al., 2010; APARICIO-SAGUILÁN et al., 2007) e que ocorre pela formação de ligações de hidrogênio e forças de van der Waals inter e intramoleculares, no intuito de se alcançar uma forma metaestável de mais baixa energia livre (LIU et al., 2007; CHUNG et al., 2006; TAKO, 1996; YUAN et al., 1993).

Durante a formação do amido resistente tipo 3, o grânulo de amido sofre completa hidratação e a amilose é lixiviada dos grânulos da solução como um polímero aleatório enovelado. Sob resfriamento, as cadeias poliméricas se reassociam em uma estrutura cristalina mais forte, na forma de duplas hélices (Figura 6) (SHI; GAO, 2011; HARALAMPU, 2000).

Figura 6 – Esquema da retrogradação da amilose.



Adaptado de: HARALAMPU, 2000.

O grau de retrogradação do amido e as propriedades dos cristalitos formados são influenciados não somente pelo tempo de armazenamento e temperatura, mas também pela concentração inicial do amido (LIU; THOMPSON, 1998; JANG; PYUN, 1997) e

pela sua origem botânica, que definirá a razão molecular amilose:amilopectina e as suas estruturas correspondentes (ELFSTRAND et al., 2004; VANDEPUTTE et al., 2003; SASAKI et al., 2000).

A alta amilose é de particular interesse na avaliação da resistência à digestão do amido, uma vez que através da retrogradação ela origina produtos com elevado teor de AR (HTOON et al., 2009; WALTER et al., 2005; DIMANTOV et al., 2003), por formar uma matriz amorfa onde os cristalitos ficam embebidos e, assim, protegidos da exposição às enzimas digestivas (CUI; OATES, 1997).

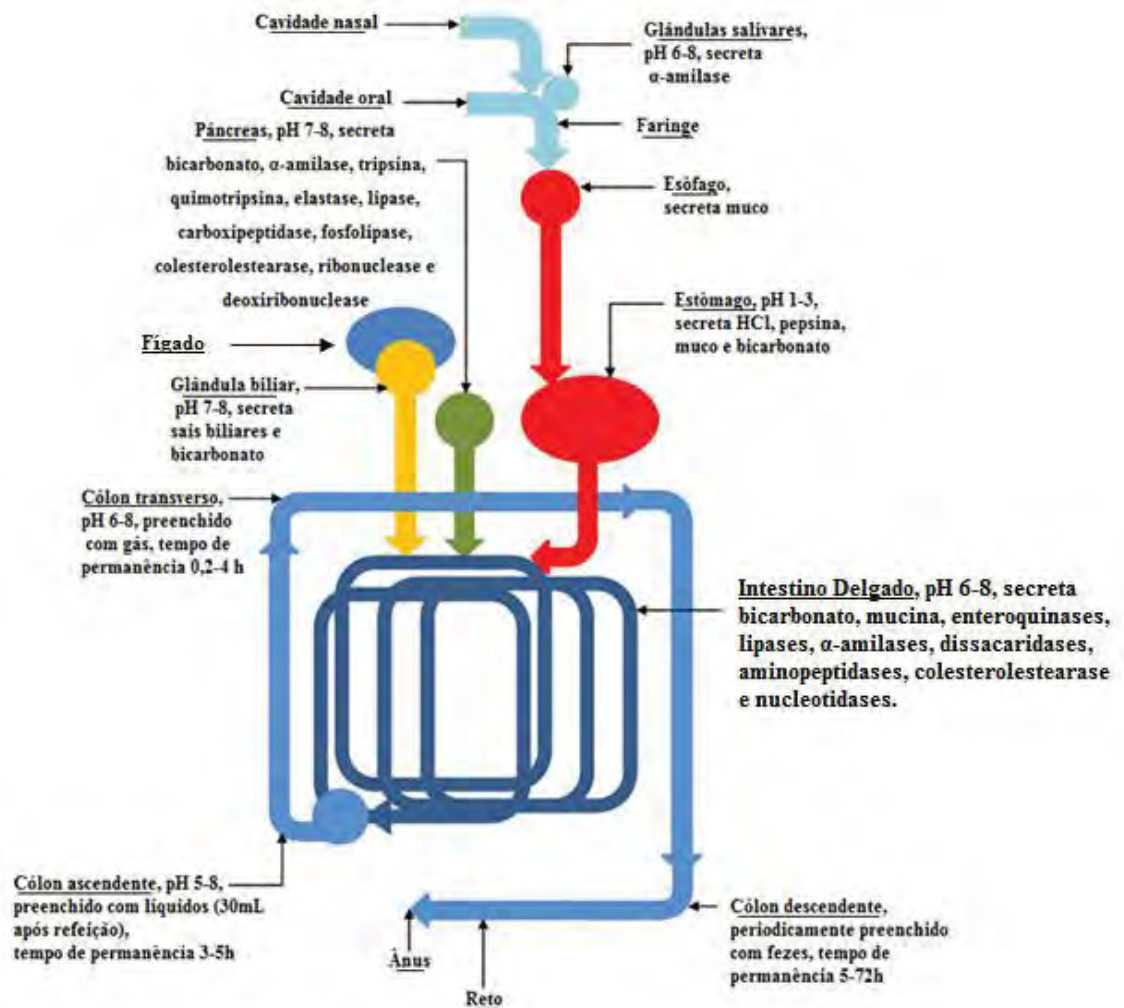
Estudos voltados para a pesquisa e desenvolvimento de produtos alimentícios têm avaliado a influência da presença de polissacarídeos naturais nas características de geleificação e retrogradação do amido. A retrogradação do amido de arroz pode ser favorecida pela presença de maltodextrinas (LII et al., 1998), enquanto cadeias de amilopectina de elevado peso molecular e xiloglicanas favoreceram a retrogradação do amido de trigo e de tapioca, respectivamente (TEMSIRIPONG et al., 2005; KOHYAMA et al., 2004). À presença de xiloglucanas foi atribuída a redução da retrogradação do amido de milho gelatinizado (YOSHIMURA et al., 1999). A redução da retrogradação também foi observada para o amido de sagu quando na presença de galactomananas ou para o amido de batata em presença de goma guar e goma xantana (LEE et al., 2002; AHMAD; WILLIAMS, 2001). Mais recentemente, Babic e colaboradores (2006), estudaram o efeito da adição de diferentes hidrocolóides na retrogradação do amido de tapioca e concluíram que, de modo geral, eles promoveram a inibição desse fenômeno.

A discrepância de comportamentos acima relatada tem sido atribuída a variações de origens botânicas, bem como de concentração, temperatura e tempo do processo de retrogradação (ZHOU et al, 2008) e evidenciam a necessidade de novas pesquisas nesse campo.

2.3.2 A digestão do amido nos humanos

O conceito de amido resistente está baseado na incapacidade das enzimas digestivas hidrolisarem algumas formas amido e, por isso, faz-se importante o conhecimento da digestão do amido nos humanos, incluindo os principais órgãos e as enzimas secretadas (figura 7) (PERERA et al., 2010).

Figura 7 – Principais órgãos que participam da digestão dos alimentos e as enzimas secretadas.



Adaptado de: PERERA et al., 2010.

A digestão dos alimentos amiláceos começa na boca, através das glândulas salivares que produzem diversas enzimas, como α -amilase, glicosidasas, glicose-oxidase, lactato-dehidrogenase e β -glicuronidase. Então, o alimento parcialmente hidrolisado passa pela faringe, pelo esôfago (que secreta mucina e bicarbonatos) e chega ao estômago, onde o alimento é misturado com pepsina, lipase gástrica e HCl, porém o amido não sofre nenhuma digestão nesse órgão (ABDULNOUR-NAKHOUL et al., 2005; CORREA, 1988). Ao atingir o intestino delgado, o alimento (quimo) é novamente misturado com mucina e bicarbonatos secretados pelas glândulas de Brunner. No duodeno, o quimo se mistura com enzimas responsáveis pela transformação dos carboidratos em monossacarídeos, como a α -amilase pancreática, uma das principais enzimas responsáveis por esse processo, enteroquinase, sucrase, maltase, lactase e com a bile, secretada pelas glândulas biliares. Em seguida, os componentes do quimo que

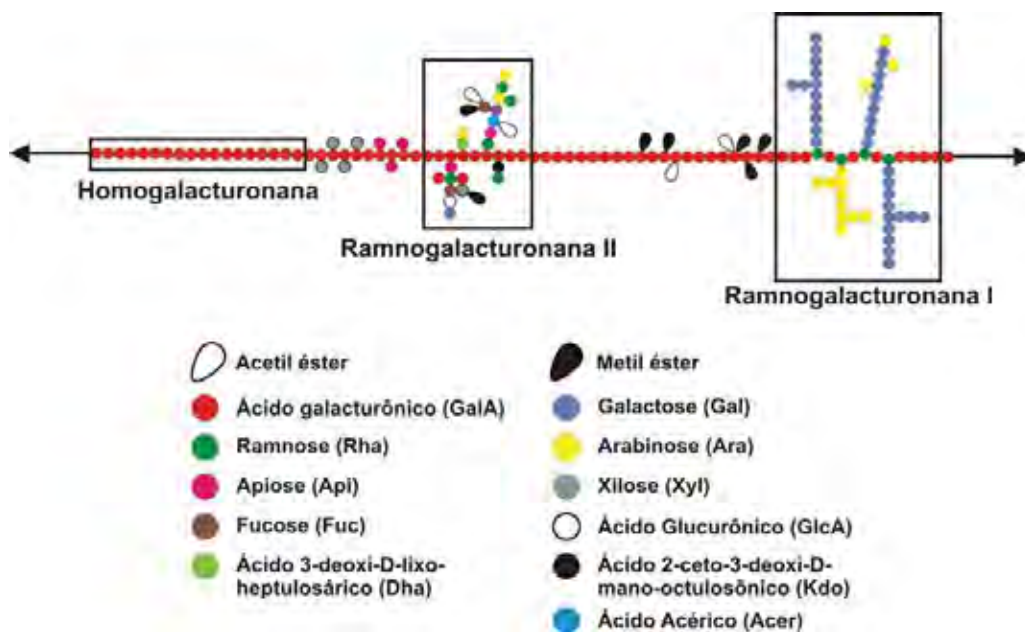
não forem hidrolisados em moléculas absorvíveis pelo intestino delgado, como, por exemplo, o amido, movem-se para o cólon onde sofrem fermentação bacteriana (PERERA et al., 2010; DESESSO et al., 2001; NORDGAARD; MORTENSEN, 1995).

2.4 Pectina

A pectina é um heteropolissacarídeo de estrutura química complexa, comercialmente importante para as indústrias alimentícias e farmacêuticas. Sua estrutura varia de acordo com as espécies, estágio metabólico e condições de extração (FRAEYE et al., 2010; ROUND et al., 2010).

Os principais domínios da pectina são a homogalacturonana (HG) e a ramnogalacturonana (RG) (dividida em tipo I e II) (figura 8), regiões frequentemente descritas como lisa (*smooth region*) e ramificada (*hairy region*), respectivamente. A HG é uma cadeia linear constituída de resíduos de ácidos galacturônicos (GalA) unidos por ligações glicosídicas do tipo α -(1 $\rightarrow$ 4), parte dos quais podem ser parcialmente metilados na posição C6 e parcialmente esterificados com metanol em O2 e/ou O3. As ramnogalacturonanas, que constituem a região ramificada das pectinas, são divididas em dois tipos: ramnogalacturonanas I (RG-I) e ramnogalacturonanas II (RG-II) (MORRIS et al., 2010c; VRIESMANN, 2008).

Figura 8 – Representação esquemática da estrutura de pectinas.



Adaptado de: VRIESMANN, 2008.

A porcetagem de GalA que é metoxilada é definida como grau de esterificação (GE) da pectina, que é um dos principais parâmetros determinantes de sua funcionalidade (THIBAULT; RALET, 2003). O grau de esterificação (GE) e o grau de acetilação (G_{Ac}) são definidos como o número de mols de metanol ou ácido acético por 100 mols de GalA. O GE em pectinas nativas é geralmente da ordem de 70-80%, enquanto que o G_{Ac} é muito menor, cerca de 35%, por exemplo, para as pectinas extraídas de beterraba (MORRIS et al., 2010a).

De acordo com o GE, as pectinas são divididas em duas classes, pectinas de alto grau de esterificação, quando $GE > 50\%$, e pectinas de baixo grau de esterificação, para $GE < 50\%$ (PILGRIM et al., 1991).

A região RG-I consiste de unidades de dissacarídeos repetidos de ácido D-galacturônico α -(1 $\rightarrow$ 4) e ramnose α -(1 $\rightarrow$ 2), com uma variedade de cadeias laterais de resíduos de arabinose e galactose, enquanto que as RG-II consistem de uma cadeia principal com cerca de nove ligações de ácido galacturônico com quatro cadeias laterais complexas, compreendendo 12 monossacarídeos diferentes e 20 ligações distintas (VRIESMANN, 2008).

Por muitos anos, a pectina foi usada como agente de geleificação. Contudo, recentemente, surgiu o interesse na utilização de géis de pectina para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos para as vias de administração oral, nasal e intravaginal e, em parte, esse interesse se deve à sua atoxicidade e baixo custo (MORRIS et al, 2010b).

A pectina é um polissacarídeo amplamente empregado como excipiente na obtenção de sistemas de liberação cólon-específica, porque em meio ácido permanece como agregados de macromoléculas, além de ser resistente a proteases e amilases presentes nas porções superiores do TGI, sendo digerida pela microflora colônica (VANDAME et al., 2002; SINHA; KUMRIA, 2001).

No entanto, o grande desafio para o uso da pectina na obtenção de filmes de revestimento destinados à obtenção de sistemas para liberação colônica de fármacos é reduzir sua elevada solubilidade em meio aquoso, que pode contribuir para uma liberação prematura e muitas vezes indesejável do fármaco (LIU et al., 2007).

2.5 Plastificantes

De maneira geral, os plastificantes são compostos de baixo peso molecular e têm cadeias cíclicas ou lineares de 14-40 átomos de carbono (WILSON, 1995; DONHOWE; FENNEMA, 1993). Seu baixo peso molecular permite que ocupem espaços intermoleculares nas cadeias poliméricas, reduzindo, assim, as forças secundárias entre eles. Além disso, essas substâncias alteram a organização molecular tridimensional dos polímeros e reduzem a energia necessária para a movimentação molecular e para a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias, resultando no aumento do volume livre, da mobilidade molecular e, portanto, da flexibilidade. Por outro lado, reduzem a tensão de deformação, dureza, densidade, viscosidade e carga eletrostática do polímero, ao mesmo tempo em que aumentam a resistência à fratura e a constante dielétrica. Outras propriedades, como a cristalinidade e a condutividade elétrica, também são afetadas (BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK; FLORJAŃCZYK, 2007; WYPYCH, 2004; ROSEN, 1993).

Os plastificantes podem ser classificados em (a) primários ou secundários e (b) hidrofílicos ou hidrofóbicos. Se um plastificante é solúvel em alta concentração de polímero e é utilizado sozinho ou como principal elemento plastificante, diz-se que ele é um plastificante primário. Já os plastificantes secundários têm compatibilidade limitada com o polímero e, geralmente, são misturados com os plastificantes primários para melhorar algumas propriedades dos produtos e reduzir o custo (CHANDA; ROY, 1986).

Os plastificantes hidrofílicos, quando adicionados em alta concentração, podem levar ao aumento da difusão de água no polímero, enquanto que os plastificantes hidrofóbicos podem levar à separação de fases, ocasionando perda de flexibilidade e formação de zonas descontínuas durante a secagem do filme (BODMEIER; PAERATAKUL, 1997).

A adição de plastificantes na produção de filmes poliméricos é essencial, uma vez que melhora suas propriedades mecânicas, mantém a integridade e evita a formação de poros e rachaduras na matriz polimérica, tudo isso consequência da diminuição das forças intermoleculares nas cadeias poliméricas (GARCIA, 2000).

A água, principal solvente dos biopolímeros, é considerada um plastificante natural, uma vez que suas moléculas reduzem a temperatura de transição vítrea (T_g) e aumentam o volume livre dos biomateriais (CHENG, KARIM, 2006; KARBOWIAK et

al., 2006). Além da água, são também comumente usados os polióis, principalmente nos polímeros hidrofílicos, sendo pertencentes a esta classe a glicerina, o polietilenoglicol, etilenoglicol, dietilenoglicol, trietilenoglicol, propilenoglicol, sorbitol, manitol e xilitol. Outros plastificantes, como os ácidos graxos, monossacarídeos, etanolamina, uréia, trietanolamina, óleos vegetais, ceras, lecitinas, tensoativos e aminoácidos também são utilizados (VIEIRA et al., 2011).

Geralmente, os polióis são utilizados na obtenção de filmes de polissacarídeos, tais como os filmes de amido, devido à natureza frágil das misturas contendo altas concentrações desse polissacarídeo e à recristalização que ocorre durante o armazenamento, que favorece a rigidez. Nesse sentido, um plastificante ideal desses filmes deve superar a fragilidade, conceder flexibilidade e suprimir a retrogradação do amido durante o armazenamento (HUANG et al., 2005).

3. OBJETIVOS

Obtenção e caracterização de filmes de misturas de amido resistente e pectina e verificação de sua aplicabilidade em sistemas de liberação cólon-específica.

Avaliação da influência da adição e do tipo de plastificantes, bem como da proporção de polímeros e a concentração das dispersões poliméricas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matérias-primas

- ácido clorídrico, teor: 37% (Quimis);
- água purificada;
- alta amilose HYLON VII, 70% amilose, 30% amilopectina, Lote: LA5255 (National Starch & Chemical);
- cloreto de sódio (Synth);
- 3,5-ácido dinitrosalicílico (Sigma)
- fosfato de sódio tribásico $12\text{H}_2\text{O}$ (Henrifarma);
- glicerina (Vetec);
- hidróxido de sódio (Grupo Química);
- pectina de baixo grau de metoxilação, tipo LM-506CS, Lote: SK82079 (GP Kelco);
- pancreatina (Vetec);
- propilenoglicol (Synth);
- silicagel 60 (Merck).

4.1.2 Equipamentos

- Agitador mecânico (Fabbe[®]);
- Autoclave (Fabbe[®]);
- Balança analítica (Owa labor[®]);
- Balança semi-analítica (Gehaka[®]);
- Difratômetro de raios X, modelo D5000 (Siemens[®]);
- Espectrofotômetro ultravioleta Hewlett Packard-Kayak[®] XA;
- Lavadora Ultra-sônica (UNIQUE[®]);
- Centrífuga (Sorvall TC[®]);
- Dispositivo para determinação de intumescimento segundo Enslin;

- Equipamento para ensaio de dissolução Hanson Research[®] modelo; New Hanson SR-8 Plus;
- Estufa com circulação forçada de ar (Fabbe[®]);
- Micrômetro digital (Mitutoyo[®]);
- Microscópio eletrônico (JEOL[®] JSM-T330A);
- Peagômetro (Gehaka[®]);
- Reômetro, modelo RS-1, (Haake Rheostress[®]),
- Analisador de textura (TA.XT Plus, Stable Micro Systems[®]).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Retrogradação do amido associado à pectina

O processo de retrogradação do amido foi realizado por dois diferentes métodos.

Método 1: Misturas de alta amilose e pectina em diferentes proporções (4:1, 1:1 e 1:4) preparadas com auxílio de gral e pistilo foram retrogradadas segundo procedimento proposto por Park e colaboradores (2009). Misturas poliméricas em diferentes concentrações (5, 10, 20, 30 e 40%) foram dispersas em água previamente aquecida a 80°C, sob agitação mecânica, por tempo suficiente para a completa dispersão dos polímeros. Em seguida, as dispersões aquosas foram autoclavadas a 121°C por 15 minutos, para a pré-gelatinização do amido, e resfriadas naturalmente à temperatura ambiente. Para a retrogradação do amido, as preparações foram submetidas a ciclos térmicos alternados de 4°C e 30°C por 16 dias, sendo 2 dias em cada temperatura.

