

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

ELAINE PEREIRA DOS SANTOS

MEMBRANAS DE QUITOSANA/BIOATIVOS NATURAIS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS

JOÃO PESSOA – PB

2018

ELAINE PEREIRA DOS SANTOS

**MEMBRANAS DE QUITOSANA/BIOATIVOS NATURAIS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Desenvolvimento e propriedades de materiais

Orientadora: Profa. Dra. Itamara Farias Leite.

JOÃO PESSOA – PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237m Santos, Elaine Pereira Dos.

Membranas de quitosana/bioativos naturais com atividade antimicrobiana para tratamento de lesões cutâneas / Elaine Pereira Dos Santos. - João Pessoa, 2018. 138f.

Orientação: Itamara Farias Leite.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Quitosana. 2. Bioativos naturais. 3. Membranas. 4. Atividade antimicrobiana. I. Leite, Itamara Farias. II. Título.

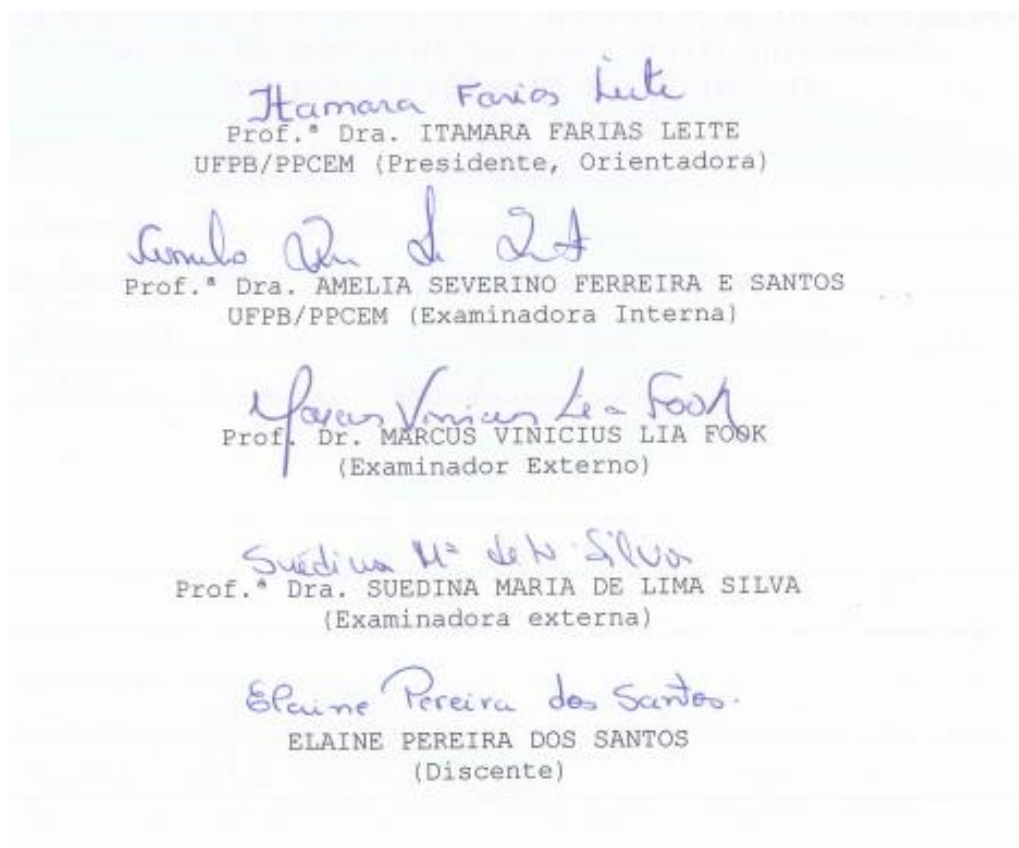
UFPB/BC

ELAINE PEREIRA DOS SANTOS

**MEMBRANAS DE QUITOSANA/BIOATIVOS NATURAIS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA PARA TRATAMENTO DE LESÕES CUTÂNEAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Aprovada em: 30 de julho de 2018.



Àquela que com a vida muito me ensina. Àquela que é um dos maiores exemplos de força e determinação. Àquela que tanto lutou e se sacrificou por mim e meus irmãos. Com amor e gratidão à minha mãe...

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por simplesmente ser quem Ele é. Gratidão a este Senhor pelo seu amor constante, sua fidelidade eterna e por todo seu zelo e cuidado pela minha vida. Gratidão por todas as oportunidades e graças concedidas para que o meu caminho, sob sua direção, seja continuado, afinal, Ele é a razão de todas as coisas, Ele é o centro, Ele é o caminho.

À Mãe de Deus por sempre estar a interceder pela minha história, minha vida, meus passos. Aos seus cuidados e proteção de mãe depósito todos os meus sonhos e futuro.

Aos meus pais, Ednalva Pereira e João Sabino, que não mediram esforços para que pudesse ter uma boa educação, que lutaram e se sacrificaram para que eu e meus irmãos pudéssemos construir um futuro melhor. A eles toda a minha gratidão e amor.

Aos meus irmãos, Emanuelle Pereira, Elizabeth Pereira e Everton César, que são pessoas essenciais no meu caminho. Os agradeço por partilharem de muitos momentos, por me incentivarem a continuar quando tudo era difícil, assim como por toda a ajuda em cada conquista.

Ao meu namorado, Lucas Muniz, por ser um grande companheiro e por ser um dos maiores incentivadores da minha vida. Obrigada por acreditar tanto em mim e por me fazer acreditar também.

À professora Itamara Leite, que é um grande exemplo de profissional, por sua competência, dedicação, honestidade e comprometimento com a ciência. Aqui registro o meu obrigada por suas orientações, ajuda e compreensão em toda essa trajetória. À senhora, a minha gratidão e profundo respeito.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais por toda contribuição proporcionada durante toda essa jornada. Em especial ao professor Heber Sivini, pelo empréstimo de equipamentos, assim como pela ajuda na produção dos pós utilizados no trabalho.

Aos amigos do mestrado que compartilhei bons momentos. Aos alunos de iniciação científica da professora Itamara, em especial Pedro Henrique e Renata Ataíde. À Aracelle por toda assistência e ajuda na realização de algumas caracterizações, bem como pela partilha de informações.

Aos professores membros da banca examinadora pela disponibilidade de estarem presentes neste momento.

Aos laboratórios de materiais poliméricos, metálicos e cerâmicos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.

Ao laboratório de termodinâmica do Departamento de Engenharia Química da UFPB.

Ao Laboratório de Solidificação Rápida (LSR) do Departamento de Engenharia Mecânica da UFPB.

Ao laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da Universidade Federal de Campina Grande, pelo fornecimento da quitosana e realização de caracterizações essenciais para essa pesquisa.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para o desenvolvimento desse trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

“Bem-aventurada és tu que creste, pois se hão de cumprir as coisas que da parte do Senhor te foram ditas.” (Lc 1,45)

RESUMO

Antimicrobianos de origem natural são alternativas eficazes e econômicas, pois são obtidos a partir de plantas aromáticas e especiarias ricas como óleos essenciais caracterizados por uma notável atividade antimicrobiana, e por esta razão, seus produtos podem ser usados para retardar ou inibir a multiplicação microbiana tão encontradas em infecções cutâneas. A fim de fornecer tratamentos de ajuda rápida para infecção de feridas, bioativos naturais como óleos de cravo e melaleuca assim como sucos e pós atomizados de caju e noni foram propostos nesse trabalho como objeto de investigação para obtenção de um curativo antimicrobiano à base de quitosana, visando otimizar a reabilitação dessas lesões. As membranas de quitosana contendo bioativos naturais foram preparadas pelo método de evaporação de solvente (*casting*) e avaliados qualitativamente pelo aspecto visual e caracterizados quanto à espessura, molhabilidade por ângulo de contato, grau de intumescimento, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e ensaio de tração, enquanto as emulsões de quitosana/bioativos foram submetidas à atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar. A transparência óptica à luz visível (incolor) apresentada pela membrana pura de quitosana sofreu alterações com o tipo e concentração do bioativo incorporado. As membranas de quitosana apresentaram ângulo de contato variando entre 40° e 90° em água destilada e PBS, o que as classificam como materiais hidrofílicos. Os bioativos naturais proporcionaram aumento na hidrofiliabilidade das membranas, o que é um resultado importante, já que a molhabilidade é essencial em materiais candidatos à curativo. Os bioativos naturais proporcionaram melhorias na taxa de absorção e estabilidade da membrana CS1, principalmente os óleos essenciais de cravo e melaleuca que apresentaram graus de intumescimento significativos em água destilada e PBS (taxas variando entre 325,23% e 5176,63%). As propriedades ténseis das membranas de quitosana pura e incorporada mostraram-se suficientes e compatíveis para serem aplicadas como curativos. O óleo de cravo apresentou a maior inibição frente aos micro-organismos empregados, com halos de até 36 mm (*Staphylococcus aureus*), seguido do óleo de melaleuca (até 12 mm, *Candida albicans*) e polpa de noni (até 8 mm, *Staphylococcus aureus*). A incorporação dos bioativos naturais proporcionou aumento na atividade antimicrobiana da emulsão CS1 frente a *Staphylococcus aureus* (CS1C3), *Escherichia coli* (CS1C3, CS1M1, CS1M3, CS1CJ3, CS1PCJ3, CS1N1 e CS1PN1) e *Candida albicans* (CS1C1 e CS1M3), sugerindo resposta positiva para essas composições na cicatrização de feridas. E apesar do maior halo de inibição (10 mm), ter sido encontrado para a composição com 3% de suco de caju frente a *Escherichia coli*, os óleos essenciais apresentaram os maiores espectros de ação. Para tanto, dentre todos os bioativos investigados e todas as cepas estudadas, pode-se concluir que os óleos essenciais de cravo e melaleuca foram os que demonstraram as melhores atividades antimicrobianas nas emulsões à base de quitosana, apresentando-se como óleos potencialmente favoráveis no processo de cicatrização de lesões cutâneas.

Palavras-chave: quitosana; bioativos naturais, membranas, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Natural antimicrobials are effective and economical alternatives as they are obtained from aromatic plants and rich spices as essential oils characterized by a remarkable antimicrobial activity, and for this reason their products can be used to retard or inhibit the microbial multiplication so found in skin infections. In order to provide quick-relief treatments for wound infection, natural bioactives such as clove and melaleuca oils as well as cashew and noni sprayed juices and powders have been proposed in this work as a research object to obtain an antimicrobial dressing based on chitosan, aiming to optimize the rehabilitation of these lesions. Chitosan membranes containing natural bioactives were prepared by the method of solvent evaporation (casting) and evaluated qualitatively by visual aspect and characterized by thickness, contact angle wettability, swelling degree, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) and traction test, while chitosan / bioactive emulsions were submitted to antimicrobial activity by the agar diffusion method. Visible light transparency (colorless) presented by pure chitosan membrane underwent changes with the type and concentration of the incorporated bioactive. The chitosan membranes presented contact angle ranging from 40° to 90° in distilled water and PBS, which classified them as hydrophilic materials. Natural bioactives have provided increased membrane hydrophilicity, which is an important result, since wettability is essential in curative materials. The natural bioactives provided improvements in the rate of absorption and stability of the CS1 membrane, especially the clove and melaleuca essential oils that showed significant swelling degrees in distilled water and PBS (rates ranging from 325.23% to 5176.63%). The tenuous properties of pure and incorporated chitosan membranes proved to be sufficient and compatible to be applied as curatives. Clove oil showed the highest inhibition against the microorganisms employed, with halos up to 36 mm (*Staphylococcus aureus*), followed by melaleuca oil (up to 12 mm *Candida albicans*) and noni pulp (up to 8 mm *Staphylococcus aureus*). The incorporation of the natural bioactives provided an increase in the antimicrobial activity of the CS1 emulsion against *Staphylococcus aureus* (CS1C3), *Escherichia coli* (CS1C3, CS1M1, CS1M3, CS1CJ3, CS1PCJ3, CS1PN1 and CS1PN1) and *Candida albicans* (CS1C1 and CS1M3) for such compositions in wound healing. And although the greater inhibition halo (10 mm) was found for the composition with 3% cashew juice compared to *Escherichia coli*, the essential oils had the highest action spectra. In order to do so, it was concluded that the essential oils of clove and melaleuca were the ones that demonstrated the best antimicrobial activities in the chitosan-based emulsions, presenting as potentially favorable oils in the process healing of skin lesions.