Método 2: Baseado em procedimento proposto por Dimantov e colaboradores (2004), dispersões aquosas de alta amilose e pectina foram preparadas, separadamente, nas concentrações de 5% e 10%, respectivamente, sob agitação mecânica por 30 min. Em seguida, as dispersões de alta amilose foram submetidas à autoclavação a 121°C por 120 min, enquanto que as dispersões de pectina permaneceram sob agitação mecânica durante o mesmo período de tempo para completa dispersão desse polissacarídeo. Ao final do período de autoclavação, a alta amilose gelatinizada foi resfriada (30°C) sob agitação mecânica e, então, misturada com a dispersão de pectina em diferentes proporções (4:1, 1:1 e 1:4) (m/m). Para o processo de retrogradação, as dispersões

foram submetidas a ciclos térmicos alternados de 4°C e 30°C por 16 dias, sendo 2 dias em cada temperatura.

4.2.2 Determinação das condições para obtenção dos filmes

Para as condições para a obtenção dos filmes, foi avaliada a influência das variáveis: concentração de plastificante, tempo de homogeneização dispersão/plastificante, massa de dispersão filmógena disposta na placa, tipo de placa utilizada e condições de secagem.

Os filmes foram obtidos a partir das dispersões preparadas pelos métodos 1 e 2 e adicionou-se glicerina ou propilenoglicol, como plastificante, nas concentrações de 3, 5, 10, 15 e 20%. Em seguida, o conjunto foi mantido sob agitação mecânica durante 30, 60 e 120 min para completa homogeneização e permaneceu por mais 30 min em banho de ultrassom para retirada de eventuais bolhas.

Os filmes foram obtidos através do método de evaporação do solvente (*solvent casting*), a partir da deposição de 10 ou 15g das dispersões poliméricas sobre placas de Petri de poliestireno, vidro ou politetrafluoroetileno. A secagem foi realizada em temperatura ambiente ou em estufa com circulação de ar a 40°C. Filmes sem plastificantes foram obtidos para servirem como controle. Os filmes foram denominados conforme a concentração da dispersão, proporção dos polímeros e tipo de plastificante empregado (Tabela 3).

Tabela 3 – Filmes de alta amilose retrogradada e pectina, sob diferentes condições.

Concentração da dispersão	Alta Amilose: Pectina			Tipo de Plastificante
	4:1	1:1	1:4	
5%	541G	511G	514G	Glicerina
	541P	511P	514P	Propilenoglicol
	541S	511S	514S	Sem Plastificante
10%	1041G	1011G	1014G	Glicerina
	1041P	1011P	1014P	Propilenoglicol
	1041S	1011S	1014S	Sem Plastificante

4.2.3 Análise de dureza das dispersões poliméricas filmógenas

As dispersões aquosas de misturas de alta amilose retrogradada e pectina em diferentes proporções, obtidas pelo método 2, tiveram suas durezas avaliadas em analisador universal de textura TA-XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems). Para a realização do ensaio, 10g de amostra foram colocados em tubos de ensaio (16 x 100 mm) e comprimidos pela sonda analítica (10mm de diâmetro) duas vezes ($v = 0,50 \text{ mm s}^{-1}$; profundidade = 10 mm), permitindo um período de intervalo de 5 s entre as compressões. As análises foram realizadas em quintuplicata e em temperatura ambiente. Foram analisadas dispersões aquosas de misturas de alta amilose retrogradada e pectina nas diferentes proporções, obtidas segundo o método 2.

4.2.4 Determinação do comportamento viscoelástico das dispersões filmógenas

O comportamento viscoelástico das amostras obtidas pelo método 2 foi avaliado através de ensaios oscilatórios dinâmicos, em reômetro Haake Rheostress 1, acoplado a um banho HAAKE C25P em temperatura de 37°C e equipado com um sensor de cone placa (C35/2° Ti) ($D = 35\text{mm}$, $gap = 0,105 \text{ mm}$), ligado a um computador gerenciado por software Rheowin 3.

Inicialmente, foi realizada uma varredura de tensão de 0 a 100 Pa na frequência fixa de 1 Hz, para verificação da faixa de viscoelasticidade linear e seleção da tensão a ser empregada nas análises de varredura de frequência.

Os espectros mecânicos foram obtidos sob uma tensão constante (0,5 Pa), variando-se a frequência oscilatória na faixa de 0,6 a 623 rad s^{-1} e os parâmetros determinados foram G' , G'' e η^* . Foram analisadas dispersões aquosas de misturas de alta amilose retrogradada e pectina nas diferentes proporções, obtidas segundo o método 2.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.2.5 Birrefringência das dispersões filmógenas

A birrefringência das dispersões de alta amilose e pectina nas diferentes proporções, antes e depois do processo de retrogradação, foi analisada em microscópio com luz polarizada (Leica Microsystems, Inc., Germany), com aumento de 400x. As amostras que não apresentaram birrefringência foram fotografadas sob luz normal.

4.2.6 Exame macroscópico dos filmes

Os filmes foram analisados macroscopicamente a fim de se avaliar algumas características morfológicas, tais como transparência, flexibilidade, presença de bolhas e fissuras, uma vez que a integridade dos filmes é importante para assegurar a reprodutibilidade das demais análises. Os filmes selecionados para as análises posteriores foram armazenados em cuba de dessecação contendo sílica até o momento das análises.

4.2.7 Determinação da espessura dos filmes

A espessura foi avaliada com auxílio de micrômetro Digital MDC-Lite (Mitutoyo[®]), sendo as medidas obtidas em 5 pontos aleatórios de cada filme (n = 6).

4.2.8 Microscopia eletrônica de varredura de campo ampliado de alta resolução (MEV-FEG)

A morfologia de superfície e da seção transversal dos filmes foi avaliada por MEV em microscópio JEOL JSM-7500F (Japão). O preparo das amostras consistiu na deposição de uma camada fina de carbono sobre a superfície do filme para torná-lo condutor. A deposição foi feita através da evaporação de um fio de carbono após a aplicação de um potencial elevado. Para a análise das seções transversais, foram feitas fraturas nos filmes, tensionando-os com uma pinça fina nas extremidades. As fotomicrografias de cada amostra foram obtidas com ampliação de 1000 e 10000 x.

4.2.9 Propriedades mecânicas dos filmes

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas em analisador universal de textura TA-XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems) equipado com sonda em aço inoxidável com ponteira esférica ($D=2,5\text{cm}$). Seções dos filmes ($n=6$) foram fixadas sobre um suporte metálico com um orifício circular ($D=5\text{cm}$) a uma distância de 25mm da sonda. A sonda metálica desceu perpendicularmente à superfície do filme com velocidade constante de 1mm s^{-1} , em direção ao centro do orifício circular, sendo que durante a perfuração do filme a velocidade foi de $0,10\text{mm s}^{-1}$. A força de gatilho foi de $0,005\text{kg}$. Curvas de força *versus* deslocamento foram registradas até o momento da ruptura do filme e utilizadas para determinar suas propriedades mecânicas, como resistência à perfuração (R_p), alongamento durante a perfuração (A_p) e energia na perfuração por unidade de volume (E_p), de acordo com as equações 1, 2 e 3, respectivamente (MUSCHERT et al, 2009; LIMMATVAPIRAT et al., 2007; SUNGTHONGJEEN et al., 2004):

$$R_p = \frac{F}{A} \quad \text{Equação 1}$$

em que F é a força requerida para a ruptura do filme e A é a área da seção transversal do filme ($A = 2rd$, onde r é o raio do orifício e d a espessura do filme).

$$A_p \% = \frac{\sqrt{r^2 + d^2} - r}{r} \cdot 100\% \quad \text{Equação 2}$$

em que r é o raio do filme exposto no orifício da placa e d o deslocamento do dispositivo do ponto de contato até a ruptura do filme.

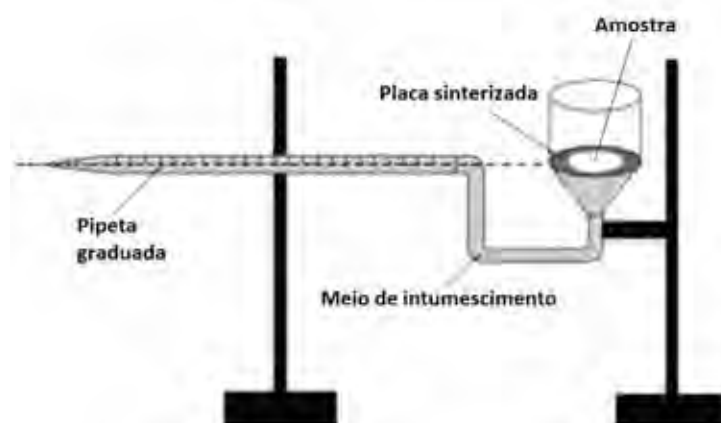
$$E_p = \frac{AUC}{V} \quad \text{Equação 3}$$

em que AUC é a área sob a curva força *versus* deslocamento e V o volume de filme ($V = \pi r^2 h$) localizado no orifício da placa.

4.2.10 Determinação do perfil de intumescimento

O perfil de intumescimento dos filmes foi determinado em dispositivo de Enslin (Figura 9) (VOIGT, 2000). Uma seção de cerca de 1 cm² de cada filme foi precisamente pesada, imediatamente disposta sobre a placa de vidro sinterizada do funil do dispositivo e o sistema foi fechado com auxílio de filme de policloreto de vinila e papel alumínio. O volume de líquido absorvido pelo filme foi avaliado após 1, 2, 5, 10, 30, 60, 90 e 120 minutos. Foram utilizados diferentes meios de intumescimento para simular os diferentes ambientes do trato gastrointestinal - meio gástrico simulado sem enzimas (HCl 0,1N, pH 2,0), meio entérico simulado sem enzimas (tampão fosfato pH 7,4) e meio colônico simulado sem enzimas (tampão fosfato pH 6,0).

Figura 9 – Dispositivo de Enslin para determinação de intumescimento



Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em porcentagem de líquido absorvido em relação à massa inicial da amostra, de acordo com a seguinte equação:

$$\%I = \frac{V}{m} \quad \text{Equação 4}$$

em que %I é a porcentagem de intumescimento do filme; V (mL) é o volume de meio absorvido e m (g) é a massa do filme.

Os resultados foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguida por comparações múltiplas pelo método de Tukey e o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

4.3 Análise de permeabilidade ao vapor d'água

A permeabilidade dos filmes ao vapor de água foi determinada gravimetricamente, segundo procedimento proposto por Akhgari e colaboradores (2006). Seções circulares dos filmes, cujas espessuras foram previamente determinadas, foram firmemente fixadas no topo de recipientes de vidro de 20 mL de capacidade, com abertura de 1,1 cm contendo 10 mL de água destilada (100% UR). Amostras de filmes também foram fixadas em frascos vazios (sem água), como referência. Ambos os conjuntos foram precisamente pesados ($\pm 0,0001\text{g}$) e colocados no interior de um dessecador contendo sílica gel (0% UR). Em intervalos específicos de tempo (24, 48, 72, 96 e 120h), o perfil de perda de massa foi obtido para cada amostra e a permeabilidade ao vapor d'água (PVA) calculada através da seguinte equação (PREZOTTI et al., 2012; GHANBARZADEH et al., 2007):

$$PVA = \frac{TTVA \cdot x}{AP_0(RH_1 - RH_2)}$$

em que $TTVA$ é a taxa de transmissão de vapor d'água obtido da inclinação da curva massa *versus* tempo; x é a espessura do filme (mm); A é a área de superfície do filme exposta ao permeante (m^2), P_0 é a pressão de vapor da água pura (3,159 kPa a 25°C); $(RH_1 - RH_2)$ é o gradiente de umidade relativa.

Os testes foram realizados em triplicata e os resultados foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguida por comparações múltiplas pelo método de Tukey e o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

4.4 Difração de raios X

A identificação da estrutura cristalina e/ou amorfa dos polímeros isolados, de suas misturas físicas e dos filmes de 511S, 514S e 1014S foi realizada a partir de

difratogramas obtidos em difratômetro de raios-X Siemens®, modelo D5000, com velocidade do goniômetro de $0,05^\circ \text{ s}^{-1}$, sob radiação de Cu-K α ($\lambda=1,5406\text{\AA}$) e com varredura de raios X de ângulo aberto 2θ entre 4° e 70° .

4.5 Teste de dissolução dos filmes

Os filmes livres obtidos das diferentes dispersões filmógenas foram submetidos ao ensaio de dissolução em dissolutor SR-8 Plus Hanson Research® usando o aparato tipo V USP (pá sobre disco), segundo procedimento proposto por El Malah e Nazzal (2008), com pequenas modificações. Seções de filmes (4cm^2) foram fixadas em suporte para adesivos transdérmicos com malha 17, os quais foram precisamente pesados e, em seguida, posicionados no fundo de cubas de dissolução contendo solução de HCl 0,1N (pH 1,6) ou tampão fosfato 0,1M pH 7,4 a 37°C , com agitação de 50 rpm, durante 120 e 180 minutos, respectivamente. Após o tempo de imersão, os filmes foram retirados, secos em estufa com circulação forçada de ar a 40° e pesados. A dissolução foi calculada gravimetricamente.

4.6 Teste de digestão enzimática dos filmes

A digestão enzimática dos filmes *in vitro* e o respectivo teor de amido resistente foram determinados pelo método descrito por Englyst e colaboradores (1992). Basicamente, às seções dos filmes (100 mg) foram adicionados 2 mL de tampão fosfato (0,1M, pH 7,1) e elas foram mantidas em banho-maria por 30 min a 100°C . Em seguida, foram resfriadas a 37°C , misturadas a 0,5mL de uma solução enzimática de pancreatina (0,15g/mL) e incubadas a 37°C (ZHANG; WANG, 2009).

Durante a incubação, alíquotas (0,1 mL) foram retiradas em intervalos pré-determinados (20, 60, 120, 150 e 180 min) e acrescidas de 1 mL de etanol 80% v/v para cessar a atividade enzimática. Uma curva padrão da glicose foi utilizada, uma vez que o amido é hidrolisado em glicose, e seu conteúdo foi quantificado espectrofotometricamente (540nm), através de reação com ácido 3,5-dinitrossalicílico. O amido digerido dentro dos primeiros 20 min foi denominado como rapidamente digerível (ARD) e o amido digerido entre 20 e 120 min como lentamente digerível (ALD) (Englyst et al., 1992). O conteúdo de AR foi calculado de acordo com a equação 6 (ZHANG; WANG, 2009):

$$RS (\%) = \frac{(amido\ total - ARD - ALD)}{amido\ total} \cdot 100\%$$

Equação 6

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção dos filmes

Filmes de revestimento podem ser obtidos por diferentes técnicas, como, por exemplo, a evaporação do solvente e a extrusão. A evaporação do solvente é um método comum para obtenção de filmes biodegradáveis em pequena escala, os quais são facilmente removidos de placas e podem apresentar diferentes espessuras de acordo com a quantidade de suspensão filmógena depositada (LOPÉZ et al., 2010).

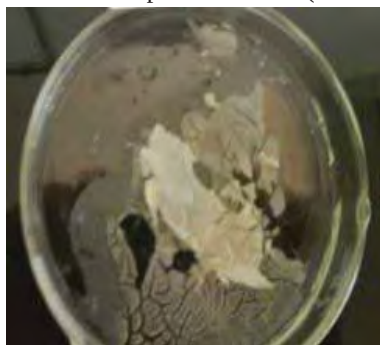
A fim de aperfeiçoar as condições de obtenção dos filmes, a influência de diversas variáveis (tabela 4) na capacidade filmógena das dispersões poliméricas obtidas através dos métodos 1 e 2 foi avaliada.

Tabela 4 – Variáveis avaliadas na obtenção dos filmes.

Parâmetros	Método 1	Método 2 (selecionado)
Tempo de autoclavação	15 min	120 min
Concentração das dispersões	5, 10, 20 e 40%	5 e 10%
Alta amilose:pectina	4:1, 1:1 e 1:4	1:1 e 1:4
Plastificante	Glicerina ou propilenoglicol	Glicerina ou propilenoglicol
Concentração de plastificante	3, 5, 10, 15 e 20%	5%
Tempo de homogeneização	15, 30, 60 e 120 min	120 min
Tipo de placa de Petri	Vidro, plástico ou teflon®	Vidro
Diâmetro da placa de Petri	90 mm	90 mm
Massa depositada na placa	8, 10 e 15 g	15 g
Secagem dos filmes	Temperatura ambiente ou estufa a 40°C	Estufa a 40°C

As dispersões obtidas pelo método 1, baseado em procedimento proposto por Park e colaboradores (2009), apresentaram capacidade filmógena deficiente, uma vez que, para todas as variáveis estudadas, não foi possível obter filmes íntegros e contínuos (Figura 10).

Figura 10 – Filme obtidos pelo método 1 (PARK et al., 2009).



A capacidade filmógena está relacionada principalmente com a arquitetura dos componenetes macromoleculares (LÓPEZ et al, 2008). O amido retrogradado (AR 3), por ser mais cristalino e ordenado e apresentar menor solubilidade, contribui para a formação de filmes contínuos e homogêneos (DIMANTOV et al., 2004). Assim, o comportamento observado pode ser atribuído à gelatinização incompleta do amido alcançada no menor tempo de autoclavação empregado nessa metodologia, o qual deve ter desfavorecido a recristalização.

Por outro lado, as dispersões obtidas segundo metodologia proposta por Dimantov e colaboradores (2004) (método 2), na qual o tempo de autoclavação foi de 120 min, permitiu a obtenção de filmes contínuos, flexíveis e de fácil remoção das placas (Figura 11). Segundo Krogars e colaboradores (2002), a temperatura e o tempo de tratamento hidrotérmico das dispersões de amido com alto teor de amilose interferem na cristalinidade e no tamanho do cristalito, fatores que estão diretamente ligados à habilidade de formação do filme. Dessa forma, o maior tempo de autoclavação pode ter ocasionado a total gelatinização do amido, bem como um maior nível de organização e recristalização durante o ciclo de retrogradação.

Figura 11 – Filme obtido pelo método 2 (DIMANTOV et al., 2004).



A concentração das dispersões e a proporção dos polímeros também influenciaram as propriedades das dispersões filmógenas e seus respectivos filmes. Dispersões com concentração de polímeros superior a 10% levaram à formação de dispersões de elevada viscosidade, dificultando seu espalhamento sobre o substrato e, portanto, a formação de filmes. Comportamento semelhante foi observado para as dispersões com maior proporção de alta amilose (4:1). Segundo López e colaboradores (2008), quanto maior a concentração de amido em uma dispersão filmógena, mais quebradiço será o filme originado. Assim, requer-se a associação da alta amilose com outros polímeros, bem como a adição de plastificantes.

Outro fator que mostrou alterar as características finais dos filmes foi a adição de plastificantes às dispersões filmógenas. Assim, a concentração de plastificantes selecionada foi de 5% em relação à massa de polímero seco, por proporcionar propriedades mecânicas adequadas e facilidade no manuseio. Além disso, quando o plastificante foi empregado em concentrações maiores que 5%, os filmes tornaram-se untuosos.

Devido aos fatos relatados acima, as amostras (dispersão e filme) selecionadas para as análises subsequentes foram 511G, 511P, 511S, 514G, 514P, 514S, 1014G, 1014P, e 1014S, obtidas pelo método 2, pois apresentaram características desejáveis e reprodutíveis. Além disso, os parâmetros comparados nas análises subsequentes foram (i) concentração de polímeros (série 514 e 1014), (ii) proporção de polímeros (série 511 e 514) e (iii) presença e tipo de plastificantes.

5.2 Análise de textura das dispersões

A análise de textura vem sendo amplamente empregada pela indústria farmacêutica na caracterização física de formulações semi-sólidas, por ser de fácil execução e apresentar grande variabilidade de aplicação (TENG et al., 2011).

Nas análises de textura, dois ciclos de compressão são realizados e dois picos de força são registrados, um durante o primeiro ciclo e o outro após a remoção da força (MANDALA et al., 2002). Os parâmetros mais comumente obtidos dessas curvas são adesividade, mastigabilidade, coesividade, fraturabilidade, dureza e elasticidade (CAINE et al., 2003).

A baixa viscosidade das dispersões obtidas nesse trabalho permitiu a determinação apenas do parâmetro dureza, já que os demais parâmetros somente são mensuráveis em sistemas do tipo gel.

Plastificantes, como a glicerina, são usados em filmes de amido com o intuito de aperfeiçoar seu processamento e suas propriedades mecânicas. Isso ocorre através da intercalação dos plastificantes na estrutura polimérica, que leva ao afrouxamento da matriz e ao aumento da mobilidade das cadeias, pois diminui as fortes interações das cadeias moleculares (QIAO et al., 2011).