Keywords: chitosan; bioactive materials, membranes, antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da quitina (a) e quitosana (b).....	24
Figura 2 – Reação química de desacetilação da quitina para a obtenção da quitosana.....	25
Figura 3 – Possibilidades de modificações na estrutura da quitosana em seu grupo amino.....	25
Figura 4 – Fórmula estrutural do eugenol.....	34
Figura 5 – Fruto e pseudofruto do caju.....	37
Figura 6 – Fruto maduro do noni.....	38
Figura 7 – Amostra de quitosana sintetizada no CERTBIO.....	40
Figura 8 – Imagens dos frascos de óleos essenciais de cravo (a) e melaleuca (b).....	41
Figura 9 – Imagem do fruto e pseudofruto do caju.....	41
Figura 10 – Imagem do fruto noni maduro (a) e noni descascado com as sementes expostas (b).....	42
Figura 11 – Maltodextrina utilizada na atomização.....	42
Figura 12 – Amostra de PBS sob a forma de pó.....	43
Figura 13 – Suco de caju (a) e polpa de noni (b).....	44
Figura 14 – <i>Spray dryer</i> da LabMaq.....	46
Figura 15 – Pó do suco de caju (a) e pó da polpa de noni (b).....	47
Figura 16 – Etapas da atomização do suco de caju e da polpa de noni.....	47
Figura 17 – pHmetro da KASVI utilizado nas medidas de pH.....	48
Figura 18 – Medidor de atividade de água da marca Novasina.....	49
Figura 19 – Equipamento CILAS utilizado na determinação da granulometria dos pós de caju e noni.....	49
Figura 20 – Micrômetro da Mitutoyo utilizado nas medidas de espessura (a) e representação esquemática das medidas de espessuras ao longo da membrana (b).....	54
Figura 21 – Distribuição do tamanho de partículas para o pó de caju.....	64
Figura 22 – Distribuição do tamanho de partículas para o pó de noni.....	64
Figura 23 – Curvas das titulações potenciométricas das amostras 1, 2 e 3 de quitosana.....	66
Figura 24 – Imagens das membranas de quitosana pura e incorporada com bioativos naturais.....	68
Figura 25 – Imagens das emulsões poliméricas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais.....	71
Figura 26 – Imagens do escurecimento das membranas de quitosana no decorrer de 90 dias.....	75

Figura 27 – Espectro de FTIR da membrana pura de quitosana à 1% (m/V).....	82
Figura 28 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com óleo de cravo.....	83
Figura 29 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com óleo de melaleuca.....	84
Figura 30 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com suco de caju.....	85
Figura 31 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com polpa de noni.....	85
Figura 32 – Espectros de FTIR dos pós atomizados de caju e noni.....	86
Figura 33 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com pó de caju...	87
Figura 34 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com pó de noni...	88
Figura 35 – Micrografias de MEV para a membrana CS1.....	96
Figura 36 – Micrografias de MEV para as membranas CS1C1 e CS1C3.....	97
Figura 37 – Micrografias de MEV para as membranas CS1M1 e CS1M3.....	98
Figura 38 – Micrografias de MEV para as membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1 e CS1PCJ3.....	99
Figura 39 – Micrografias de MEV para as membranas CS1N1, CS1N3, CS1PN1 e CS1PN3.....	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aplicações da quitosana.....	32
Tabela 2 – Porcentagem dos componentes do óleo de cravo.....	34
Tabela 3 – Condições de operação da secagem.....	46
Tabela 4 – Codificação das composições das membranas poliméricas e de seus respectivos tempos de agitação e secagem.....	51
Tabela 5 – Valores de pH medidos para o caju.....	60
Tabela 6 – Valores de pH medidos para o noni.....	61
Tabela 7 – Avaliação qualitativa das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com os bioativos.....	73
Tabela 8 – Valores de pH para as soluções poliméricas.....	77
Tabela 9 – Espessuras das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos.....	79
Tabela 10 – Valores de molhabilidade por ângulo de contato entre as membranas de quitosana e água destilada e PBS.....	89
Tabela 11 – Valores de intumescimento para as membranas de quitosana pura e incorporadas com bioativos em água destilada (pH = 5,54).....	94
Tabela 12 – Valores de intumescimento para as membranas de quitosana pura e incorporadas com bioativos em PBS (pH = 6,44).....	95
Tabela 13 – Propriedades de tração para as membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais.....	102
Tabela 14 – Halos de inibição medidos para os bioativos naturais e para as emulsões poliméricas formadas.....	106