Os valores de dureza das dispersões de alta amilose retrogradada e pectina são apresentadas na Tabela 5, em que se pode observar que o aumento da concentração de polímeros levou ao aumento da dureza. Tal comportamento é coerente, já que, segundo TENG e colaboradores (2011), o aumento na concentração de alta amilose resulta num gel mais duro, devido à retrogradação.

Tabela 5 – Dureza das dispersões aquosas de alta amilose retrogradada e pectina.

Amostra	Dureza (N)
511G	0,01608±0,00051
511P	0,01604±0,00066
511S	0,01604±0,00040
514G	0,01576±0,00082
514P	0,01544±0,00048
514S	0,01586±0,00038
1014G	0,01720±0,00084
1014P	0,01817±0,00030
1014S	0,01858±0,00045

Nesse sentido, as amostras que apresentaram maiores durezas foram as obtidas com 10% de polímeros, ou seja, pertencentes à série 1014. Ainda, dentre essas amostras, o maior valor de dureza foi exibido pela dispersão 1014S, que, além de apresentar maior concentração de polímero, foi obtida sem adição de plastificantes, ou seja, manteve a rigidez original de suas cadeias, o que já era esperado, já que os plastificantes são substâncias que diminuem a dureza, a viscosidade e a densidade dos materiais (VIEIRA et al., 2011). No entanto, o mesmo comportamento não foi observado para as amostras das séries 511 e 514, nas quais a presença de plastificantes

não alterou de maneira significativa os valores de dureza ($p > 0,05$). Ainda para essa maior concentração de polímero (10%), a pectina resultou em maiores valores de dureza.

5.3 Determinação do comportamento viscoelástico das dispersões

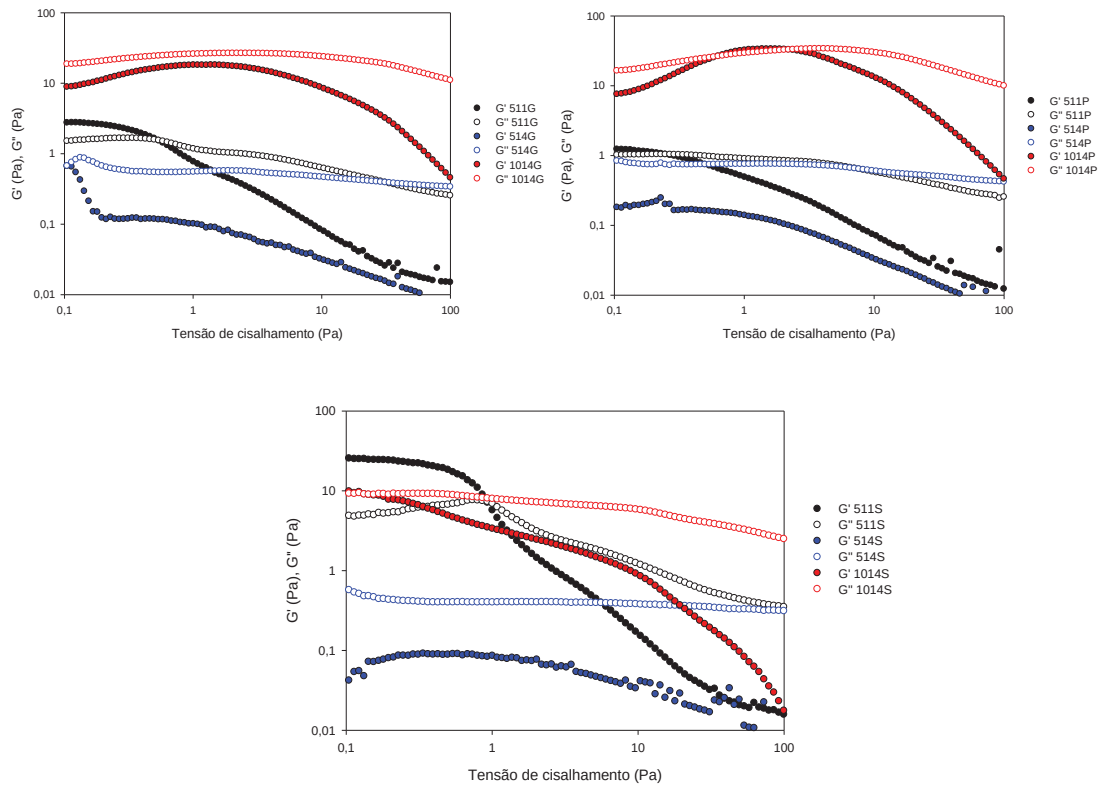
O conhecimento do comportamento reológico dos polímeros amiláceos, tal como os polímeros de alta amilose, é muito importante, uma vez que possibilita a compreensão da sua microestrutura, a determinação de condições ideais de processamento, melhor controle da qualidade dos produtos finais e a resolução de problemas fundamentais de fluxo. Além disso, as dispersões desses polímeros, quando sob armazenamento, sofrem alterações importantes, como a recristalização, que podem ser muito bem monitoradas pelos testes reológicos, principalmente no que diz respeito ao seu comportamento mecânico. Dessa maneira, a reometria oscilatória dinâmica tem se mostrado útil no acompanhamento do desenvolvimento da estrutura dessas dispersões durante o armazenamento, permitindo a avaliação dos módulos dinâmicos sem romper as estruturas formadas na amostra (XIE et al., 2011).

A viscoelasticidade linear, isto é, a faixa onde a tensão aplicada não afeta a estrutura tridimensional dos sistemas, é totalmente dependente da frequência. Já a deformação que ocorre até o ponto da destruição de ligações internas ou agregados de moléculas é denominada de viscoelasticidade não-linear (NEVES et al., 2009; SCHRAMM, 2006).

Nas dispersões de alta amilose, o comportamento viscoelástico difere das dispersões de amilose e amilopectina isoladas e é dependente da densidade de reticulação da fase contínua, do contato efetivo entre os grânulos, da rigidez e da distribuição espacial. Assim, após o estabelecimento da faixa linear, é possível caracterizar a estrutura em si, executando o experimento em uma tensão inferior à tensão crítica e em frequência adequada (KARIM et al., 2000).

Nesse sentido, a primeira etapa dos ensaios reológicos foi a realização de uma varredura de tensão, na faixa de 0 a 100Pa, com uma frequência fixa de 1Hz, com o objetivo de analisar a região de viscoelasticidade linear das amostras. As varreduras de tensão das amostras estão representadas na figura 12.

Figura 12 – Varredura de tensão das dispersões de alta amilose retrogradada e pectina.

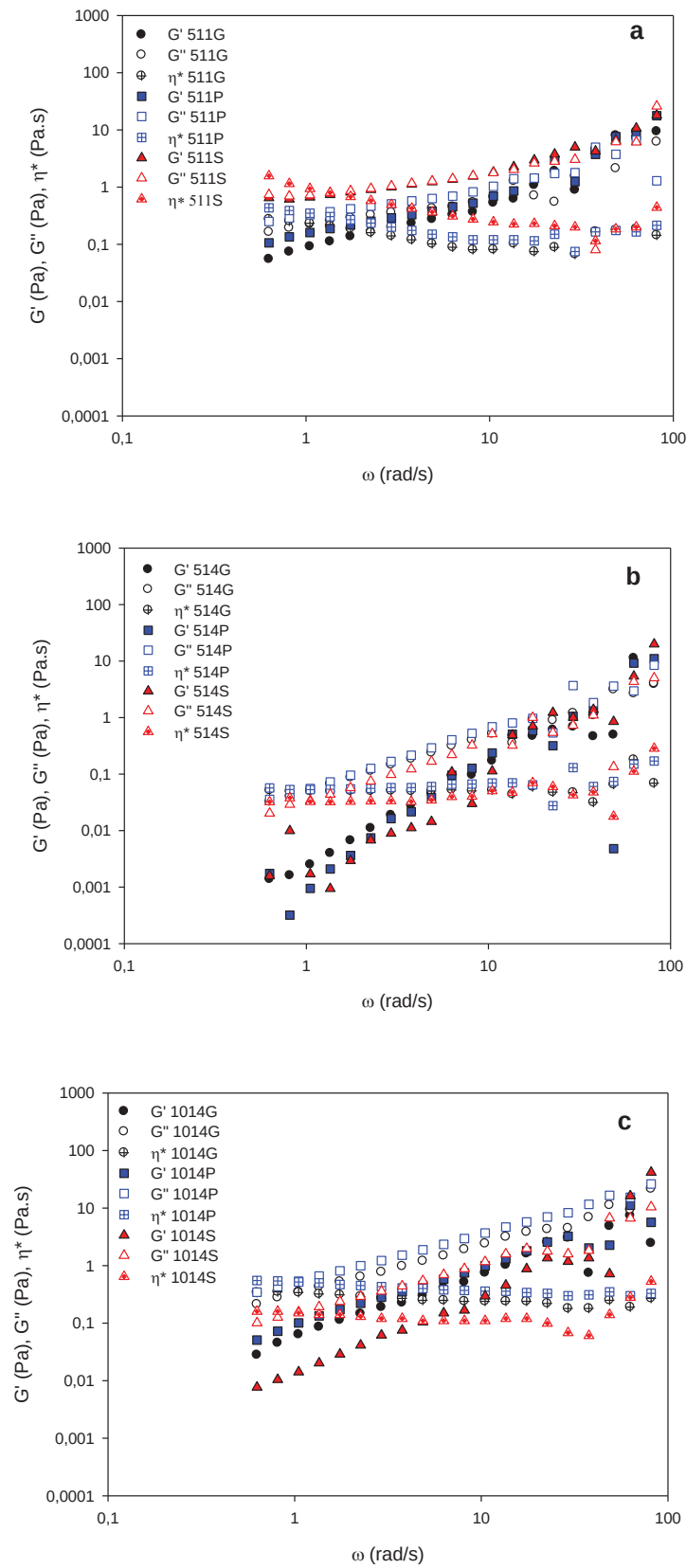


Pela análise dos gráficos de varredura de tensão (Figura 12), conclui-se que a faixa de viscoelasticidade linear apresentou-se em regiões baixas e que a melhor tensão para se realizar os espectros mecânicos foi de 0,5 Pa.

As dispersões poliméricas podem ter, simultaneamente, propriedades viscosas (como os líquidos) e elásticas (como os sólidos), ou seja, comportarem-se como um material viscoelástico. Assim, de um experimento sinoidal dinâmico é possível obter dois diferentes módulos, o módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G''). O módulo de armazenamento (G') é a medida da energia armazenada no material e sua magnitude depende dos rearranjos que podem acontecer durante o período de oscilação, indicando um caráter sólido ou elástico. Já o módulo de perda é uma medida da energia dissipada ou perdida por ciclo de deformação sinoidal, indicando um comportamento líquido ou viscoso (TENG et al., 2011).

Os espectros mecânicos das amostras, com e sem plastificantes, em diferentes concentrações e proporções, são mostrados na Figura 13.

Figura 13 – Espectros mecânicos das dispersões de alta amilose retrogradada e pectina.



Série 511(a), série 514 (b) e série 1014 (c).

De acordo com os espectros mecânicos (Figura 13a, 13b e 13c), para todas as amostras estudadas, com exceção da 511S, os valores do módulo de perda (G'') mantiveram-se superiores ao módulo de armazenamento G' , em toda a faixa de frequência estudada. Esse resultado indica um comportamento predominantemente viscoso, característica de sistemas pouco organizados, evidenciado, também, pela variação de G' com o aumento da frequência, já que esses valores aumentaram progressivamente (KHONDKAR et al., 2007).

A amostra 511S apresentou comportamento distinto em relação às demais, já que os valores de G'' coincidiram com os do G' , principalmente em frequências de baixa a média, indicando certo equilíbrio entre os componentes viscosos e os elásticos. A presença de plastificantes geralmente leva à redução do módulo elástico e influencia as propriedades de viscosidade, que diminuem devido à movimentação inter e intra-moleculares das cadeias, isto é, o enovelamento polimérico diminui (XIE et al., 2011). Dessa maneira, a ausência de plastificante deu origem a um sistema mais organizado em comparação com as amostras plastificadas, uma vez que restringiu a movimentação das cadeias poliméricas, o que também pode ser confirmado pelos maiores valores de G' em relação aos das amostras 511G e 511P.

Os maiores valores de G' apresentados pela amostra 511P em relação aos da amostra 511G (cerca de duas vezes maior nas frequências mais baixas) sugerem que o propilenoglicol torna a estrutura da dispersão mais organizada e estável do que a glicerina, que tem maior peso molecular. Segundo Vieira e colaboradores (2011), a estrutura química do plastificante, incluindo sua composição e peso molecular, interfere no grau de plasticidade das dispersões e, conseqüentemente, dos filmes.

Considerando-se a proporção de polímeros, as amostras da classe 514 apresentam valores de G' menores (cerca de mil vezes) do que os da classe 511, demonstrando que a maior proporção de pectina nas amostras resultou na formação de estruturas mais fracas.

Khondkar e colaboradores (2007) relataram que o aumento da proporção de amido em uma dispersão polimérica acentua seu caráter sólido. Adicionalmente, Sriamornsak e Wattanakorn (2008) obtiveram géis fracos ($G'' > G'$) de dispersões de pectina, indicando a predominância do comportamento viscoso sobre o elástico. Carbinatto (2010) relatou comportamento semelhante em estudo com misturas de alta amilose reticulada e pectina, sendo que aquelas com maior proporção de pectina

exibiram valores menores de *stress* crítico, sugerindo a formação de sistemas com estruturas menos organizadas.

A amostra obtida com maior concentração de polímero (10%) apresentou valores intermediários aos das amostras 511 e 514, de forma que os valores de G' apresentaram-se na ordem $511 > 1014 > 514$, evidenciando a dependência de G' da concentração da dispersão e da proporção de pectina.

Para uma análise mais detalhada, os valores de G' , G'' e η^* foram comparados em baixa frequência (Tabela 6), onde o sistema apresenta configuração pouco perturbada.

Tabela 6 – Valores G' , G'' e η^* do teste oscilatório para as dispersões de alta amilose retrogradada (tensão 0,5 Pa e frequência 1 Hz).

AMOSTRAS	G' (Pa)	G'' (Pa)	η^* (Pa.s)
511G	0,3263	0,4527	0,0888
511P	0,4535	0,6955	0,1350
511S	1,3645	1,4010	0,3100
514G	0,0981	0,2920	0,0490
514P	0,0957	0,4050	0,0662
514S	0,1087	0,2200	0,0397
1014G	0,6405	1,7670	0,3000
1014P	0,5830	2,3370	0,3800
1014S	0,1500	0,6960	0,1100

Os valores apresentados na Tabela 6 confirmam as indicações dos espectros mecânicos de predominância de um comportamento viscoso, já que os valores de G'' foram sempre maiores do que os de G' . Além disso, indicam mais uma vez que a ausência de plastificantes nas dispersões favorece o módulo de armazenamento e, dessa maneira, contribui para uma rede mais rígida e mais estável (VIEIRA et al., 2011), com exceção da série 1014. Em relação à proporção de polímeros, os resultados confirmam a contribuição da pectina na formação de sistemas mais frágeis (KHONDKAR et al., 2007).

No intuito de se estabelecer uma análise quantitativa da dependência de G' da frequência foi determinado o valor de r a partir regressão linear dos dados obtidos a partir do espectro mecânico. Além disso, foi calculado o expoente n através da “Lei da Potência” (equação 7), o qual indica a estrutura dos sistemas obtidos (SAXENA et al., 2011):

$$G' = S\omega^n \quad \text{Equação 7}$$

Onde: G' é o módulo de armazenamento, ω é a frequência oscilatória e S é a resistência do gel, sendo n o expoente viscoelástico.

Segundo Saxena e colaboradores (2011), os parâmetros S e n são indicativos da densidade de reticulação no interior do gel, sendo que quanto mais alto for o valor de S , mais reticulada e forte será a estrutura do gel. Contrariamente, o valor de n diminui com o aumento da densidade de reticulação. Assim, valores de n altos indicam géis com estruturas mais fracas.

Tabela 7 – Valores de regressão linear (r), da resistência do gel (S) e do expoente viscoelástico (n) das dispersões de alta amilose e pectina (tensão 5 Pa).

AMOSTRAS	r	S	n
511G	0,9875	0,0997	0,6971
511P	0,9801	0,1674	0,5105
511S	0,9783	0,6769	0,3756
514G	0,8962	0,0013	2,3222
514P	0,6213	$4,73 \cdot 10^{-7}$	6,1891
514S	0,5873	$2,72 \cdot 10^{-7}$	7,0123
1014G	0,9970	0,1040	0,9879
1014P	0,9874	0,3053	0,8120
1014S	0,9951	0,0129	1,2876

Uma vez que o valor de r resulta do ajuste dos dados do reograma para uma linha reta, quanto mais esse valor se aproximar de 1, menos dependente da velocidade

angular será a amostra. De acordo com os dados da Tabela 7, as amostras da classe 1014 apresentaram valores de r superiores aos das outras amostras, indicando a formação de um gel com rede mais forte e estrutura mais organizada. Confirmando os resultados obtidos no espectro mecânico, as amostras da série 514 foram as que tiveram os menores valores de r , evidenciando que a pectina contribui para a formação de sistemas menos organizados (KHONDKAR, 2007).

Estabelecendo-se uma análise análoga àquela determinada por Saxena e colaboradores (2011) para estruturas reticuladas, pode-se notar que, de acordo com os valores apresentados na Tabela 7, a amostra 511S foi a que deu origem a géis mais fortes (maior valor de S e menor valor de n), o que está em concordância com os indicativos dos espectros mecânicos. Por outro lado, as dispersões com estruturas mais fracas são representadas pelas amostras a 5% e com maior proporção de pectina (série 514) (menores valores de S e os maiores valores de n).

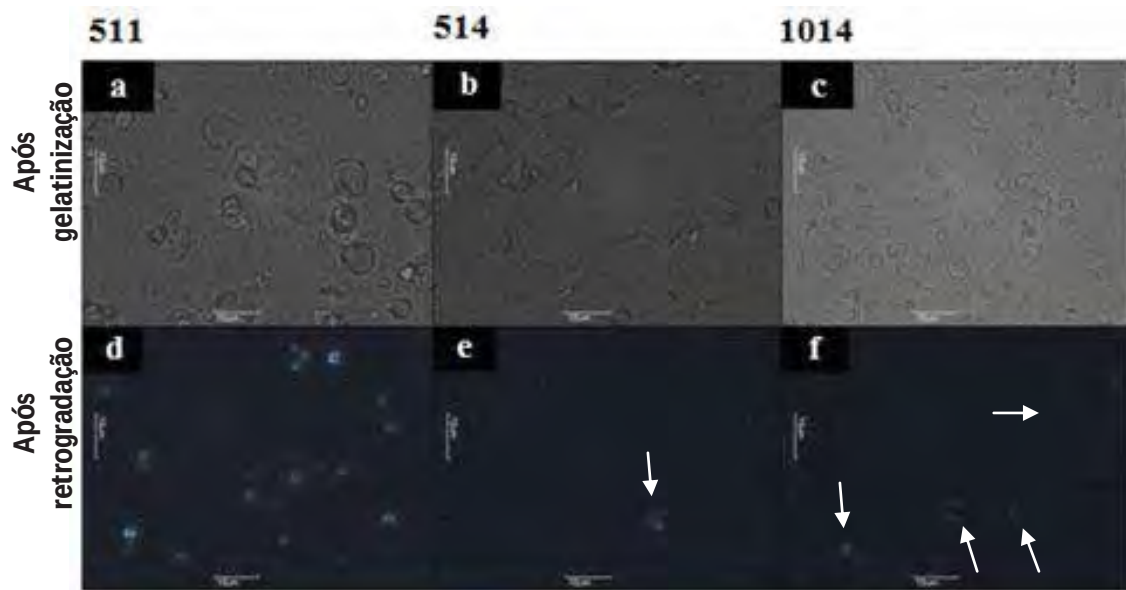
Em relação aos plastificantes, dentro da série 511, a amostra que apresentou o maior valor de S e, portanto, deu origem a uma rede mais forte, foi aquela isenta de plastificantes, uma vez que esse tipo de substância geralmente leva à formação de uma rede mais fraca e menos estável (VIEIRA et al., 2011). O mesmo não foi observado para as séries 514 e 1014, nas quais as amostras que mais se aproximaram de um gel forte foram aquelas que continham plastificantes.

5.4 Birrefringência das dispersões

A birrefringência (ou dupla refração) da alta amilose é um indicativo da orientação radial média das estruturas helicoidais e sua intensidade depende de diversos fatores, como a orientação e a forma do grânulo (PEI-LING et al., 2012).

A figura 14 mostra os padrões de birrefringência das amostras após os processos de gelatinização e retrogradação, sendo que aquelas que não se mostraram birrefringentes foram fotografadas sob luz normal.

Figura 14 – Fotomicrografias de diferentes dispersões de alta amilose/pectina sob luz normal e luz polarizada.



Setas indicam a presença de cruzes de Malta.

Por ser semicristalina, a alta amilose apresenta padrões de birrefringência característicos, os quais podem ser perdidos após tratamentos hidrotérmicos (XIE et al., 2006). Tal comportamento foi verificado após aquecimento das dispersões de alta amilose/pectina a 121°C por 120 min (gelatinização) (figura 14a, 14b e 14c), no qual houve perda de birrefringência, uma vez que o aquecimento em presença de água ocasiona a ruptura dos grânulos e fusão dos cristalitos. Contrariamente, as dispersões retrogradadas mostram-se birrefringentes (figuras 14d, 14e e 14f), o que é demonstrado pelo surgimento de cruzes de Malta, as quais indicam que a alta amilose sofreu recristalização durante o armazenamento e que os cristalitos de amilopectina estão arranjados radialmente dentro dos grânulos e de maneira simétrica (AMBIGAIPALAN et al., 2011).

Amostras com mesma proporção de polímeros (14d) mostraram-se altamente birrefringentes, enquanto que as amostras com menor proporção de alta amilose (14e e 14f), provavelmente por originarem menor quantidade de amido resistente, exibiram uma diminuição da birrefringência. Além disso, amostras com birrefringência fraca podem apresentar certa desorganização das duplas hélices da amilopectina dentro dos grânulos (AMBIGAIPALAN et al., 2011).

5.5 Exame macroscópico dos filmes

É fundamental verificar as características morfológicas dos filmes, como presença de bolhas de ar e/ou fissuras, pois a integridade do filme garantirá a reprodutibilidade e a execução de outras análises, principalmente dos ensaios de permeabilidade (MAIOR et al., 2008).

Na análise macroscópica dos filmes, foram avaliados (i) a transparência, (ii) a flexibilidade, (iii) a presença de bolhas de ar, (iv) a presença de fissuras e (v) a aspereza. Os resultados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Principais características macroscópicas dos filmes.

FILMES	Transparência	Flexibilidade	Bolhas	Fissuras	Aspereza
511G	+++	++	0	0	0
511P	+++	++	0	0	0
511S	+++	++	0	0	0
514G	++	+++	0	0	+
514P	++	+++	0	0	+
514S	++	+++	0	0	+
1014G	+	+	+	0	++
1014P	+	+	+	0	++
1014S	+	+	+	0	++

0: ausente; +: baixo; ++: médio; +++: alto.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 8, é possível notar que os filmes obtidos com menor concentração de polímero (511 e 514) apresentaram maior transparência, particularmente aqueles obtidos com a mesma proporção de polímeros (amilose e pectina), o que demonstra a influência da concentração e da proporção entre os polímeros.

Em relação à flexibilidade, observou-se que os filmes da série 514 foram os mais flexíveis e fáceis de manusear, característica essa relacionada à menor proporção de alta amilose, que os torna menos rígidos (LÓPEZ et al., 2008). Já os filmes da série 1014, devido à maior concentração polimérica, mostraram-se menos flexíveis e, portanto, mais quebradiços.

A ocorrência de algumas bolhas observadas nos filmes 1014G, 1014P e 1014S pode ser atribuída à maior viscosidade das dispersões filmógenas, que dificulta sua remoção pelo tratamento utilizado nesse trabalho (banho de ultrassom). Devido a essa mesma razão, esses filmes mostraram uma superfície mais aspera. Rachaduras não foram observadas macroscopicamente em nenhum dos filmes estudados.

Os dados apresentados na Tabela 8 permitem concluir que os filmes obtidos pelo método 2 (selecionado) são homogêneos e íntegros, características essas fundamentais para garantir reprodutibilidade das análises subsequentes, bem como para evitar uma liberação prematura do fármaco antes de chegar ao cólon. Além disso, é um indicativo de que a metodologia utilizada é apropriada e compatível com uma boa dispersão dos constituintes.

A presença e o tipo de plastificante não influenciaram as características macroscópicas dos filmes.

5.6 Determinação da espessura dos filmes

A espessura é fator que influencia várias propriedades dos filmes de revestimento. McHugh e colaboradores (1993) observaram que o aumento da espessura de filmes levou à maior resistência a transferência de massa através dele e, conseqüentemente, o equilíbrio parcial de pressão de água na superfície mais interna do filme também aumentou. Outros autores atribuíram o efeito da espessura no intumescimento do filme como resultado de forças atrativas entre o polímero e a água (PARK et al., 1993).

Os valores de espessura média dos filmes estão expressos na Tabela 9. Estando uma dispersão filmógena depositada em um substrato, a evaporação do solvente durante a secagem leva à deposição de massa polimérica, cuja espessura está relacionada, dentre outros fatores, com a concentração da dispersão (BERTUZZI et al., 2007). Assim, filmes obtidos de dispersões com maior concentração de polímeros (1014) mostraram-se mais espessos, enquanto que os da série 511 e 514 foram mais finos (Tabela 9).

Tabela 9 – Espessura dos filmes (média $\pm$ desvio padrão; n=6)

FILMES	ESPESSURA (mm)
511G	0,055 $\pm$ 0,003
511P	0,051 $\pm$ 0,007
511S	0,047 $\pm$ 0,005
514G	0,045 $\pm$ 0,004
514P	0,035 $\pm$ 0,009
514S	0,064 $\pm$ 0,005
1014G	0,112 $\pm$ 0,003
1014P	0,149 $\pm$ 0,023
1014S	0,166 $\pm$ 0,021

As dispersões de alta amilose, quando contêm plastificantes, originam filmes mais espessos, devido à rápida capacidade de penetração do plastificante na estrutura desse polissacarídeo (GALDEANO et al., 2009). No entanto, nesse estudo, os filmes não plastificados pertencentes às séries 514 e 1014 mostraram-se mais espessos, enquanto que a série 511 não mostrou diferenças significativas ($p>0,05$).

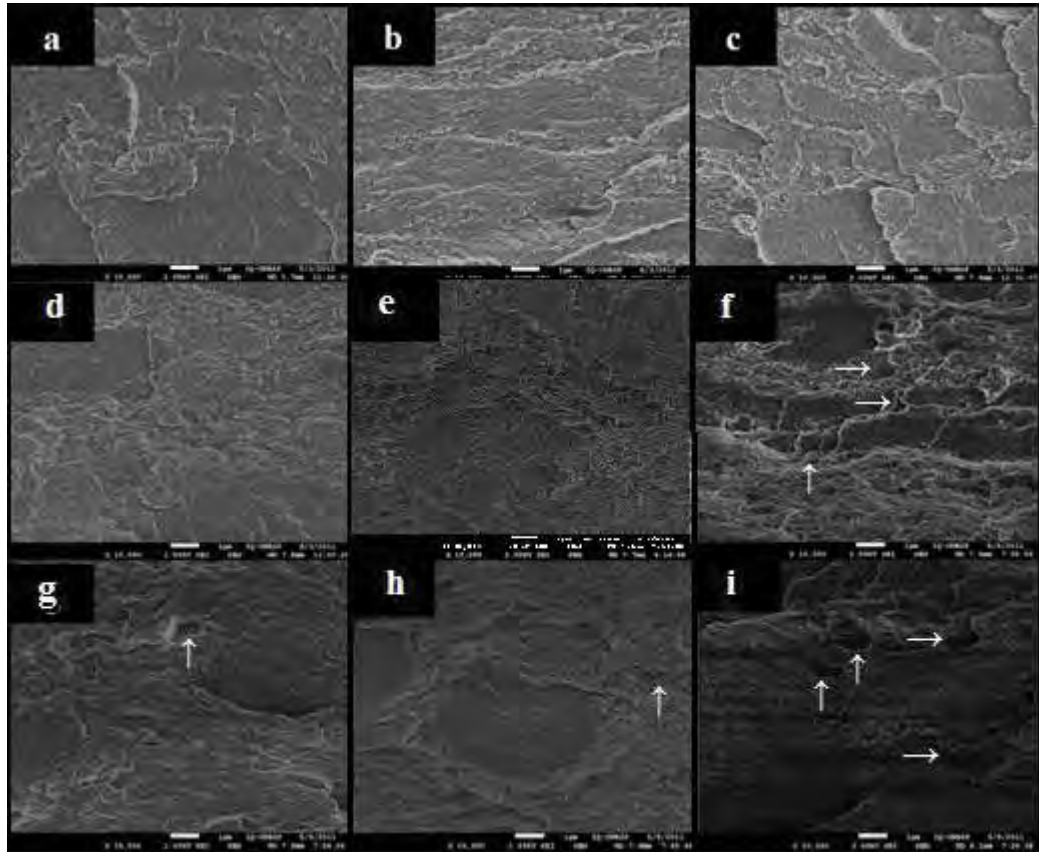
5.6.1 Microscopia eletrônica de varredura de campo ampliado de alta resolução (MEV-FEG)

A microscopia eletrônica de varredura permite avaliar qualitativamente a morfologia dos filmes livres, uma vez que essa importante técnica fornece imagens detalhadas da sua superfície (FREIRE et al., 2009b). Além disso, os estudos de morfologia podem fornecer informações sobre a miscibilidade de misturas poliméricas (WANG; COMPOSTO, 2003).

Dependendo da natureza do hidrocolóide, das interações entre os componentes da dispersão filmógena e do processo de secagem do filme, seus componentes (polissacarídeos, plastificantes e água) podem se arranjar de diversas maneiras nos filmes secos. A evaporação de água durante a secagem do filme pode induzir alterações estruturais na dispersão, como o aumento da concentração e da viscosidade, o que afeta sua estabilidade (JIMÉNEZ et al., 2012).

As diferenças morfológicas dos filmes de alta amilose retrogradada e pectina foram investigadas por MEV-FEG. As fotomicrografias exibidas nas Figuras 15 e 16 correspondem à superfície dos filmes e às suas seções transversais, respectivamente.

Figura 15 – Fotomicrografias obtidas por MEV-FEG (10000x) das superfícies dos filmes.



511G (a), 511P (b), 511S (c), 514G (d), 514P (e), 514S (f), 1014G (g), 1014P (h), 1014S (i).

Setas indicam a presença de poros.

De maneira geral, todos os filmes apresentaram uma estrutura em escamas, provavelmente devido à formação de partículas floculadas dos polímeros na dispersão. Khunawattanakul e colaboradores (2011) encontraram estruturas em escamas nos seus filmes de quitosana e silicato de alumínio e magnésio e atribuíram essa morfologia ao método utilizado para a obtenção de filmes, evaporação do solvente, o mesmo usado no presente trabalho.

A formação de estruturas em escamas geralmente contribui para a redução de transferência de massa através do filme, uma vez que elas representam uma resistência perpendicular ao fluxo de massa (JIMÉNEZ et al., 2012).

A análise das fotomicrografias (Figura 13) permite observar que os filmes 514S e 1014S (15f e 15i), sem plastificantes, apresentaram superfície mais irregular, com a presença de mais poros. Esses filmes mostraram-se frágeis e difíceis de serem removidos das placas de Petri.

A alta amilose (HYLON VII) é composta por 70% de amilose e 30% de amilopectina e, devido a sua composição, esse amido modificado tem uma baixa temperatura de gelatinização e alta capacidade de intumescimento. Dessa maneira, devido ao intumescimento intenso, grande parte dos grânulos não se rompe, formando agregados na superfície filmógena. Esses agregados interferem na coalescência dos polímeros e contribui para a fragilidade dos filmes (FREIRE et al., 2009b).

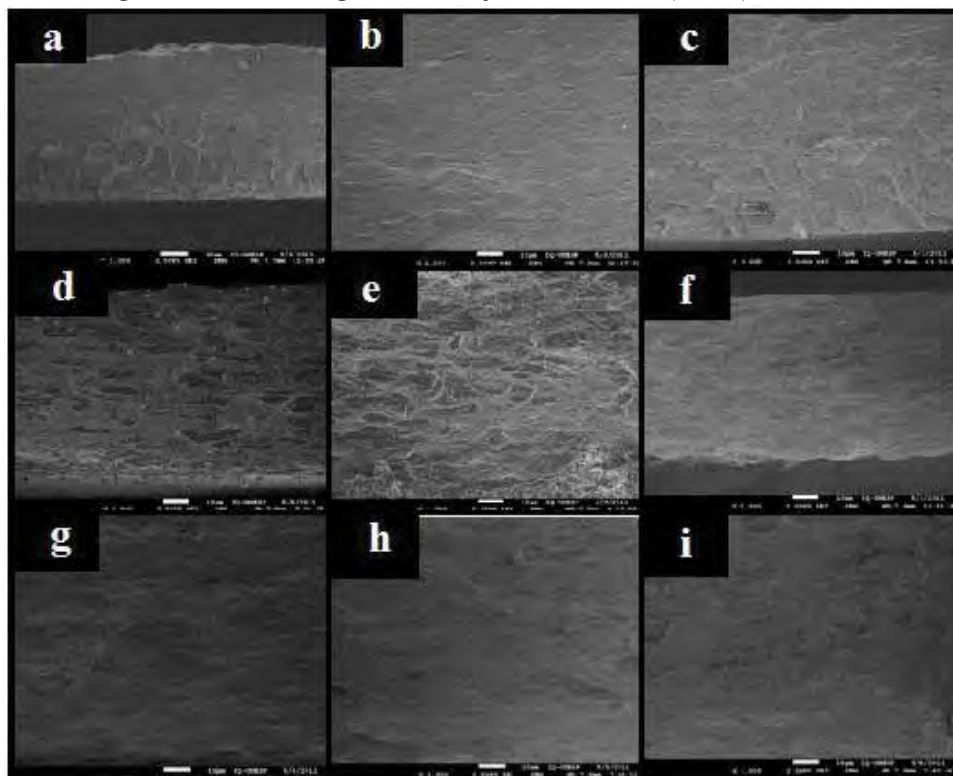
Os filmes contendo glicerina ou propilenoglicol (15a, 15b, 15d, 15e, 15g, 15h) apresentam uma estrutura lisa, contínua e não foram observadas partículas não-gelatinizadas, o que pode ser atribuído a uma ótima interação polímero-plastificante, bem como à capacidade dos plastificantes de reduzir as forças intermoleculares ao longo das cadeias, aumentando a flexibilidade e a mobilidade inter-cadeias (VIEIRA et al., 2011; LIN et al., 2000). A glicerina, particularmente, é conhecida por penetrar nas cadeias de polissacarídeos e interromper as ligações de hidrogênio inter e intra-moleculares, formando uma fase contínua de filme plastificado (WU et al., 2009).

Comportamento semelhante foi observado por Ghanbarzadeh e colaboradores (2007) em estudos com filmes protéicos, nos quais a presença de fissuras e poros foi atribuída à ausência de plastificantes.

Em relação à proporção de polímeros, a maior proporção de pectina nos filmes 514P (Figura 15e) e 514S (Figura 15f) tornou as superfícies mais rugosas do que as dos respectivos filmes obtidos com proporções iguais de polímeros (511P e 511S). Farris e colaboradores (2011) também observaram superfície mais irregular em filmes de gelatina, quando continham pectina.

Filmes obtidos com maiores concentrações de polímeros (15g, 15h e 15i), revelaram uma superfície irregular, com a presença de poros e rachaduras. Tal característica se deve, muito provavelmente, à formação de uma rede polimérica mais compactada e rígida (como comprovado pelos maiores valores de dureza das dispersões filmógenas a 10%), que se torna quebradiça.

Figura 16 – Fotomicrografias das seções transversais (1000x) dos filmes.



511G (a), 511P (b), 511S (c), 514G (d), 514P (e), 514S (f), 1014G (g), 1014P (h), 1014S (i).

As fotomicrografias das seções transversais dos filmes são apresentadas na Figura 16. Como se pode observar, não houve diferenças significativas na morfologia das seções transversais dos filmes que continham ou não plastificantes em sua composição. No entanto, filmes obtidos com concentrações e proporções diferentes de polímeros apresentaram estruturas distintas. Os pertencentes à classe 511 foram contínuos e não revelaram presença de poros, porém o aumento da proporção de pectina (514) levou à formação de uma matriz descontínua, com poros distribuídos aleatoriamente. Segundo Fishman e colaboradores (1993), quando uma solução concentrada de pectina é seca, ocorre formação de lâminas descontínuas e achatadas, com subunidades interconectadas, sendo que essas subunidades dão origem a redes abertas de espaços poligonais. Já os filmes a 10%, apesar de também possuírem poros nas seções transversais, estão arranjados de maneira mais compactada, uma vez que é visível a presença de estruturas contínuas atrás desses poros, o que deve resultar do maior empacotamento das cadeias atingido com essa maior concentração (ALVES et al., 2007).

As análises acima sugerem, portanto, que a adição de plastificantes às dispersões contribui para a redução de imperfeições na superfície dos filmes.

5.7 Propriedades mecânicas dos filmes

A interação entre polímeros, solvente e plastificantes dá origem a uma estrutura suporte que é responsável pelas propriedades mecânicas dos filmes. Esses devem apresentar resistência mecânica adequada que possibilite o processamento, armazenamento e estocagem sem que haja fraturas ou quebras, o que inviabilizaria o processo de revestimento (MURILLO-MARTÍNEZ et al., 2011).

Durante os testes de resistência mecânica, um suporte metálico se move em velocidade constante em direção ao centro do filme até que ocorra a ruptura. Inicialmente, ocorre uma deformação elástica, na qual a tensão é proporcional à deformação, seguida da deformação plástica e, após um ponto de cedência, dá-se a ruptura do filme (FELTON, 2007).

Os resultados do teste de resistência mecânica dos filmes são apresentados na Tabela 10. Os filmes obtidos com menor concentração de polímeros (511 e 514) mostraram-se mais resistentes mecanicamente (maiores valores de R_p). Essa menor concentração de polímeros deve ser responsável pela formação de uma rede menos compactada, com grandes espaços intermoleculares que devem permitir um extenso rearranjo estrutural em razão da aplicação de uma tensão antes que o ponto de cedência seja atingido (FELTON, 2007).

Tabela 10 – Propriedades mecânicas dos filmes.

Filmes	(R_p) (MPa)	(A_p) (%)	(E_p) (kJ m ³)
511G	24,329±2,355	1,071±0,025	145,725±21,202
511P	20,881±8,676	0,999±0,005	64,049±24,870
511S	16,259±5,031	0,997±0,009	48,617±18,749
514G	20,721±2,211	1,069±0,010	126,938±9,083
514P	26,441±1,358	1,107±0,041	122,034±48,481
514S	29,354±2,659	1,045±0,046	134,870±14,445
1014G	10,584±6,609	1,066±0,053	37,252±6,791
1014P	10,793±1,898	1,101±0,051	27,662±3,392
1014S	8,896±0,974	1,021±0,011	13,549±1,288

R_p : resistência à perfuração; A_p : alongamento durante a perfuração; E_p : energia na perfuração por unidade de volume.

Os filmes obtidos com maior concentração de polímeros (1014), ao contrário, apresentaram-se menos resistentes mecanicamente, provavelmente devido à formação de uma estrutura altamente compactada, com reduzidos espaços intermoleculares que não permitiram um suficiente rearranjo estrutural traduzido pela deformação plástica, atingindo mais rapidamente o ponto de cedência e caracterizando uma estrutura mais frágil. Comportamento semelhante foi relatado por Al-Hassan e Norziah (2012), que observaram que o aumento da concentração de polímeros ocasionou a diminuição da resistência mecânica em filmes comestíveis de amido e gelatina.

No entanto, nas séries 511 e 514, as diferenças entre os valores de R_p não foram significativas ($p > 0,05$), indicando que, nessas condições, a presença e o tipo de plastificante não influenciou esse parâmetro. O mesmo foi verificado para os filmes da série 1014. Em relação à proporção de polímeros, observou-se que a pectina, em maiores proporções nos filmes da série 514 em relação à série 511, aumenta a resistência à perfuração apenas no filme sem plastificante (514S).