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 BIOMATERIAIS	19
3.1.1 Tratamento de feridas cutâneas	21
3.1.2 Quitosana	23
3.1.2.1 Propriedades da quitosana	26
3.1.2.1.1 Grau de desacetilação	26
3.1.2.1.2 Massa molar	27
3.1.2.1.3 Solubilidade	28
3.1.2.1.4 Atividade antimicrobiana e ação cicatrizante	28
3.1.2.2 Aplicações da quitosana	30
3.2 BIOATIVOS NATURAIS	33
3.2.1 Óleo de cravo	33
3.2.2 Óleo de melaleuca	35
3.2.3 Caju	36
3.2.4 Noni	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 MATERIAIS	40
4.2 MÉTODOS	43
4.2.1. Obtenção dos sucos das frutas caju e noni	43
4.2.2 Atomização do caju e do noni	44
4.2.2.1 Rendimento do processo	48
4.2.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)	48
4.2.2.3 Atividade de água	48
4.2.2.4 Análise granulométrica	49
4.2.3 Preparação das membranas pelo método <i>casting</i>	50

4.2.3.1	Membranas de quitosana pura	50
4.2.3.2	Membranas de quitosana incorporadas com bioativos	50
4.2.4	Caracterização das amostras	52
4.2.4.1	Grau de desacetilação da quitosana	52
4.2.4.2	Avaliação qualitativa	53
4.2.4.3	Espessura	53
4.2.4.4	Atividade antimicrobiana	54
4.2.4.5	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	55
4.2.4.6	Molhabilidade por ângulo de contato	55
4.2.4.7	Grau de intumescimento	55
4.2.4.8	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	56
4.2.4.9	Ensaio de tração	56
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1	ATOMIZAÇÃO DO CAJU E DO NONI	58
5.1.1	Teor de sólidos totais	58
5.1.2	Rendimento do processo	59
5.1.3	Potencial hidrogeniônico (pH)	60
5.1.4	Atividade de água	62
5.1.5	Distribuição de tamanho de partículas	63
5.2	MEMBRANAS DE QUITOSANA PELO MÉTODO CASTING	65
5.2.1	Grau de desacetilação da quitosana	65
5.2.2	Avaliação qualitativa	67
5.2.3	Potencial hidrogeniônico (pH)	76
5.2.4	Espessura	78
5.2.5	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	81
5.2.6	Molhabilidade por ângulo de contato	88
5.2.7	Grau de intumescimento	91
5.2.8	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	95
5.2.9	Ensaio de tração	102
5.2.10	Atividade antimicrobiana	105
6	CONCLUSÃO	110

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	111
REFERÊNCIAS	112
ANEXO 1	137

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo e um dos mais ativos, e atua como uma barreira entre os meios externo e interno. Quando lesionada, um desequilíbrio fisiológico pode ocorrer tanto nela, quanto nas estruturas por ela protegidas, deixando o organismo vulnerável à entrada de micro-organismos patogênicos (ALMEIDA, 2009; VEIGA, 2009). O processo de cicatrização torna-se, portanto, importante etapa, tendo em vista que quanto mais rápido acontecer, menor será o tempo de exposição do organismo a uma série de patógenos (SPERANDIO, 2009). O desenvolvimento e emprego de biomateriais com a finalidade de acelerar o processo de reparo e a cicatrização de lesões cutâneas, tem se apresentado como alternativa promissora, sendo alvo de investigações nos mais diversos centros de pesquisas.

Segundo Trinca et al. (2017), o desenvolvimento de biomateriais com o intuito de regenerar a pele é de grande interesse científico e clínico. Uma vez que estes novos materiais são comumente usados na forma de curativos ou andaime e, a presença de uma estrutura porosa é essencial, pois permite o transporte de gases e nutrientes. Além da proteção mecânica, os curativos têm a função clássica de barreira contra infecções bacterianas e perda de fluídos e proteínas. Desse modo, é desejável o uso de materiais capazes de realizar tais ações e também estimular a migração celular, proliferação e formação do novo tecido. Conforme Jayakumar et al. (2011), algumas características são requeridas em um material empregado na cicatrização de feridas, como: incentivo a coagulação sanguínea natural, formação de barreira contra infecções, fornecimento de proteínas para cicatrização, absorção dos fluídos da inflamação e bloqueio das terminações nervosas.

Os biopolímeros são usados em diversas aplicações biomédicas, como materiais para a engenharia de tecidos. Entre os naturais, destaca-se a quitosana que, além de ser componente natural de seres vivos, apresenta a vantagem de ser semelhante quimicamente e biologicamente aos tecidos naturais (NAIR; LAURENCIN, 2007; KIM et al., 2008). Por isso, a quitosana tem se revelado como uma opção para o desenvolvimento de membranas para uso como curativos, pois, além de ser naturalmente abundante e ter um custo acessível, possui propriedades importantes como biodegradabilidade, atoxicidade e adesividade, além disso é hemostática, antifúngica e antibacteriana; características essas, essenciais para o tratamento e regeneração de tecidos lesionados (KONG et al., 2010; MARTÍNEZ-CAMACHO et al., 2010).

A quitosana apresenta baixa toxicidade em mamíferos e por esta razão seu potencial antimicrobiano tem sido amplamente estudado, comprovando que este polímero apresenta um amplo espectro de ação, superando a de alguns agentes químicos (RABEA et al., 2003). Curativos biológicos produzidos à base de quitosana tem a capacidade de atuar na fase inicial com o tecido lesionado, assim como no tecido em formação, para promover a cicatrização. Apresentam propriedades antimicrobianas intrínsecas e distintas possibilidades de ligações para mediadores inflamatórios (citocinas, proteases e radicais livres), cujas concentrações são elevadas em úlceras crônicas de difícil cicatrização (WIEGAND; HIPLER, 2010).

A forte tendência mundial ao aproveitamento de recursos naturais no tratamento de feridas, inclusive aqueles já utilizados há muito tempo pela medicina tradicional faz da fitoterapia uma opção disponível, com as vantagens de apresentar mínimos efeitos colaterais; facilidade no cultivo e manipulação; fácil aquisição e baixo custo (TIAGO, 1997).