Os resultados de E_p estão de acordo com os de R_p , uma vez que os filmes que exibiram maior gasto de energia na perfuração (511 e 514) foram os mesmos que mostraram maior R_p , enquanto os filmes com menor R_p (1014) apresentaram também os menores valores para E_p . A presença de plastificantes não interferiu nos valores de E_p , com exceção da amostra 511G, que apresentou E_p significativamente maior que o da amostra 511S. A diferente proporção de pectina não influenciou significativamente nesse parâmetro ($p > 0,05$).

O alongamento durante a perfuração (A_p) mede a plasticidade dos filmes, ou seja, sua capacidade de extensão antes da ruptura (SILVA et al., 2009). Os valores de A_p não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), com exceção das amostras 511P e 514P, nas quais a maior proporção de pectina resultou em maiores valores de A_p .

5.8 Determinação do perfil de intumescimento

O estudo do intumescimento de filmes de revestimento é muito importante, uma vez que ajuda a prever a hidrofília desses materiais, essencial para o acesso das enzimas bacterianas das porções terminais do TGI e degradação do revestimento quando em

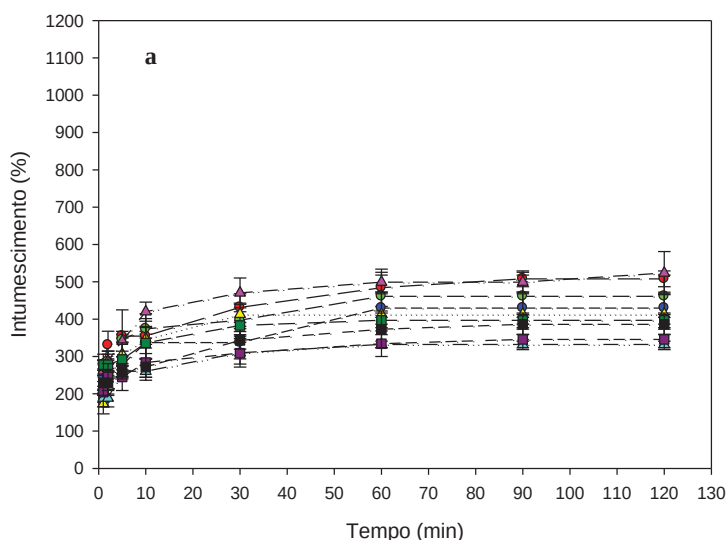
contato com os fluidos biológicos, além de ser ferramenta valiosa na elaboração de modelos matemáticos que descrevem a cinética de liberação (MAIOR *et. al*, 2008).

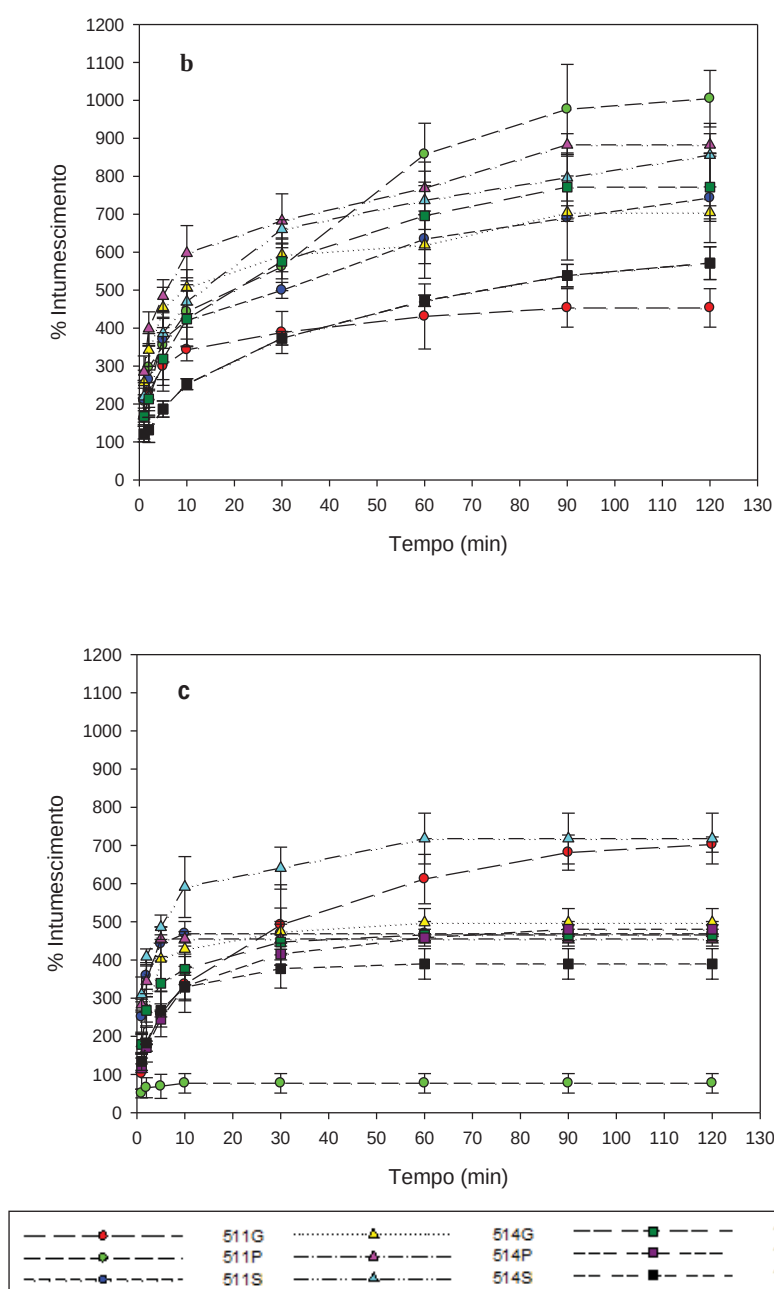
O intumescimento dos filmes ocorre em uma sequência de etapas. Num primeiro momento, há o umedecimento da superfície do filme, seguido da hidratação das moléculas de polímero e o desenovelamento das cadeias de maneira lenta e contínua, até que os filmes se tornam totalmente intumescidos. Dentre os fatores que alteram esse comportamento estão a rigidez intrínseca dos polímeros, a extensão do seu enovelamento e associações inter e intra-moleculares (SRIAMORNSAK; KENNEDY, 2008).

Foi avaliada a influência da concentração e da proporção de polímeros, bem como da adição de glicerina e de propilenoglicol, no intumescimento em diferentes meios que simulam o TGI: meios gástrico, entérico e colônico - HCl 0,1N, tampão fosfato pH 7,4 e tampão fosfato 6,0, respectivamente.

Os perfis de intumescimento representados na Figura 17 mostram os diferentes comportamentos das amostras nos três meios estudados.

Figura 17 – Perfil de intumescimento em diferentes meios.





Meios: (a) meio gástrico simulado pH 2,0, (b) meio entérico simulado pH 7,4 e (c) meio colônico simulado pH 6,0.

Observa-se, num primeiro momento, que os filmes (com exceção da amostra 511G), de maneira geral, apresentaram menor intumescimento em meio ácido e máximo intumescimento no meio tamponado pH 7,4. Esse comportamento é característico de polímeros aniônicos, porque ocorre aumento na capacidade de intumescimento em função do aumento do pH, ocasionado pela ionização dos grupos carboxílicos, que leva à repulsão das cadeias e expansão da rede, sendo esses espaços, então, ocupados pela

água. De maneira análoga se explica o baixo intumescimento em meio gástrico (pH 2), já que os grupos carboxílicos permanecem na forma protonada, diminuindo a hidrofília do sistema (MULHBACHER et al., 2004).

O comportamento de intumescimento pH-dependente verificado mostra-se muito interessante, pois deve contribuir para evitar a liberação prematura de fármaco nas porções superiores do TGI que possui baixo pH (MAIOR et al., 2008).

Os percentuais de intumescimento atingidos no equilíbrio (120 min) são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Intumescimento (%) no equilíbrio (120 min) em diferentes meios.

Filmes	Meio Ácido (HCl 0,1N, pH 2,0)	Tampão fosfato pH 7,4	Tampão fosfato pH 6,0
511G	508,027±11,284	453,165±50,678	702,372±19,912
511P	461,211±56,714	1004,428±74,537	76,926±25,603
511S	429,505±42,788	742,621±117,281	468,574±32,129
514G	413,198±54,631	704,979±17,162	497,928±36,548
514P	523,311±57,835	882,767±29,596	455,167±10,584
514S	332,017±8,851	855,774±83,572	717,877±66,555
1014G	396,771±19,740	771,352±90,175	465,637±14,889
1014P	345,665±27,369	571,117±43,157	480,466±11,923
1014S	385,871±26,481	488,473±66,103	389,715±40,000

Em meio entérico simulado (pH 7,4), os filmes 511P, 514P e 1014G apresentaram os maiores valores de intumescimento, indicando que esse comportamento é favorecido pela presença de plastificantes. Segundo Farris e colaboradores (2011), os plastificantes pertencentes à classe dos polióis, devido a sua natureza polar, levam ao aumento do volume livre entre as moléculas adjacentes e aumentam sua afinidade pela água, favorecendo, portanto, a hidrofília e o intumescimento.

Em relação à proporção de polímeros, os filmes com maior proporção de pectina (1:4) têm a tendência de intumescerem mais, o que pode ser atribuído à elevada hidrossolubilidade da pectina, que sofre conversão dos ânions carboxilato em grupos carboxílicos livres (GUIMARÃES et al., 2008; SINHA; KUMRIA, 2001).

Considerando que um fator limitante para o intumescimento é a extensão do enovelamento das cadeias poliméricas, observou-se que os filmes com menor concentração de polímeros (série 511 e 514) exibiram maior capacidade de intumescimento, comportamento atribuído à estrutura mais frouxa e flexível, que

favorece a entrada de água. Já o menor intumescimento apresentado pelos filmes mais concentrados (série 1014) está de acordo com sua maior rigidez, ou seja, a rede mais densa dificulta a entrada de água e leva, dessa maneira, a um menor grau de intumescimento (SRIAMORNSAK, 2002).

A amostra 1014S não apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) em função da variação de pH.

5.9 Análise de permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

O estudo de permeabilidade ao vapor d'água nos ajuda a entender os mecanismos de transferência de massa/soluto e as interações poliméricas que podem ocorrer nos filmes de revestimento. É ferramenta importante na verificação da proteção que um revestimento oferece à forma farmacêutica contra a umidade do ambiente durante sua estocagem (BERTUZZI et al., 2007; AKAHGARI et al., 2006).

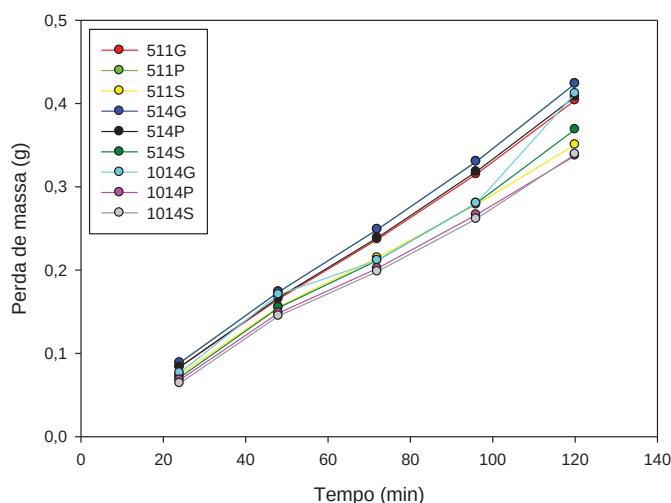
A permeabilidade de um filme é influenciada por diversos fatores, sendo os mais importantes a natureza hidrofóbica ou hidrofílica do material, presença de fissuras ou poros e sua tortuosidade na estrutura do filme (GHANBARZADEH et al., 2007).

O filme de revestimento, ao absorver água, modifica sua estrutura aumentando a flexibilidade e permeabilidade. Uma vez que os plastificantes apresentam o mesmo mecanismo de alteração estrutural que a água, sua adição às dispersões filmógenas pode levar à alteração da permeabilidade, aumentando-a ou diminuindo-a, dependendo da concentração em que é utilizado (GHANBARZADEH et al., 2007).

Outro fator que tem influência nos valores de PVA é a quantidade de amilose contida nos grânulos do amido utilizado para a obtenção dos filmes. Alves e colaboradores (2007) observaram que o aumento da concentração de amilose leva ao aumento da PVA, o que pode estar relacionado com o maior número de grupos hidroxílicos livres que podem favorecer as interações com a água.

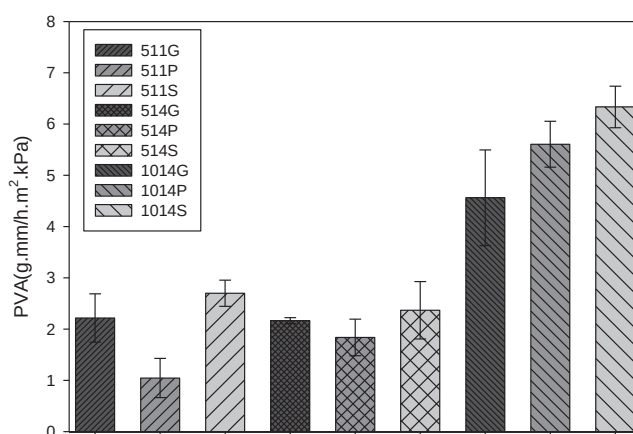
De acordo com a Figura 18, a taxa de transmissão de vapor d'água foi constante para a maioria dos filmes livres de alta amilose retrogradada e pectina, demonstrando uma relação aproximadamente linear entre perda de massa e tempo.

Figura 18 – Perfil da perda de massa de filmes de alta amilose retrogradada e pectina.



Observa-se (Figura 19) que filmes obtidos a partir de dispersões mais concentradas (1014G, 1014P e 1014S) apresentaram maior permeabilidade ao vapor de água do que os filmes obtidos com dispersões menos concentradas (série 511 e 514). Segundo McHugh e colaboradores (1993), filmes com maior concentração de polímeros são mais espessos e, por isso, podem absorver mais moléculas de água do ambiente. Dessa maneira, os filmes com maior concentração polimérica podem ser mais higroscópicos e favorecer a permeabilidade ao vapor de água.

Figura 19 – Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) de filmes livres.



Além disso, as fotomicrografias revelaram que os filmes da série 1014, por serem mais compactos e quebradiços, apresentaram estrutura irregular, com presença de poros e rachaduras que podem também favorecer a transmissão de vapor d'água.

Segundo Wang e colaboradores (2011), a PVA é totalmente dependente da integridade dos filmes.

Apesar de os plastificantes hidrofílicos favorecerem a permeabilidade, os filmes contendo esses compostos exibiram melhores propriedades de barreira do que os filmes sem plastificantes, uma vez que apresentaram menores valores de PVA. Esse efeito pode ser explicado pela teoria do volume livre dos polímeros, na qual um plastificante, em baixa concentração, intercala-se na cadeia polimérica sem levar ao aumento de espaço, diferentemente de quando está em altas concentrações. Ainda, a adição de plastificantes originou uma estrutura mais íntegra e homogênea, reduzindo a ocorrência de poros, que são facilitadores da permeabilidade (LÓPEZ et al., 2008; ZELKÓ et al., 2002).

A proporção de polímero e o tipo de plastificante não tiveram influência significativa nos valores de PVA ($p > 0,05$).

5.10 Difração de raios-X

A técnica de difração de raios-X é muito utilizada para estudar a estrutura de substâncias cristalinas e determinar a presença de picos de cristalinidade, característicos de cada material. Nos géis de amido, os estudos de DRX, suplementados com dados de outras técnicas, mostram claramente o desenvolvimento de cristalinidade durante seu armazenamento (PANI et al., 2010; KARIM et al., 2000).

A caracterização estrutural por essa técnica é possível pela combinação de dois fenômenos: o espalhamento devido a cada átomo individualmente e a interferência das ondas espalhadas por esses átomos. Cada átomo emite uma onda que é coerente com a radiação incidente, e essas ondas interferem umas com as outras, para que haja uma difração refratada cuja intensidade depende da direção de observação (BARROSO et al., 2002).

O padrão de difração de um material cristalino registra a intensidade dos raios-X em função do ângulo de espalhamento. Devido aos átomos formarem uma matriz regular, as ondas difratadas podem se reforçar em certos ângulos de difração e anular-se mutuamente em todos os outros ângulos. Assim, os picos de interferência são formados nesses ângulos (BARROSO et al., 2002).

Os materiais sólidos são considerados cristalinos, amorfos ou semicristalinos e difratam com facilidade os raios-X. O grau de cristalinidade de um polímero depende da

mobilidade das cadeias durante o processo de cristalização. Seus difratogramas mostram partes bem definidas, que correspondem aos domínios cristalinos, ou seja, às regiões ordenadas da amostra, e verifica-se, também, a existência de acentuados halos amorfos (FU et al., 2011; CANEVAROLO Jr., 2004).

Qualquer material cristalino imerso em um feixe de raios-X difrata ao longo de determinadas direções, de acordo com a lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d\sin\theta_B \quad \text{Equação 8}$$

onde: $n = 1$ (reflexão de primeira ordem), d é o espaço interplanar dos planos cristalográficos, θ_B é o ângulo de Bragg e λ é o comprimento de onda da radiação utilizada.

Dessa maneira, a radiação penetrante num material e os efeitos de interferência resultantes do espalhamento provocado pela sua estrutura são essenciais para o estudo da estrutura interna de um material cristalino (BILLMEYER Jr., 1984).

Nesse trabalho, as análises de difração de raios-X foram realizadas nos filmes de alta amilose retrograda e pectina com e sem adição de plastificantes, nas misturas físicas desses dois polímeros e nos polímeros isolados, com o intuito de avaliar as diferenças da cristalinidade entre as amostras estudadas.

Os padrões de difração das amostras são exibidos nas Figuras de 20 a 23.

Figura 20 – Difratogramas dos polímeros isolados.

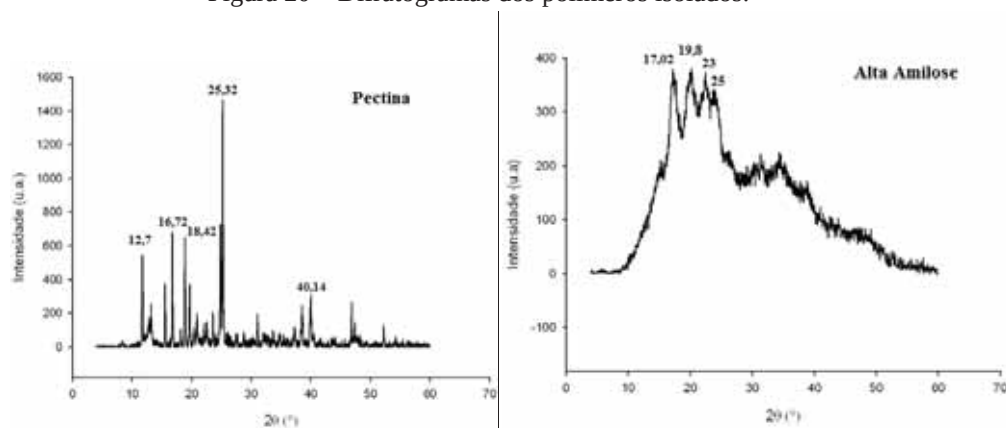


Figura 21 – Difratomogramas das misturas físicas de alta amilose e pectina.

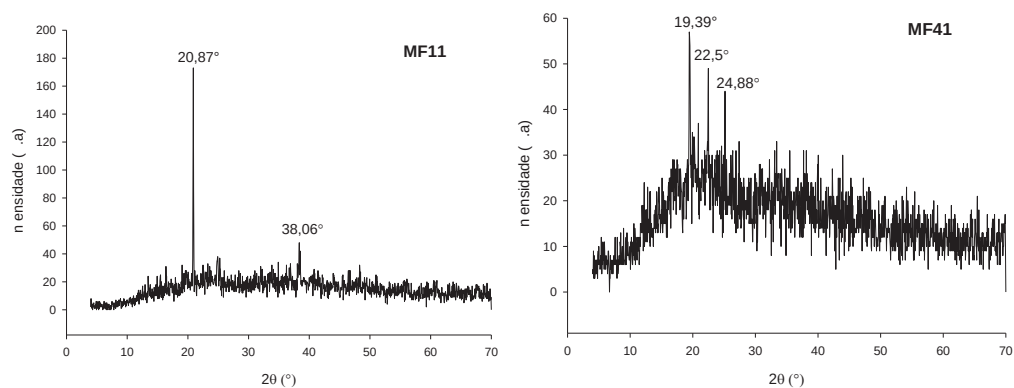


Figura 22 – Difratomogramas dos filmes de alta amilose retrograda e pectina sem plastificantes.

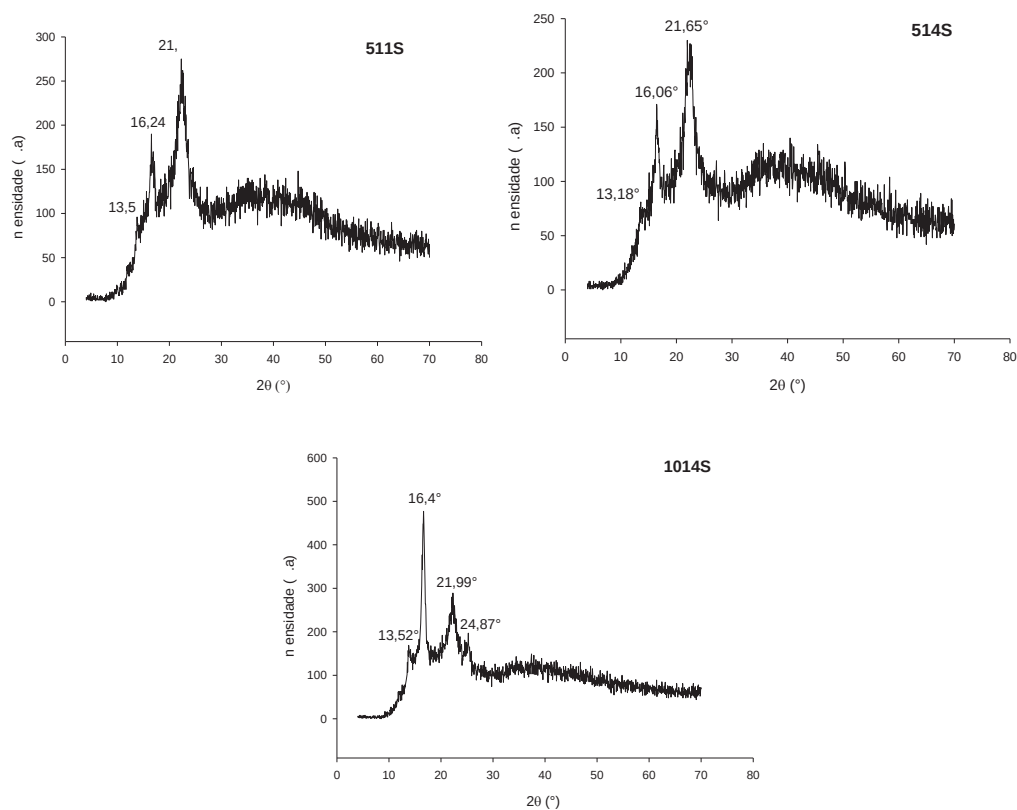
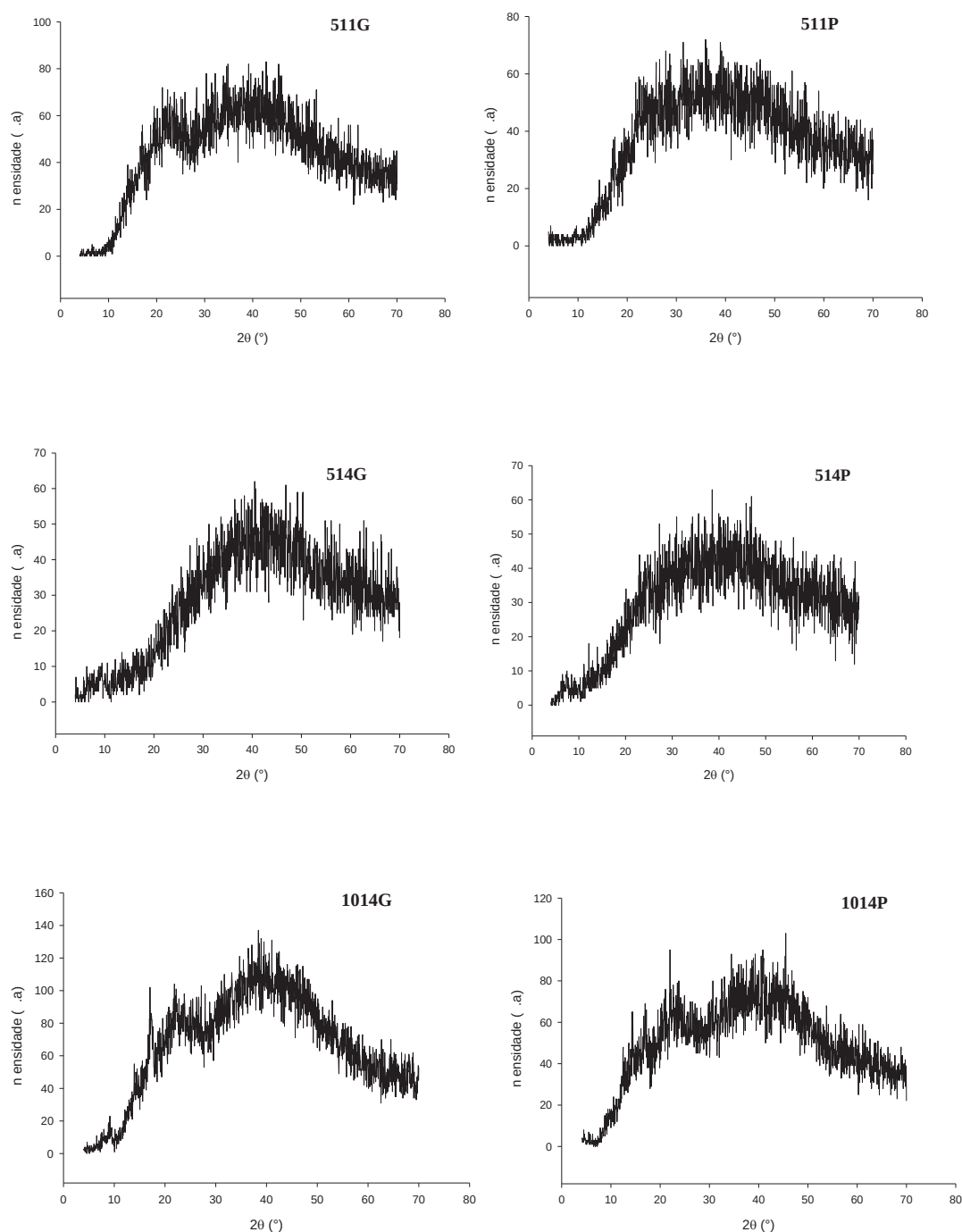


Figura 23 – Difratomogramas dos filmes de alta amilose retrograda e pectina plastificados.



Katz (1934), em seus estudos com o amido voltados para a panificação, foi, provavelmente, o primeiro a mostrar por DRX que o cozimento do amido leva à formação de padrões amorfos; porém, quando sob armazenamento, desenvolve cristalinidade. Esse retorno do estado amorfo para o cristalino foi denominado pelo autor de retrogradação e ele sugeriu, ainda, que todos os amidos, independentemente de

apresentarem padrão tipo A ou B no seu estado natural, formam géis que desenvolvem um padrão B após o armazenamento.

Dessa maneira, a cristalinidade dos grânulos deve-se, principalmente, às cadeias curtas de amilopectina, as quais formam duplas hélices que se associam formando as micelas cristalinas. É provável que uma grande parte de amilose seja encontrada na parte amorfa, enquanto que uma pequena porção está associada com a parte cristalina. Tem sido sugerido que parte da amilose co-cristaliza com as cadeias curtas de amilopectina dentro da micela cristalina (KARIM et al., 2000).

O amido, sendo parcialmente cristalino, origina distintos padrões de difração de raios-X. As estruturas A, B e C consistem de dupla hélice, enquanto o tipo V diz respeito à estrutura em hélice simples, resultante da complexação da amilose com alguns componentes, como água, butanol, iodo e ácidos graxos. Segundo KARIN e colaboradores (2000), um padrão tipo A é exibido pelos amidos de cereais, enquanto que o tipo B é exibido por tubérculos, frutas, alta amilose de milho e amido retrogradado. O padrão tipo C é intermediário dos tipos A e B e é observado em amidos de sementes de leguminosas (RIOUX et al., 2002).

No difratograma dos polímeros isolados (Figura 20), a pectina exibiu uma série de picos intensos e bem definidos, em $12,7^\circ$, $16,72^\circ$, $18,42^\circ$, $25,32^\circ$ e $40,14^\circ$ (2θ), evidenciando sua cristalinidade. A alta amilose (HYLON VII) exibiu picos em $17,02^\circ$, $19,8^\circ$, 23° e 25° (2θ), característicos de estrutura cristalina tipo B, sendo que a maior intensidade encontrada em 19° sugere uma estrutura cristalina altamente ordenada de complexos de lípideos-amilose nos grânulos de amido (FREIRE et al., 2009a; MISHRA et al., 2008).

Nos difratogramas das misturas físicas (Figura 21), observa-se que a cristalinidade foi mantida para a MF11, porém com desaparecimento dos picos característicos da pectina e alta amilose e dando origem a outros em $20,87^\circ$ e $38,06^\circ$ (2θ). Já para a MF41, observa-se a predominância de estrutura cristalina tipo B, devido à maior proporção de alta amilose, à qual se atribui esse padrão, porém com um pequeno deslocamento de ângulo, sendo os picos observados em $19,39^\circ$, $22,5^\circ$ e $24,88^\circ$ (2θ). A evidência de cristalinidade tipo V (pico em $19,8^\circ$) foi mantida, sendo os polimorfos V atribuídos às hélices simples compactadas da amilose (incluindo complexos com lipídios) que existem junto com os polimorfos B da alta amilose (SHRESTHA et al., 2010).

Nos filmes de alta amilose retrogradada e pectina sem plastificantes (Figura 222), verificou-se o desaparecimento da maioria dos picos característicos dos polímeros isolados, o que não significa que houve amorfização das amostras, já que novos picos em aproximadamente 13° e 21° (2θ) foram apresentados e o pico em 16° (2θ) da pectina foi mantido. Segundo HTOON e colaboradores (2010), picos em 13° e 21° são característicos de estrutura cristalina tipo V, formada após a gelatinização do amido, seguido de ciclos de resfriamento, na qual a estrutura da alta amilose passa de tipo B para tipo V.

As análises de difração de raios X nos filmes plastificados foram realizadas para determinar a influência da presença e do tipo de plastificante na estrutura cristalina dos filmes. Os padrões de difração de raios X desses filmes foram notavelmente diferentes dos filmes não plastificados, apesar de todos apresentarem uma estrutura amorfo-cristalina.

Os difratogramas dos filmes contendo plastificantes (Figura 23) mostraram um halo amorfo, sem a presença de picos definidos, sugerindo que a adição dessas substâncias diminui a cristalinidade. No entanto, de acordo com os resultados de digestão enzimática (item 5.12), foi verificado que as amostras com maior teor de amido resistente, substância com estrutura cristalina mais ordenada, foram as 511G, 511P e 1014G, ou seja, as que continham plastificantes em sua composição. Semelhantemente, Bergo e colaboradores (2008) relataram o aumento da cristalinidade em filmes de amido com o aumento do conteúdo de glicerina e atribuíram esse comportamento ao aumento da mobilidade das cadeias poliméricas, que poderia ser facilitadora da recristalização, já que novas junções microcristalinas podem ser formadas, caracterizando uma cristalinidade tipo V (DAI et al., 2010).

Acredita-se que o padrão mais amorfo das amostras plastificadas possa ser atribuído à formação de amido resistente na forma de pequenos cristalitos, que se encontram espalhados em grande quantidade na rede polimérica, os quais, por exibirem número reduzido de planos cristalinos, não produzem picos com intensidades de reflexão detectáveis. Além disso, imperfeições presentes na estrutura do amido, como os emaranhados de cadeias terminais e as cadeias ramificadas no interior dos cristalitos, alteram a distância relativa entre os átomos correspondentes, o que faz com que os cristalitos percam a habilidade de espalhamento de raios X ou esses se tornam difusos. Assim, o padrão amorfo detectado não deve traduzir uma amorfização das amostras (MUTUNGI et al., 2012).

5.11 Teste de dissolução dos filmes

Os filmes de revestimento de formas farmacêuticas sólidas são empregados com diferentes finalidades, que vão desde os fins estéticos até os funcionais, como a melhoria da aparência da forma farmacêutica e a otimização dos efeitos terapêuticos, respectivamente (Müller et al., 2012). O controle da proteção que esse revestimento irá oferecer à forma farmacêutica é extremamente importante, pois vários são os fatores que podem contribuir para a exposição do núcleo e para a liberação prematura do fármaco. Nesse sentido, para filmes de revestimento entérico, a solubilidade do polímero na faixa de pH de 4,8 a 7,2 e a espessura dos filmes de revestimento são fatores determinantes para estabelecer o padrão de dissolução (YAMADA et al., 2010; DIMANTOV et al., 2004).

A dissolução dos filmes livres de alta amilose retrogradada e pectina foi avaliada em meios que simulam o suco gástrico (HCl 0,1N, pH 1,6) e suco entérico (tampão fosfato pH 7,4), durante 120 e 180min, respectivamente. Os resultados estão apresentados na tabela 12.

Em meio gástrico simulado, os filmes da série 511 foram os que apresentaram menor porcentagem de dissolução, o que provavelmente está relacionado com a maior proporção de alta amilose (1:1) presente nessas amostras, já que esse polímero é quase insolúvel em água, em temperatura ambiente (DIMANTOV et al., 2004). Tal comportamento pode ser confirmado pela dissolução dos filmes da série 514, nos quais a maior proporção de pectina, polímero mais hidrossolúvel, levou ao aumento do percentual de dissolução (aproximadamente 1,7 vezes maior). Apesar de a pectina permanecer como agregados de macromoléculas em meio ácido (VANDAMME et al., 2002), acredita-se que sua elevada solubilidade e alta capacidade de intumescimento em meio aquoso (GUIMARÃES et al., 2008; MAIOR et al., 2008) deve ter resultado na maior dissolução dos filmes contendo maior proporção de pectina.

Tabela 12 – Dissolução (%) dos filmes em meio ácido (2h) e tampão fosfato (3h).

FILMES	Meio Ácido (HCl 0,1N, pH 1,6)	Tampão fosfato pH 7,4
511G	24,693±1,555	45,614±3,470
511P	22,774±5,385	55,040±3,733
511S	20,872±4,865	36,312±4,3907
514G	37,173±2,820	79,933±3,543
514P	44,587±2,343	83,659±6,783
514S	35,690±0,695	72,327±5,921
1014G	45,533±1,025	85,955±3,877
1014P	38,560±0,292	84,514±2,187
1014S	42,286±4,468	81,898±3,569

A concentração de polímeros na dispersão filmógena não afetou significativamente a dissolução nos dois meios testados, já que não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre as séries de amostras 514 e 1014.

Para todos os filmes testados em meio ácido, observou-se que o tipo e a presença de plastificantes não influenciaram significativamente ($p > 0,05$) as propriedades de dissolução.

Igualmente à dissolução em meio gástrico simulado, a classe de filmes 511 foi a que exibiu a menor porcentagem de dissolução em meio entérico simulado, confirmando mais uma vez que o aumento da proporção de pectina leva ao aumento da dissolução. Além disso, também não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre a dissolução dos filmes 514 e 1014, demonstrando que a concentração de polímero não afetou essa propriedade.

No meio entérico simulado, observou-se que entre as amostras da série 511, o filme 511P apresentou maior percentual de dissolução do que o 511S (cerca de 1,5 vezes maior), comportamento que pode ser atribuído à natureza hidrofílica do propilenoglicol, a qual leva ao aumento da mobilidade das cadeias poliméricas (BANDO; MCGINITY, 2006). Adicionalmente, os plastificantes hidrofílicos quando em contato com o meio de dissolução, costumam ser lixiviados dos filmes poliméricos, diminuindo sua resistência mecânica e facilitando a formação de poros, os quais são falcitadores da dissolução (LECOMTE et al., 2004). A presença de plastificantes não influenciou a dissolução dos filmes das séries 514 e 1014 ($p > 0,05$).

Diferentemente do filme 511P, a dissolução do filme 511G não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação à da amostra 511S ($p > 0,05$), o que

pode ser relacionado com a maior capacidade plastificante do propilenoglicol em relação à glicerina, uma vez que os plastificantes de menor peso molecular intercalam-se com maior eficiência com as moléculas do polímero (VIEIRA et al., 2011; CAO et al., 2009).

De acordo com os dados de dissolução, os filmes da série 511 mostraram-se mais adequados para utilização em sistemas de liberação cólon específica, já que apresentaram reduzida solubilidade em meio gástrico.

5.12 Teste de digestão enzimática dos filmes

Várias estratégias têm sido desenvolvidas para vetorizar fármacos para o cólon, dentre elas o revestimento de formas farmacêuticas sólidas com polímeros. Porém, muitos revestimentos são sensíveis à variação de pH, o que poderia levar à liberação prematura do fármaco, especialmente porque ocorre um grande aumento da solubilidade dos polímeros na faixa de pH de 4,8 a 7,2. A fim de alcançar o cólon, os revestimentos deveriam ser baseados em materiais insolúveis em ambientes ácidos e neutros e não deveriam ser digeridos pelas enzimas pancreáticas (DIMANTOV et al., 2004).

O amido resistente pode ser considerado um valioso material para tal fim, já que escapa da digestão nas porções superiores do TGI. Porém, pode necessitar de suporte físico adicional e a pectina mostra-se muito interessante para este propósito. Segundo Dimantov e colaboradores (2004), revestimentos baseados em amido resistente e pectina podem proteger o núcleo de materiais contra as enzimas digestivas.

Segundo Flores-Morales e colaboradores (2012), o amido gelatinizado é facilmente digerido pelas enzimas digestivas, já que a gelatinização, a qual ocorre através de processos hidrotérmicos, leva à ruptura dos grânulos, tornando o amido mais amorfo, ao contrário do processo de retrogradação. No amido retrogradado, a digestibilidade é dificultada devido ao empacotamento das duplas hélices da amilose, que diminui o acesso da α -amilase às ligações glicosídicas. Vários são os fatores que influenciam esse processo, sendo os mais relevantes o conteúdo de amilose, a estrutura da amilopectina e a existência de compostos tais como proteínas e lipídios (HOOVER; ZHOU, 2003).

Cairns e colaboradores (1995) reportaram que regiões não cristalinas também podem resistir à digestão enzimática devido às estruturas helicoidais duplas que não

fazem necessariamente parte dos cristalitos e ao aprisionamento de cristais dentro de regiões amorfas. Tal comportamento está de acordo com descobertas recentes de que quantidades significantes de AR podem ser obtidas a partir de matrizes amorfas de alta amilose de amido de milho (LOPEZ-RUBIO et al., 2008).

No TGI existem diversas enzimas que catalisam a quebra do amido e essa reação é totalmente dependente da temperatura e do pH do meio. As enzimas podem afetar a superfície do grânulo, corroendo a superfície inteira (exo-corrosão) ou digerindo-o através de canais da superfície até o centro (endo-corrosão). A digestão *in vitro* da alta amilose ocorre em vários estágios e sugere que as áreas amorfas do grânulo são hidrolisadas pela α -amilase, permanecendo a região cristalina intacta (LOPEZ-RUBIO et al., 2008).

Segundo Dona e colaboradores (2010), o amido resistente não tem uma estrutura específica em amostras pré-digeridas e pode ser formado durante a digestão por um rearranjo das cadeias de amilose em estruturas resistentes de maior cristalinidade. Consequentemente, ocorre uma competição entre a velocidade de hidrólise enzimática e a velocidade de retrogradação da amilose, o que resulta na resistência à digestão enzimática.