As plantas aromáticas e especiarias ricas em óleos essenciais são caracterizadas por uma notável atividade antimicrobiana, e por esta razão, seus produtos podem ser usados para retardar ou inibir a multiplicação microbiana tão encontrada em infecções cutâneas, sendo alçados a uma posição de destaque na engenharia de tecidos uma vez que são oriundos de fontes naturais e se apresentam como alternativas eficazes e econômicas para o tratamento de lesões cutâneas (SANTOS et al., 2011).

Estudos reportados na literatura comprovam o potencial antimicrobiano de bioativos naturais como óleo de cravo, óleo de melaleuca, caju e noni (ATKINSON, 1956; LAURENS et al., 1992; LOCHER et al., 1995; OUATTARA et al., 1997; DELESPAUL et al., 2000; DORMAN; DEANS, 2000; LIMA; PASTORE; LIMA, 2000; MAJETI; KUMAR, 2000; NASCIMENTO et al., 2000; COX et al., 2001; SILVA, 2001; OLIVA et al., 2003; SANTOS, 2003; CAVANAGH, 2005; CARSON, HAMMER; RILEY, 2006; MELO et al., 2006; ABE et al., 2007; GOBBO NETO; LOPES, 2007; MULLER, 2007; SILVA et al., 2007; RAZALI et al., 2008; TRABULSI et al., 2008; WILKINSON; KWIECINSKI et al., 2008; GARCIA et al., 2009; LEE et al., 2009; PINTO et al., 2009; SCHERER et al., 2009; SILVA; TEIXEIRA; GALDINO, 2009; VAN VUUREN et al., 2009; CORREIA, 2010; COSTA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011; SIENKIEWICZ et al., 2011; SANTOS, 2011; SILVA, 2012; SILVEIRA, 2012; GONÇALVES, ALVES FILHO; MENEZES, 2013). Para tanto, propõe-se neste trabalho potencializar tal propriedade antimicrobiana através da combinação da quitosana com esses bioativos naturais, visando à obtenção de curativos naturais, funcionais, a partir dos compostos existentes na natureza para uso no tratamento e cicatrização de feridas.

A busca por um curativo natural, isento de qualquer fármaco sintético, usando um resíduo da indústria pesqueira (quitina maior fonte de quitosana) e plantas medicinais que constituem uma imensa fonte de compostos de ampla atividade biológica, poderá ter uma considerável contribuição ao meio ambiente e, principalmente, aos pacientes que através de pesquisas como essa, poderão se beneficiar no futuro de tratamentos naturais, eficazes, acessíveis e de rápida cicatrização.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo preparar, caracterizar e avaliar a influência da incorporação de bioativos naturais com atividade antimicrobiana em membranas de quitosana para uso potencial como curativos no tratamento de lesões cutâneas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Utilizar óleo de cravo, óleo de melaleuca, suco e pó de caju, polpa e pó de noni como bioativos naturais visando obter membranas com propriedades antimicrobianas.
- ❖ Realizar a atomização do suco de caju e polpa de noni *in natura*, para a obtenção dos pós;
- ❖ Caracterizar os pós de caju e noni quanto ao rendimento do processo, pH, atividade de água e granulometria;
- ❖ Preparar membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais pelo método de evaporação de solvente (*casting*);
- ❖ Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos bioativos naturais e das emulsões à base de quitosana pura e quitosana/bioativos naturais, usando o método de difusão em ágar;
- ❖ Caracterizar as membranas de quitosana quanto à espessura, molhabilidade por ângulo de contato, intumescimento, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e ensaio de tração.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BIOMATERIAIS

A Engenharia de tecidos é um dos ramos de tratamentos de lesões que mais tem se destacado nos dias atuais. O seu crescimento resulta em uma acelerada busca por materiais que sejam compatíveis, biodegradáveis e com propriedades mecânicas semelhantes às do tecido alvo (PAIVA, 2003). Exercem parte central desse campo os biomateriais.

Os biomateriais podem ser definidos como qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou sintéticas, utilizadas em aplicações biomédicas, que interagem com sistemas biológicos, tratando, aumentando ou substituindo qualquer tecido, órgão ou função do corpo (VON RECUM; LABERGE, 1995; GIL; FERREIRA, 2006).

Nesse sentido, os polímeros têm sido empregados como biomateriais devido às várias características que apresentam, destacando-se: propriedades físico-químicas, versatilidade estrutural, que permite adequá-los a cada aplicação específica, custo acessível de fabricação e diversidade de tipos (sintéticos e naturais). Além de possibilitar modificações na estrutura química da cadeia visando o estabelecimento de interações específicas entre o biomaterial e o tecido hospedeiro (GALLETTI; BRECHER, 1962; AKUTSU, 1972; EDMUNDS, 1985; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2005; RATNER et al., 2005; JALILI et al., 2009).

Os polímeros podem ser sintéticos (polietileno, polipropileno), naturais de origem vegetal (celulose e amido) e naturais de origem animal (colágeno, ácido hialurônico e quitosana) (SCHILLING, 2004; PARK; LAKES, 2007; SANTOS; MARINHO; MIGUEL, 2013). Podem ainda ser classificados em biodegradáveis e não biodegradáveis de acordo com o comportamento apresentado quando implantados no organismo (NYSKA, 2014). Os biodegradáveis podem ser modulados de maneira que substitua os tecidos danificados por tempo suficiente para que ocorra reparo natural da área lesionada, de modo que o novo tecido substitua progressivamente o implante (PEREIRA; VASCONCELOS; ORÉFICE, 1999).

Os biomateriais poliméricos apresentam uma diversidade de aplicações, entre elas: sistema de liberação de fármacos, encapsulação de células, regeneração dos tecidos musculares estriados e cardíacos, reconstrução de tendão, regeneração de válvulas cardíacas e regeneração de órgãos e tecidos. Essa última, porém, é uma das mais difundidas (SEAL; OTERO; PANITCH, 2001).