Nesse trabalho, o ARD foi determinado como o total de amido digerido dentro dos primeiros 20 minutos e o ALD foi o amido digerido entre 20 e 120 minutos (JUANSANG et al., 2012; ZHANG; WANG, 2009; ENGLYST et al., 1992).

Existem diferentes metodologias para a quantificação de AR. Geralmente, elas variam quanto ao tipo de enzima utilizada, o preparo da amostra e as condições experimentais para mimetizar o trato gastrointestinal (PERERA et al., 2010). Metodologias, como a de Englyst e colaboradores (1982), que incluem etapas de homogeneização e aquecimento do amido em presença de tampão a 100°C, apresentam a vantagem de eliminar as frações de AR-1 e AR-2 do valor final total de AR, como foi realizado no presente estudo.

O teste de digestão enzimática foi realizado a fim de estabelecer uma análise quantitativa da digestão dos filmes. A enzima utilizada para mimetizar a digestão no intestino delgado foi a pancreatina, que é uma enzima complexa, composta por amilase, lipase e protease e é comumente empregada para tal finalidade (FREIRE et al., 2009b).

Os resultados do teste de digestão enzimática dos filmes são apresentados na Tabela 13, na qual se observa que as amostras com maior quantidade de AR e, portanto, menor grau de digestão, foram as 511G, 511P e 1014G.

Tabela 13 – Digestão enzimática (%) dos filmes (n = 3).

FILMES	ARD	ALD	AR
511G	1,34 ± 0,47	2,56 ± 0,29	96,10 ± 0,17
511P	1,24 ± 0,31	2,08 ± 0,55	96,68 ± 0,24
511S	7,69 ± 1,15	18,98 ± 0,79	73,33 ± 0,64
514G	4,61 ± 0,40	7,08 ± 0,73	70,77 ± 2,41
514P	6,25 ± 0,36	7,43 ± 0,61	65,80 ± 1,07
514S	4,79 ± 0,69	7,74 ± 0,16	68,67 ± 2,05
1014G	1,10 ± 0,02	1,77 ± 0,25	96,41 ± 2,05
1014P	7,88 ± 0,33	14,50 ± 3,77	72,03 ± 4,30
1014S	7,37 ± 0,22	16,17 ± 4,72	70,58 ± 6,18

Os valores apresentados na Tabela 13 evidenciam que para a série de filmes 511 a presença de plastificante promoveu o significativo aumento dos valores de AR. A adição de glicerina ou propilenoglicol, que confere maior mobilidade intercadeias, permite rearranjo estrutural em maior extensão, com consequentes níveis mais elevados de organização e cristalização, que dificulta o acesso às enzimas digestivas.

Observando-se os valores de AR da série de filmes 514, nota-se que a pectina desfavoreceu a retrogradação, já que essas amostras foram as que exibiram os menores valores de AR. Pode-se observar, ainda, que, nessa condição, a adição de plastificante não influenciou a retrogradação, já que não há diferenças significativas entre os valores das amostras 514G, 514P, 514S ($p > 0,05$).

Para a série de filmes 1014, apenas a amostra contendo glicerina apresentou significativo aumento das quantidades de AR ($96,41\% \pm 2,05$). A esse respeito, pode-se considerar que apesar de essa amostra apresentar maior proporção de pectina, a maior concentração inicial de amido possibilita a formação de maiores quantidades de amido resistente (ROJAS et al., 1999). Para as amostras 1014P e 1014S os resultados não foram estatisticamente diferentes dos da série 514 ($p > 0,05$).

No amido nativo, a digestão dos cristalitos tipo A e B acontece de maneira diferente, uma vez que essas estruturas diferem no empacotamento das duplas hélices, sendo a estrutura cristalina tipo A composta por duplas hélices mais curtas e, por isso, apresenta maior suscetibilidade à digestão enzimática do que a de tipo B (JANE et al., 1997). A notável resistência à digestão enzimática está, portanto, principalmente

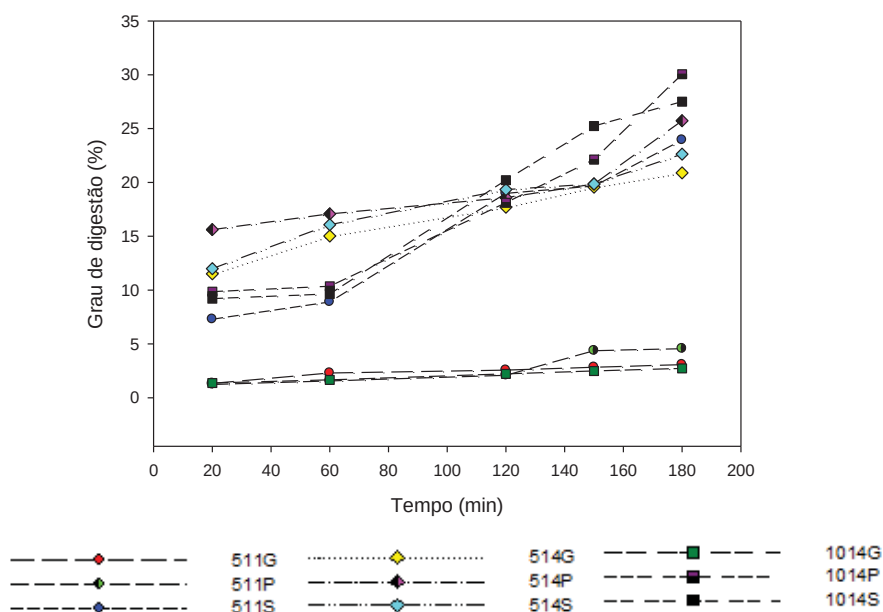
relacionada com o padrão tipo B dos cristais (ENGLYST et al., 1992), como confirmado pela técnica de difração de raios-X realizada neste trabalho.

O elevado teor de AR pode estar relacionado com o material de obtenção dos filmes (HYLON VII), que contém 70% de amilose em sua composição, pois o AR obtido a partir de uma fonte composta principalmente de amilose resulta num maior rendimento desse composto (SIEVERT; POMERANZ, 1989).

Freire e colaboradores (2009b), em seu estudo com filmes de revestimento obtidos a partir de diferentes tipos de amido, verificaram que os filmes de alta amilose (HYLON VII) foram mais resistentes à digestão enzimática do que os filmes com menores concentrações de amilose.

Além disso, o rendimento de AR está diretamente relacionado com o tempo de armazenamento das dispersões filmógenas. Park e colaboradores (2009), em seus estudos sobre digestibilidade de géis de amido, verificaram esse tipo de influência, variando o tempo de 2 a 16 dias, e concluíram que a obtenção máxima de AR se dá no tempo de 16 dias, o mesmo empregado no presente trabalho.

Figura 24 – Perfil de digestão dos filmes.



Os perfis de digestão enzimática dos filmes (Figura 24) estudados demonstram que, de modo geral, ocorreu aumento do grau de digestão de acordo com o aumento do tempo de incubação dos filmes. Os filmes 511G, 511P e 1014G, no entanto, exibiram

reduzidas taxas de digestão, as quais se mantiveram praticamente constantes durante todo período de tempo, evidenciando a maior resistência enzimática desses filmes.

6. CONCLUSÕES

O processo de retrogradação da alta amilose empregado nesse trabalho mostrou-se eficiente, já que permitiu a obtenção de elevados valores de amido resistente.

A associação do amido retrogradado à pectina resultou em um material com propriedades filmógenas adequadas. As variáveis adição de plastificante, tipo de plastificante, concentração de polímeros e proporção de polímeros permitem modular as propriedades dos filmes.

O conjunto de resultados obtidos demonstrou que os filmes estudados representam uma estratégia promissora para o revestimento de formas farmacêuticas sólidas destinadas a liberação cólon específica de fármacos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULNOUR-NAKHOUL, S.; NAKHOUL, N.L.; WHEELER, S.A.; WANG, P.; SWENSON, E.R.; ORLANDO, R.C. HCO₃-secretion in the esophageal submucosal glands. **American Journal of Physiology**, v. 22, p. G736–G744, 2005.

AHMAD, F.B.; WILLIAMS, P.A. Effects of galactomannans on the thermal e rheological properties of sago starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1578-1586, 2001.

AKHGARI, A.; FARAHMAND, F.; GAREKANI, H. A.; SADEGHI, F.; VANDAMME, T. F. Permeability and swelling studies on free films containing inulin in combination with different polymethacrylates aimed for colonic drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 28, p. 307-314, 2006.

ALCAMO, I.E. **Anatomy and physiology**. Hauppauge, NY: Barron's Educational Series, Inc; 1996.

AL-HASSAN, A.A.; NORZIAH, M.H. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 108-117, 2012.

ALVES, V.D.; MALI, S.; BELÉIA, A.; GROSSMANN, M.V.E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 941-946, 2007.

AMBIGAIPALAN, P.; HOOVER, R.; DONNER, E.; LIU, Q.; JAISWAL, S.; CHIBBAR, R.; NANTANGA, K.K.M.; SEETHARAMAN, K. Structure of faba bean, black bean and pinto bean starches at different levels of granule organization and their physicochemical properties. **Food Research International**, v. 44, p. 2962-2974, 2011.

APARICIO-SAGUILÁN, A.; SÁYAGO-AYERDI, S.G.; VARGAS-TORRES, A.; TOVAR, J.; ASCENCIO-OTERO, T.E.; BELLO-PÉREZ, L.A. Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 175-181, 2007.

BABIC, J.; SUBARIC, D.; ACKAR, D.; PILIZOTA, V.; KOPJAR, M.; TIBAN, N.N. Effects of pectin and carrageenan on thermophysical and rheological properties of tapioca starch. **Czech Journal of Food Science**, v. 24, p. 275-282, 2006.

BALL, S.; GUAN, H.P.; James, M.; Myers, A.; Keeling, P.; Mouille, G. From glycogen to amylopectin: A model for the biogenesis of the plant starch granule. **Cell**, v. 86, p. 349–352, 1996.

BANDO, H.; MCGINITY, J.W. Relationship between drug dissolution and leaching of plasticizer for pellets coated with an aqueous Eudragit® S100:L100 dispersion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 323, p. 11–17, 2006.

BARROSO, R.C.; ANJOS, M.J.; LOPES, R.T.; JESUS, E.F.O.; BRAZ, D.; CASTRO, C.R.F.; UHL, A. Analysis of matrix characterization by X-ray diffraction and synchrotron radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 65, p. 501-505, 2002.

BERGO, P.V.A.; CARVALHO, R.A.; SOBRAL, P.J.A.; SANTOS, R.M.C.; SILVA, F.B.R.; PRISON, J.M.; SOLORZA-FERIA, J.; HABITANTE, A.M.Q.B. Physical properties of edible films based on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. **Packaging Technology and Science**, v. 21, p. 85–89, 2008.

BERTUZZI, M.A.; VIDAURRE, E.F.C.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J.C. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 972-978, 2007.

BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, E.; FLORJAŃCZYK, Z. Solubility of plasticizers, polymers and environmental pollution. In: LETCHER T. **Biology**. New York: Elsevier; 2007. p. 397–407.

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

BODMEIER, R.; PAERATAKUL, O. Plasticizer uptake by aqueous colloidal polymer dispersions used for the coating of solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceuticals**, v. 152, p. 17-26, 1997.

CAINE, W.R.; AALHUS, J.L.; BEST, D.R.; DUGAN, M.E.R.; JEREMIAH, L.E. Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. **Meat Science**, v. 64, p. 333-339, 2003.

CAIRNS, P.; SUN, L.; MORRIS, V.J.; RING, S.G. Physicochemical studies using amylose as an *in vitro* model for resistant starch. **Journal of Cereal Science**, v. 21, p. 37-47, 1995.

CANEVAROLO Jr, S.V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. São Paulo: Artliber, 2004.

CAO, N.; YANG, X.; FU, YUHUA. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 729–735, 2009.

CARBINATTO, F.M. **Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos**. 2010. 109f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, 2010.

CARROLL, R.B. **Elsevier's integrated physiology**. Philadelphia, PA: Mosby, 2007.

CHANDA, M.; ROY, S.K. **Plastic polymers handbook**. New York: Marcel Dekker Inc., 1986.

CHENG, L.H.; KARIM, A.A.; SEOW, C.C. Effects of water-glycerol and water-sorbitol interactions on the physical properties of Konjac Glucomannan films. **Journal of Food Sciences**, v. 71, p. 62-67, 2006.

CHOURASIA, M. K.; JAIN, S. K. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 6, p. 33-66, 2003.

CHUNG, H.J.; LIM, H.S.; LIM, S.T. Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch. **Journal of Cereal Science**, v. 43, p. 353-359, 2006.

CORREA, P. A human model of gastric carcinogenesis 1. **Cancer Research**, v. 48, p. 3554-3560, 1988.

CUI, R.; OATES, C.G. The effect of retrogradation on enzyme susceptibility of sago starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, p. 65-72, 1997.

CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. **Clinical Nutrition**, v. 16, p. 3-11, 1997.

DAI, H.; CHANG, P.R.; YU, J.; GENG, F.; MA, X. N-(2-Hydroxypropyl)formamide and N-(2-hydroxyethyl)-N-methylformamide as two new plasticizers for thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, v.80, p. 139-144, 2010.

DESESSO, J.M.; JACOBSON, C.F. Anatomical physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 39, p. 209-228, 2001.

DESESSO, J.M.; WILLIAMS, A.L. Contrasting the Gastrointestinal Tracts of Mammals: Factors that Influence Absorption. **Annual Reports in Medicinal Chemistry**, v. 43, 2008.

DIMANTOV, A.; GREEBERG, M.; KESSELMAN, E.; SHIMONI, E. Study of high amylase corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system. **Innovate Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, p. 93-100, 2003.

DIMANTOV, A.; KESSELMAN, E.; SHIMONI, E. Surface characterization and dissolution properties of high amylose corn starch-pectin coatings. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 29-37, 2004.

DONA, A.C.; PAGES, G.; GILBERT, R.G.; KUCHEL, P.W. Digestion of starch: In vivo and in vitro kinetic models used to characterize oligosaccharide or glucose release, **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 599-617, 2010.

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

EERLINGEN, R.C.; CROMBEZ, M.; DELCOUR, J.A. Enzyme-resistant starch I: Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 339–344, 1993a.

EERLINGEN, R.C.; DECEUNINCK, M.; DELCOUR, J.A. Enzyme-resistant starch II: Influence of amylose chain length on resistant starch formation. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 345-50, 1993b.

ELFSTRAND, L.; FRIGARD, T.; ANDERSSON, R.; ELIASSON, A.C.; JONSSON, M.; RESLOW, M.; WAHLGREN, M. Recrystallisation behavior of native and processed waxy maize starch in relation to the molecular characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 389–400, 2004.

ELLIS, H. Anatomy of the caecum, appendix and colon. **Surgery**, v. 29, p. 1-4, 2011.

EL-MALAH, Y.; NAZZAL, S. Novel use of Eudragit® NE 30D/Eudragit® L 30D-55 blends as functional coating materials in time-delayed drug release applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 357, p. 219-227, 2008.

ENGLYST, H.N.; WIGGINS, H.S.; CUMMINGS, J.H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v. 107, p. 307–318, 1982.

ENGLYST, H.N.; CUMMINGS, J.H. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, p. 423-431, 1987.

ENGLYST, H.N.; KINGSMAN, S.M.; CUMMINGS, J.H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. 33S – 50S, 1992.

FADDA, H.M.; BASIT, A.W. Gastrointestinal tract: obstacles or opportunities in drug targeting? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 1, p. 52-59, 2005.

FARRIS, S.; SCHAICH, K.M.; LIU, L.; COOKE, P.H.; PIERGIOVANNI, L.; YAM, K.L. Gelatin pectin composite films from polyion-complex hydrogels. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 61-70, 2011.

FELTON, L.A. Characterization of Coating Systems. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, 2007.

FISHMAN, M.L.; COOKE, P.; HOTCHKISS, A.; DAMERT, W. Progressive dissociation of pectin. **Carbohydrate Research**, v. 248, p. 303-316, 1993.

FISHMAN, M.L.; COFFIN, D.R.; UNRUH, J.J.; LY, T. Pectin, starch, glycerol films: blends or composites. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v.33, p.639–654, 1996.

FLORES-MORALES, A.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; MORA-ESCOBEDO, R. Determination of the structural changes by FT-IR, Raman, and CP/MAS ¹³C NMR

spectroscopy on retrograded starch of maize tortillas. **Carbohydrate polymers**, v. 87, p. 61-68, 2012.

FRAEYE, Y.; COLLE, I.; VANDEVENNE, E.; DUVETTER, T.; VAN BUGGENHOUT, S.; MOLDENAERS, P.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Influence of pectin structure on texture of pectin–calcium gels. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 401-409, 2010.

FREIRE, A.C.; PODCZECK, F.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Liberação específica de fármacos para administração no cólon por via oral. I - O cólon como local de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 319-335, 2006.

FREIRE, A.C.; FERTIG, C.C.; PODCZECK, F.; VEIGA, F.; SOUSA, J. Starch-based coatings for colon-specific drug delivery. Part I: The influence of heat treatment on the physico-chemical properties of high amylose maize starches. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, p. 574-586, 2009a.

FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; VEIGA, F.; SOUSA, J. Starch-based coatings for colon-specific delivery. Part II: Physicochemical properties and in vitro drug release from high amylose maize starch films. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, p. 587-594, 2009b.

FU, Z.Q.; WANG, LI J.; LI, DONG; WEI, Q.; ADHIKARI, BENU. Effects of high-pressure homogenization on the properties of starch-plasticizer dispersions and their films. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 202-207, 2011.

GALDEANO, M.C.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F.; GARCIA, M.A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. **Materials Science and Engineering**, v. 29, p. 532-538, 2009.

GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N., ZARITZKI, N.E. Barrier properties of edible starch-based films and coatings. **Journal of Food Sciences**, v. 65, p. 941-947, 2000.

GHANBARZADEH, B.; MUSAVI, M.; OROMIEHIE, A.R.; REZAYI, K.; RAD, E.R.; MILANI, J. Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and microstructure properties of zein films. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 1191-1197, 2007.

GRIFFIN-SOBEL, J. **Gastrointestinal cancers**. Pittsburgh, PA: Oncology Nursing Society, 2007.

GUIMARÃES, F.; OLIVEIRA, C.; SEQUEIROS, E.; TORRES, M.; SUSANO, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; GALINDO, R.E.; CARVALHO, S.; PARREIRA, N.M.G.; VAZ, F.; CAVALEIRO, A. Structural and Mechanical properties of Ti–Si–C–ON for biomedical applications. **Surface and Coatings Technology**, v. 202, p. 2403-2407, 2008.

HARALAMPU, S.G. Resistant starch - a review of the physical properties and biological impact of RS3. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 285–292, 2000.

HOOVER, R.; ZHOU, Y. In vitro and in vivo hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 401–417, 2003.

HTOON, A.K.; SHRESTHA, A.K.; FLANAGAN, B.M.; LOPEZ-RUBIO, A.; BIRD, A.R.; GILBERT, E.P.; GIDLEY, M.J. Effects of processing high amylose maize starches under controlled conditions on structural organisation and amylase digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 236–245, 2009.

HTOON, A.K.; UTHAYAKUMARAN, S.; PIYASIRI, U.; APPELQVIST, A.M.; LÓPEZ-RUBIO, A.; GILBERT, E.P.; MULDER, R.J. The effect of acid dextrinisation on enzyme-resistant starch content in extruded maize starch. **Food Chemistry**, v. 120, p. 140-149, 2010.

HUANG, M.; YU, J.; MA, X. Ethanolamine as a novel plasticizer for thermoplastic starch. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, p. 501-507, 2005.

HUETHER, S.E. Structure and function of the digestive system. In: MCCANCE, K.; HUETHER, S.E. **Pathophysiology: The biologic basis for disease in adults and children**. 2006. p. 1353-1383.

JANE, J.L.; WONG, K.S.; MCPHERSON, A.E. Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. **Carbohydrate Research**, v. 300, p. 219-227, 1997.

JANG, J.K., PYUN, Y.R. Effect of moisture level on the crystallinity of wheat starch aged at different temperatures. **Starch-Starke**, v. 49, p. 272–277, 1997.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 302-310, 2012.

JOHNSON, L.R. **Gastrointestinal physiology**. 7th ed. Philadelphia, PA: Mosby, 2007.