É extenso o número de materiais poliméricos que podem ser sintetizados e essa diversidade de opções proporciona aos cientistas e engenheiros uma ocasião favorável para escolha do melhor polímero, ou seja, aquele que mais se adeque ao tecido de interesse. Quando se trata do tecido da pele, fatores mecânicos e biológicos devem ser considerados no projeto de polímeros (BISPO, 2009).

A utilização de polissacarídeos com fins medicinais data de tempos remotos, isso devido as grandes vantagens apresentadas, como: livre administração, simplicidade de operação e diminuição nos custos dos produtos (BONONI; CAPELARI; MAZIERO, 1995; SHIGEMASA; MINAMI, 1995). Os polissacarídeos estimulam o sistema imune *in vitro* e *in vivo* e contribuem favoravelmente no processo cicatricial, podendo ser utilizados como biomateriais (DIALLO et al., 2001; UENO; MORI; FUJINAGA, 2001; KWEON; SONG; PARK, 2003; SENEL; McCLURE, 2004).

Um material biológico candidato à curativo deve ter baixo custo de produção, ser de fácil manipulação, promover o crescimento dos tecidos no hospedeiro, permitir que o tecido cicatricial tenha força semelhante ao tecido normal, ser resistente às infecções, não promover resposta inflamatória exacerbada, não formar aderências e fístulas, não ter suas características físicas alteradas pelos líquidos tissulares, ter capacidade de absorver fluidos corporais, a fim de permitir transporte de nutrientes, ser flexível, inerte, poroso, resistente, biocompatível e biodegradável (CERISE et al, 1974 apud PAGNANO, 2009; OLIVEIRA et al., 2010; KAHN, R.; KAHN, M., 2013).

Diversas pesquisas são realizadas com a finalidade de explorar as atividades inerentes aos biopolímeros que contribuem com a cicatrização. Entre os polissacarídeos estudados, encontram-se os neutros (glucanas, celulose, dextrana), os ácidos (alginato, ácido hialurônico) e os básicos (quitina e quitosana). Os últimos estão entre os mais estudados por demonstrarem resposta positiva em todos os estágios do reparo das feridas (OKAMOTO et al., 1995; DIEGELMANN et al., 1996; LLOYD et al., 1998).

Nesse contexto, o destaque considerável nas pesquisas e a grande versatilidade de aplicações encontradas para a quitina, quitosana e seus derivados, têm os colocados entre os bioativos naturais de maior potencial para o futuro próximo (KIM et al., 2001; BEZERRA, 2011; NÚÑEZ GÓMEZ, 2014;) e, por esta razão a quitosana será objeto de investigação nessa pesquisa.

3.1.1 Tratamento de feridas cutâneas

O tratamento de feridas não é um desafio novo. As tentativas humanas de intervir no processo de cicatrização das feridas, acidentais ou provocadas intencionalmente como parte da realização de procedimentos, remontam à antiguidade, demonstrando a importância de cuidar e proteger o tecido cutâneo lesionado para que complicações locais ou gerais ao paciente sejam evitadas (MANDELBAUM, S.; DI SANTIS; MANDELBAUM, M., 2003a). Muitos protocolos nos dias de hoje vêm sendo estabelecidos para melhorar a eficiência do processo cicatricial, seja para acelerá-lo, seja para obter uma melhor qualidade da cicatriz formada (ARAGÃO NETO, 2013).

Os produtos empregados no tratamento de lesões cutâneas podem ser organizados em dois grandes grupos: agentes tópicos e curativos. Agentes tópicos são os aplicados diretamente sobre o leito da ferida ou destinados à higienização e proteção da área em seu redor. Curativo é o item que cobre uma ferida com a finalidade de protegê-la contra agressões externas, mantendo-a úmida e preservando a integridade de sua região periférica, propiciando dessa maneira um ambiente favorável para cicatrização (DEALEY, 2001).

Atualmente, existem no mercado aproximadamente 2.500 produtos destinados ao tratamento dos mais diversos tipos de feridas nas mais diferentes fases de cicatrização (CUZZELL; KRASNER, 2003). Algumas características fundamentais, esses produtos devem apresentar de modo que a eficácia do tratamento seja garantida, entre elas: facilidade de remoção; conforto; não-exigência de trocas frequentes; boa relação custo/benefício; manter o leito da ferida com umidade ideal e as áreas periféricas secas e protegidas; facilidade de aplicação; e adaptabilidade (conformação às diversas partes do corpo) (DEALEY, 2001). Além de manter a área limpa; prevenir infecções; tornar a ferida impermeável a bactérias; proporcionar isolamento térmico; permitir a troca gasosa e diminuir a dor do paciente (SANTOS et al., 2010).

Mandelbaum, S., Di Santis e Mandelbaum, M. (2003b) estudaram os principais recursos disponíveis no Brasil para o tratamento de feridas, são eles: **ácidos graxos essenciais** que podem ser aplicados em todos os tipos de feridas, em qualquer fase do reparo tecidual, além de atuarem na prevenção dessas lesões; **alginato de cálcio** usado tanto em feridas superficiais como as com perda parcial ou ainda aquelas mais profundas, estando elas infectadas ou não; **anti-sépticos e degermantes** comumente empregados para higienização, limpeza e proteção das áreas periféricas às lesões; **bandagens para compressão** para o

controle clínico da hipertensão dos membros inferiores de modo que a cicatrização das úlceras venosas aconteça; **carvão ativado e prata** em feridas infectadas, com excesso de exsudato, superficiais ou profundas, e com odor desagradável; **filmes semipermeáveis** em feridas secas ou aquelas com dano parcial de tecido, queimaduras, além de agirem na proteção de áreas de risco lesional, na fixação de cateteres e como cobertura secundária; **colágeno biológico** indicado para qualquer estágio do processo cicatricial; **fator de crescimento celular** para úlceras de difícil cicatrização, com dano parcial, mas com adequado aporte sanguíneo; **hidropolímeros** indicados em lesões exsudativas, limpas, em fase de granulação, lesões superficiais e lesões com cavidade; **hidrogel** nos casos de feridas secas, com necrose, feridas limpas, superficiais, úlceras diabéticas e de pressão, áreas doadoras e receptoras de enxertos e em queimaduras de primeiro e segundo grau; **hidrocolóides** em feridas secas com pouco ou médio exsudato, lesões em fase de granulação, lesões com dano parcial e lesões com ou sem necrose; **enzimas proteolíticas** sob a forma de pomadas ou cremes em feridas secas ou exsudativas, colonizadas ou infectadas, com ou sem áreas de necrose; **sulfadiazina de prata** em caso de queimaduras, lesões infectadas ou com tecido necrótico; **acetato de celulose permeável ao vapor** indicado para queimaduras e áreas doadoras de enxerto; **protetores cutâneos** usados sobre a pele para protegê-la ou regenerá-la; **membranas permeáveis ao vapor** nas queimaduras, feridas superficiais e áreas doadoras de enxerto; **curativos com gaze**, cujos objetivos são absorver o exsudato e permitir evaporação e manutenção do meio úmido; e as **novas tecnologias** da engenharia de tecidos que visam controlar o crescimento e o desenvolvimento da matriz celular para a reparação e substituição do tecido humano.

Apesar de existirem esses inúmeros recursos e tecnologias no campo da cicatrização e dos curativos, muitos estudos e pesquisas devem ser realizados com a finalidade de aperfeiçoar os recursos já existentes, como também, desenvolver tecnologias mais simples e baratas, igualmente eficientes, aproveitando matérias-primas encontradas nas regiões menos desenvolvidas para torná-las mais acessíveis ao maior número de pessoas (ERENO, 2003).

O emprego de produtos medicinais de origem natural no tratamento de doenças tem sido muito utilizado pela população. Alguns estudiosos acreditam que materiais alternativos para o tratamento local de feridas podem ser encontrados em elementos existentes na natureza, já que os curativos sintéticos ou biossintéticos são onerosos (MELEGA; PSILLAKIS; ZANINI, 1992).

Os materiais biológicos, além do custo, possuem uma outra vantagem em relação aos materiais sintéticos, que é a de se mostrarem mais apropriados para a engenharia de tecidos

em razão de serem mais compatíveis com o ambiente natural dos tecidos (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009).

Os biomateriais podem otimizar a reabilitação de lesões, uma vez que são materiais que interagem com o sistema biológico (WILLIAMS; BLAYNEY, 1987). Muitos deles são alternativas efetivas para a substituição de tecidos, pois não apresentam riscos de transmissão de doenças ou rejeição imunológica, além de apresentarem disponibilidade ilimitada (HALL et al., 1999).

3.1.2 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo de custo acessível, renovável e biodegradável de grande importância econômica e ambiental, que tem sido tradicionalmente usado nos países orientais em tratamento de queimaduras e cicatrização de feridas (CHANDY; SHARMA, 1993; AZEVEDO et al., 2007).

O pesquisador Rouget obteve pela primeira vez a quitosana em 1859, ao submeter a quitina a um tratamento com uma solução de hidróxido de potássio aquecido (DALLAN, 2005). Industrialmente foi produzida no Japão em 1971. Entretanto, em apenas 15 anos, em 1986, o Japão já possuía quinze indústrias produzindo quitina e quitosana em escala comercial (HIRANO, 1989). No Brasil, a comercialização desses biopolímeros em larga escala começou a acontecer por volta de 1993. Duas empresas brasileiras têm se destacado na produção e comercialização de quitina e quitosana, a Polymar Indústria Comércio Exportação e Importação, situada em Fortaleza-CE e a Kito Química Fina, localizada em Palhoça-SC (SANTOS, 2004).

Além de poder ser obtida industrialmente pela desacetilação alcalina da quitina, que atualmente é a maior fonte disponível de quitosana, pode ser também encontrada em alguns fungos do gênero *Mucor* e *Zygomycetes* em pequenas quantidades, ou pode ser obtida por processos enzimáticos que por possuírem alto custo e baixa produtividade, são inviáveis em escala industrial (THARANATHAN; KITTUR, 2003; CAMPANA FILHO et al., 2007; MELO, 2010).

A quitosana pode ser definida como um copolímero de 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-acetamida-2-desoxi-D-glicopirranose, de composição variável em função do

grau residual de acetilação, cujas unidades são unidas por ligações glicosídicas β -(1,4) (Figura 1) (ANTONINO, 2007). Sua estrutura é muito semelhante à da celulose e quitina, a diferença está no grupo ligado a posição 2 do anel, que na celulose apresenta o grupo hidroxila, na quitina o grupo acetamido e na quitosana o grupo amino.

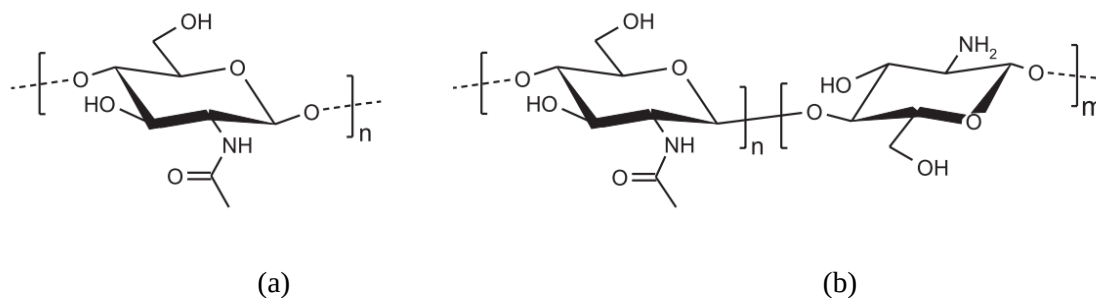


Figura 1 – Estrutura química da quitina (a) e quitosana (b).