JUANSANG, J.; PUTTANLEK, C.; RUNGSARDTHONG, V.; PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Effect of gelatinization on slowly digestible starch and resistant starch of heat-moisture treated and chemically modified canna starches. **Food Chemistry**, v. 131, p. 500-507, 2012.

KAPP, R.W. Gastrointestinal Tract as Major Route of Pharmaceutical Administration. In: GAD, S.C. **Toxicology of the Gastrointestinal Tract**. 2007. Chapter 5. p.107-127.

KARBOWIAK, T.; HERVET, H.; LÉGER, L.; CHAMPION, D.; DEBEAUFORT, F.; VOILEY, A. Effect of plasticizers (water and glycerol) on the diffusion of a small molecule in iota-carrageenan biopolymer films for edible coating application. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 2011-2019, 2006.

KARIM, A.A.B.D.; NORZIAH, M.H.; SEOW, C.C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v. 71, p. 9-36, 2000.

KATZ, J. R. Abhandlungen zur physikalischen Chemie der Starke und der Brotbereitung. XX. Über den Zusammenhang der Änderung der Starke beim Altbackenwerden des Brotes und beim Retrogradieren von Starkekleister. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**, v. 169, p.321, 1934.

KAWAY, K.; FUKAMI, K.; YAMAMOTO, K. Effect of temperature on gelatinization and retrogradation in high hydrostatic pressure treatment of potato starch–water mixtures. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 314–321, 2012.

KENAWY, E.R.; ALY, E.S.; ABDEL-HAY, F.I.; ABDEEN, R.; MAHMOUD, A.G. Synthesis and microbial degradation of azopolymers for possible applications for colon specific drug delivery I. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.15, p. 327-335, 2011.

KHONDKAR, D.; TESTER, R.F.; HUDSON, N.; KARKALAS, J., MORROW, J. Rheological behaviour of uncross-linked and cross-linked gelatinised waxy maize starch with pectin gels. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1296-1301, 2007.

KHUNAWATTANAKUL, W.; PUTTIPIATKHACHORN, S.; RADES, T.; PONGJANYAKU, T. Novel chitosan–magnesium aluminum silicate nanocomposite film coatings for modified-release tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 407, p. 132-141, 2011.

KINGET, R.; KALALA, W.; VERVOORT, L.; VAN DEN MOOTER, G. Colonic drug targeting: review article. **Journal of Drug Targeting**, v. 6, p. 129-149, 1998.

KOHYAMA, K.; MATSUKI, J.; YASUI, T.; SASAKI, T. A differential thermal analysis of the gelatinization and retrogradation of wheat starches with different amylopectin chain lengths. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 71–77, 2004.

KROGARS, K.; ANTIKAINEN, O.; HEINÄMÄKI, J.; LAITINEN, N.; YLIRUUSI, J. Tablet film coating with amylose-rich maize starch. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, p. 23-30, 2002.

LECOMTE, F.; SIEPMANN, J.; WALTHER, M.; MACRAE, R.J.; BODMEIER, R. Polymer blends used for the aqueous coating of solid dosage forms: importance of the type of plasticizer. **Journal of Controlled Release**, v. 99, p. 1-13, 2004.

LEE, M.H.; BAEK, M.H.; CHA, D.S.; PARK, S.T.; LIM, S.T. Freeze–thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 345–352, 2002.

LII, C.Y.; LAI, M.F.; LIU, K. F. Factors influencing the retrogradation of two rice starches in low-molecular-weight saccharide solutions. **Journal of Cereal Science**, v. 28, p. 175–185, 1998.

LIMMATVAPIRAT, S.; LIMMATVAPIRAT, C.; PUTTIPIATKHACHORN, S.; NUNTANID, J.; LUANGTANA-ANAN, M. Enhanced enteric properties and stability of shellac films through composite salts formation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 690-698, 2007.

- LIN, S.Y.; CHEN, K.S.; RUN-CHU, L. Organic esters of plasticizers affecting the water absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films. **Journal of Controlled Release**, v. 68, p. 343-350, 2000.
- LIU, L.S.; FISHMAN, M.L.; KOST, J.; HICKS, K.B. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, v. 24, p. 3333-3343, 2003.
- LIU, Q.; THOMPSON, D.B. Effects of moisture content and different gelatinization heating temperatures on retrogradation of waxy-type maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 314, p. 221-235, 1998.
- LIU, H.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L.. Retrogradation of corn starch after thermal treatment at different temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 756-762, 2007.
- LÓPEZ, O.V.; GARCÍA, M.A.; ZARITZKY, N.E. Film forming capacity of chemically modified corn starches. **Carbohydrate polymers**, v. 73, p. 573-581, 2008.
- LÓPEZ, O.V.; ZARITZKY, N.E.; GARCÍA, M.A. Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 160-168, 2010.
- LOPEZ-RUBIO, A.; FLANAGAN, M.B.; ASHOK, K.S.; MICHAEL, J.G.; ELLIOT, P.G. Molecular rearrangement of starch during in vitro digestion: Toward a better understanding of enzyme resistant starch formation in processed starches. **Biomacromolecules**, v. 9, p. 1951-1958, 2008.
- LUO, Y.; ZHUB, J.; MAB, Y.; ZHANG, H. Dry coating, a novel coating technology for solid pharmaceutical dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 358, p. 16-22, 2008.
- MAIOR, J.; REIS, A.V.; MUNIZ, E.C.; CAVALCANTI, A.O. Reaction of pectil and glycidyl methacrylate and ulterior formation of free films by reticulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 355, p. 184-194, 2008.
- MANDALA, I.G.; PALOGOU, E.D.; KOSTAROPOULOS, A.E. Influence of preparation and storage conditions on texture of xanthan-starch mixtures. **Journal of Food Engineering**, v. 53, p. 27-38, 2002.
- MARONI, A.; ZEMA, L.; CURTO, M.D.; FOPPOLI, A.; GAZZANIGA, A. Oral colon delivery of insulin with the aid of functional adjuvants. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 540-556, 2012.
- MCCONNELL, R.E.; TYSKA, M.J. Myosin-1a powers the sliding of apical membrane along microvillar actin bundles. **Journal of Cell Biology**, v. 177, p. 671- 81, 2007.
- MCHUGH, T.H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J.M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 4, p. 899-903, 1993.

MILOJEVIC, S.; NEWTON, J.M.; CUMMINGS, J.H.; GIBSON G.; BOTHAM, R.L.; RING, S.G.; ALLWOOD, M.; STOCHAM, M. Amylose as a coating for drug delivery to the colon: Preparation and in vitro evaluation using glucose pellets. **Journal of Controlled Release**, v. 38, p. 75–84, 1996.

MISHRA, S.K., BHATTACHARYYA, A.S. Effect of substrate temperature on the adhesion properties of magnetron sputtered nano-composite Si–C–N hard thin films. **Materials Letters**, v. 62, p. 398–402, 2008.

MORRIS, G.A.; CASTILE, J.; SMITH, A.; ADAMS, G.G.; HARDING, S. The effect of different storage temperatures on the physical properties of pectin solutions and gels. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, p. 2670-2673, 2010a.

MORRIS, G.A.; KÖK, M.S.; HARDING, S.E.; ADAMS, G.G. Polysaccharide drug delivery systems based on pectin and chitosan. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 27, p. 257-284, 2010b.

MORRIS, G.A.; RALET, M.C.; BONNIN, E.; THIBAUT, J.F.; HARDING, S.E. Physical characterisation of the rhamnogalacturonan and homogalacturonan fractions of sugar beet (*Beta vulgaris*) pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 1161-1167, 2010c.

MULHBACHER, J.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M.A. Cross-linked high amylose starch derivatives for drug release: II. Swelling properties and mechanistic study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, p. 231-238, 2004.

MÜLLER, J.; BROCK, D.; KNOP, K.; ZEITLER, J.A.; KLEINEBUDDE, P. Prediction of dissolution time and coating thickness of sustained release formulations using Raman spectroscopy and terahertz pulsed imaging. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, p. 690-697, 2012.

MURILLO-MARTÍNES, M.M.; PEDROZA-ISLAS, R.; LOBATO-CALLEROS, C.; MARTÍNEZ-FEREZ, A.; VERNON-CARTER, E.J. Designing W1/O/W2 double emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapor properties. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 577-585, 2011.

MUSCHERT, S.; SIEPMANN, F.; CUPPOK, Y.; LECLERCQ, B.; CARLIN, B.; SIEPMANN, J. Improved long term stability of aqueous ethylcellulose film coatings: importance of the type of drug and starter core. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 368, p. 138–145, 2009.

MUTUNGI, C.; PASSAUER, L.; ONYANGO, C.; JAROS, D.; ROHM, H. Debranched cassava starch crystallinity determination by Raman spectroscopy: Correlation of features in Raman spectra with X-ray diffraction and ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 598– 606, 2012.

NEVES, J.; SILVA, M.V.; GONÇALVES, M.P.; AMARAL, M.H.; BAHIA, M.F. Rheological Properties of Vaginal Hydrophilic Polymer Gels. **Current Drug Delivery**, v. 6, p. 83-92, 2009.

NORDGAARD, I.; MORTENSEN, P.B. Digestive process in the human colon. **Nutrition**, v. 11, p. 37–45, 1995.

PANI, S.; COOK, E.J.; HORROCKS, J.A.; JONES, J.L.; SPELLER, R.D. Characterization of breast tissue using energy-dispersive X-ray diffraction computed tomography. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 68, p. 1980-1987, 2010.

PARK, H.J.; WELLER, P.J.; VERGANO, P.J.; TESTIN, R.F. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 6, p. 1361–1370, 1993.

PARK, E.Y.; BAIK, B.K.; LIM, S.T. Influences of temperature-cycled storage on retrogradation and in vitro digestibility of waxy maize starch gel. **Journal of Cereal Science**, v.50, p.43–48, 2009.

PEI-LING, L.; QING, Z.; QUN, S.; XIAO-SONG, H.; JI-HONG, W. Effect of high hydrostatic pressure on modified noncrystalline granular starch of starches with different granular type and amylase content. **LWT-Food Science and Technology**, v. 47, p. 450-458, 2012.

PERERA, A.; MEDA, V.; TYLER, R.T. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. **Food Research International**, v. 43, p.1959-1974, 2010.

PILGRIM, G.W.; WALTER, R.H.; OAKENFULL, D.G. The chemistry of high-methoxyl pectins. In: WALTER, R.H. **The Chemistry and Technology of Pectin**. San Diego: Academic Press; 1991. p. 24.

PINTO, J.F. Review Site-specific drug delivery systems within the gastro-intestinal tract: From the mouth to the colon. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 395, p. 44-52, 2010.

PREZOTTI, F.G.; MENEGUIN, A.B.; EVANGELISTA, R.C.; CURY, BSF. Preparation and characterization of free films of high amylose/pectin mixtures cross-linked with sodium trimetaphosphate. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 38, p. 1–6, 2012.

QIAO, X.; TANG, Z.; SUN, K. Plasticization of corn starch by polyol mixtures. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 659-664, 2011.

RANA, V.; RAI, P.; TIWARY, A.K.; SINGH, R.S.; KENNEDY, J.F.; KNILL, C.J. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1031–1047, 2011.

RASHID, I.; AL-REMAWY, M.; LEHARNE, S.A.; CHOWDHRY, B.Z.; BADWAN, A. A novel multifunctional pharmaceutical excipient: Modification of the permeability of starch by processing with magnesium silicate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 411, p. 18-26, 2011.

REED, K.K.; WICKHAM, R. Review of the gastrointestinal tract: from macro to micro. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 25, p. 3-14, 2009.

RIOUX, B.; ISPAS-SZABO, P.; AÏT-KADI, A.; MATEESCU, M.A.; JUHÁS, J. Structure-properties relationship in cross-linked high amylose starch cast films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 371-378, 2002.

ROJAS, J.A.; ROSELL, C.M.; BENEDITO DE BARBER, C. Pasting properties of different wheat flour-hidrocolloid systems. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 27-33, 1999.

ROSEN, S.L. **Fundamental Principles of Polymeric Materials**. New York: Wiley, 1993.

ROUND, A.N.; RIGBY, N.M; MACDOUGALL, A.J.; MORRIS, V.J. A new view of pectin structure revealed by acid hydrolysis and atomic force microscopy. **Carbohydrate Research**, v. 345, p.487-497, 2010.

SAKAMOTO, K. Pathologic Response of the Gastrointestinal Tract to Toxicants. In: MCQUEEN, C. **Comprehensive Toxicology**. 2010, v. 10, p. 94-113.

SARASIJA, S.; HOTA, A. Colon-specific drug delivery systems. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 62, p.1-8, 2002.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 58-63, 2000.

SAXENA, A.; KALOTI, M.; BOHIDAR, H.B. Rheological properties of binary and ternary protein-polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of salbutamol sulphate from their matrices. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 263-270, 2011.

SCRHAMM, G. **Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo: Artliber, 2006. 232p.

SHI, M.M.; GAO, Q.Y. Physicochemical properties, structure and in vitro digestion of resistant starch from waxy rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 1151-1157, 2011.

SHRESTHA, A.K.; NG, C.S.; LÓPEZ-RUBIO, A.; BLAZEK, J.; GILBERT, E.P.; GIDLEY, M.J. Enzyme resistance and structural organization in extruded high amylase maize starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 699-710, 2010.

SICCARDI, D.; TURNER, J.R.; MRSNY, R.J. Regulation of intestinal epithelial function: a link between opportunities for macromolecular drug delivery and inflammatory bowel disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 219-135, 2005.

SIEPMANN, F.; SIEPMANN, J.; WALTHER, M.; MACRAE, R.J.; BODMEIER, R. Polymer blends for controlled release coatings. **Journal of Controlled Release**, v. 125, p. 1–15, 2008.

SIEVERT, D.; POMERANZ, Y. Enzyme-resistant starch: I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. **Cereal Chemistry**, v. 66, p. 342, 1989.

SILVA, M.A.; BIERHALZ, A.C.K.; KIECKBUSCH, T.G. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca²⁺ ions: Effect of the plasticizer concentration. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 736-742, 2009.

SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceuticals**, v. 224, p. 19-38, 2001.

SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Review: Microbially triggered drug delivery to the colon. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 18, p. 3-18, 2003.

SRIAMORNSAK, P. **Analysis of selected physico-chemical properties of pectin and alginate gels intended for drug delivery**. 2002. Ph.D. Thesis, Charles Sturt University, Australia, 2002.

SRIAMORNSAK, P.; KENNEDY, R.A. Swelling and diffusion studies of calcium polysaccharide gels intended for film coating. **International Journal of Pharmaceuticals**, v. 358, p. 205-213, 2008.

SRIAMORNSAK, P.; WATTANAKORN, N. Rheological synergy in aqueous mixtures of pectin and mucin. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 474-481, 2008.

SUNGTHONGJEEN, S.; PUTTIPIATKHACHORN, S.; PAERATAKUL, O.; DASHEVSKY, A.; BODMEIER, R. Development of pulsatile release tablets with swelling and rupture layers. **Journal of Controlled Release**, v. 95, p. 147-159, 2004.

TAKO, M. Molecular Origin for the Thermal Stability of Waxy-rice (Kogane) Starch. **Starch/Starke**, v. 48, p. 414–416, 1996.

TEMSIRIPONG, T.; PONGSAWATMANIT, R.; IKEDA, S.; NISHINARI, K. Influence of xyloglucan on gelatinization and retrogradation of tapioca starch. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 1054–1063, 2005.

TENG, L.Y.; CHIN, N.L.; YUSOF, Y.A. Rheological and textural studies of fresh and freeze-thawed native sago starch sugar gels. I. Optimization using response surface methodology. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1530-1537, 2011.

THIBAUT, J.F.; RALET, M.C. Physico-chemical properties of pectins in the cell walls after extraction In: VORAGEN, A.G.J.; SCHOLS, H.A.; VISSER, R. **Advances in Pectin and Pectinase Research**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003. p. 91-106.

THIBODEAU, G.A.; PATTON, K.T. **Anatomy and physiology**. St. Louis, MO: Mosby; 2002. pp. 1354-1372

THOMPSON, D. B. Strategies for the manufacture of resistant starch. **Trends in Food Science & Technology**, v.11, p. 245-253, 2000.

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

VANDEPUTTE, G.E.; VERMEYLEN, R.; GEEROMS, J.; DELCOUR, J.A. Rice starches: Structural aspects provide insight in amylopectin retrogradation properties and gel texture. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p. 61–68, 2003.

VIEIRA, M.G.A.; SILVA, M.A.; SANTOS, L.O.; BEPPU, M.M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, p. 254-263, 2011.

VOIGT, R. **Pharmazeutische technologie: für Studium und Beruf**. 9. ed. Stuttgart:Deutscher Apotheker, p. 161, 2000.

VRIESMANN, L. C. **Extração, caracterização e aspectos reológicos de polissacarídeos da polpa dos frutos de *Theobroma grandiflorum* (Cupuaçu)**.2008, 118f Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

XIE, X.X.; LIU, Q.; CUI, S.W. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. **Food Research International**, v. 39, p. 332–341, 2006.

XIE F.A.; HALLEY, P.J.A.; AVÉROUS, L.B. Rheology to understand and optimize processibility, structures and properties of starch polymeric materials. **Chemical Engineering Science**, v. 66, p. 3460-3470, 2011.

ZAVAREZE, E.R.; DIAS, A.R.G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 317–328, 2011.

ZELKÓ, R.; ORBÁN, Á.; SÜVEGH, K.; RIEDL, Z.; RÁCZ, I. Effect of plasticizer on the dynamic surface tension and the free volume of Eudragit systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, p. 81-86, 2002.

ZHANG, J.; WANG, Z.U. Optimization of reaction conditions for resistant Canna edulis Ker starch phosphorylation and its structural characterization. **Industrial Crops and Products**, v. 30, p. 105–113, 2009.

ZHANG, L.; HU, X.; XU, X.; JIN, Z.; TIAN, Y. Slowly digestible starch repared from rice starches by temperature-cycled retrogradation. **Carbohydrate Polymer**, v.84, p. 970-974, 2011.

- ZHOU, Y.; WANG, D.; ZHANG, L.; DUB, X.; ZHOU, X. Effect of polysaccharides on gelatinization and retrogradation of wheat starch. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 505–512, 2008.
- WALTER, M.; SILVA, L.P.; DENARDIN, C.C. Rice and resistant starch: Different content depending on chosen methodology. **Journal of Food Composition and Analytical**, v. 18, p. 279–285, 2005.
- WANG, H.; COMPOSTO, R.J. Wetting and phase separation in polymer blend films: Identification of four thickness regimes with distinct morphological pathways. **Interface Science**, v. 11, p. 237–248, 2003.
- WANG, X.; SUN, X.; LIU, H.; LI, M.; MA, Z. Barrier and mechanical properties of carrot puree films. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, p. 149–156, 2011.
- WILSON, A.S. **Plasticizers principles and practice**. Cambridge: The Institute of Materials, 1995.
- WILSON, C.G. The transit of dosage forms through the colon. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 395, p. 17–25, 2010.
- WILSON P.J.; BASIT, A.W. Exploiting gastrointestinal bacteria to target drugs to the colon: an in vitro study using amylose coated tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 300, p. 89–94, 2005.
- WU, H.; LIU, C.; CHEN, J.; CHANG, P.R.; CHEN, Y.; ANDERSON, D.P. Structure and properties of starch/ α -zirconium phosphate nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 358–364, 2009.
- WYPYCH, G. **Handbook of plasticizers**. Toronto: Chemtec Publishing, 2004. p. 687.
- YAMADA, H.; TERADA, K.; SURYANARAYANAN, R. Non-destructive determination of the coating film thickness by X-ray powder diffractometry and correlation with the dissolution behavior of film-coated tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, p. 952–957, 2010.
- YANG, L. Biorelevant dissolution testing of colon-specific delivery systems activated by colonic microflora. **Journal of Controlled Release**, v. 125, p. 77–86, 2008.
- YANG, L.; CHU, J.S.; FI, J.A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, p. 1–15, 2002.
- YOSHIMURA, M.; TAKAYA, T.; NISHINARI, K. Effects of xyloglucan on the gelatinization and retrogradation of corn starch as studied by rheology and differential scanning calorimetry. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 101–111, 1999.
- YUAN, R.C.; THOMPSON, D.B.; BOYER, C.D. Fine-structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from 3 wx-containing genotypes in 2 inbred lines. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 81–89, 1993.