Fonte: SILVA; SANTOS; FERREIRA (2006).

Durante a reação de desacetilação (Figura 2), os grupamentos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) da quitina são transformados parcialmente em grupos amino ($-\text{NH}_2$), dando origem a quitosana, que possui uma proporção de ao menos 50-60% de grupos aminos (CAMPANA-FILHO et al., 2007). A completa desacetilação da quitina raramente é realizada, pois são necessárias muitas reações consecutivas, que podem conduzir a degradação das cadeias poliméricas (MULLER, 2013).

Os fatores que afetam a eficiência da desacetilação e as características das quitosanas obtidas são: temperatura e tempo de reação; concentração da solução de álcali e adição de diluente (álcoois de cadeia curta e cetonas são empregadas); razão quitina/álcali; tamanho das partículas de quitina; atmosfera da reação e presença de agentes que evitem a despolimerização (ROBERTS, 1992; GOOSEN, 1997).

Contando com três grupos funcionais reativos, o grupo amino e dois grupos hidroxila, um primário, de caráter mais instável, e um secundário, a quitosana facilmente reage, obtendo novos compostos e derivados (ARAÚJO, 2015). Ela possui características físico-químicas muito atrativas com a protonação dos seus grupos amino (NH_3^+) quando em meio ácido. Essa protonação, por sua vez, permite a realização de modificações estruturais na cadeia original (Figura 3), que objetivam melhorar propriedades como solubilidade, resistência mecânica, térmica e química (SYNOWIECKI; AL-KHATEEB, 2003; BRANT, 2008).

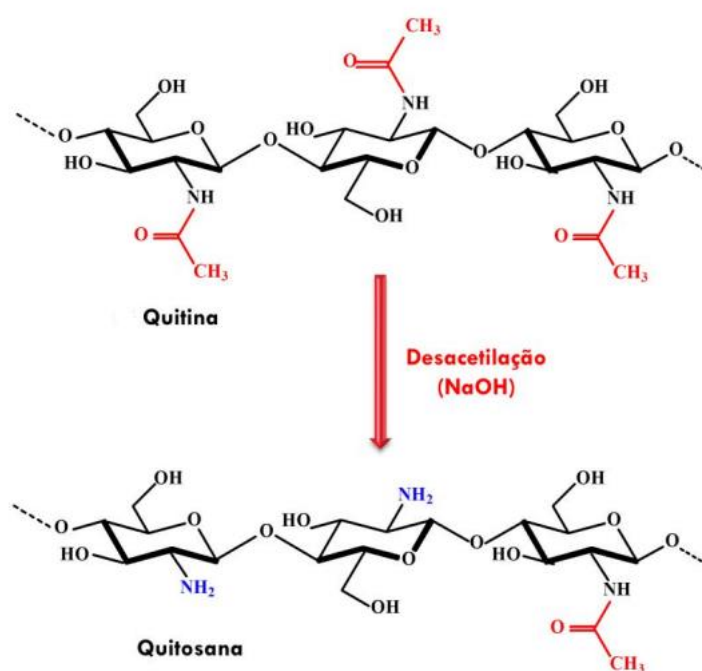


Figura 2 – Reação química de desacetilação da quitina para a obtenção da quitosana.

Fonte: FIGUEIREDO (2014).

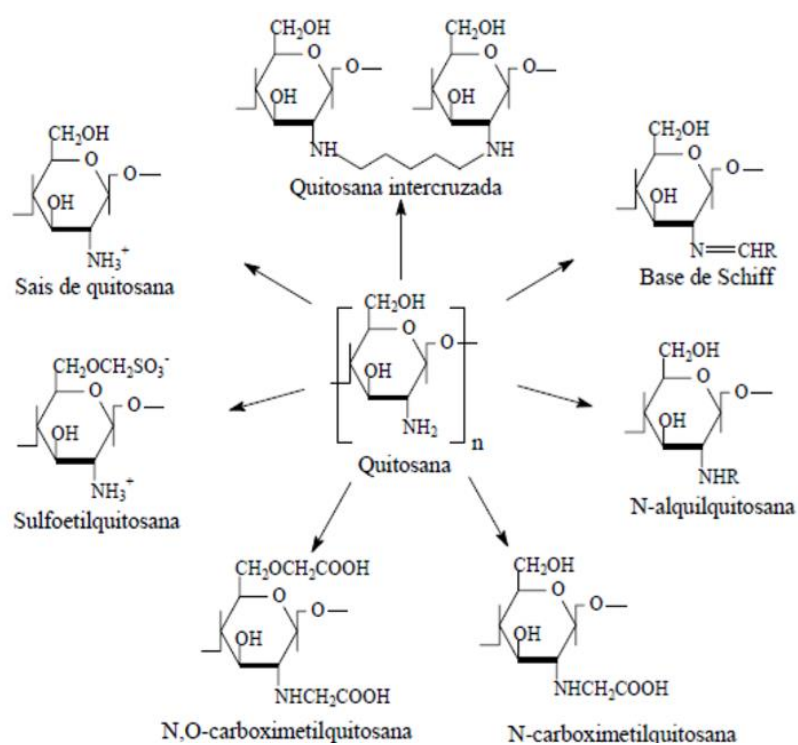


Figura 3 – Possibilidades de modificações na estrutura da quitosana em seu grupo amino.

Fonte: SANTOS (2004).

3.1.2.1 Propriedades da quitosana

As fontes naturais e o método de preparação influenciam na qualidade e nas propriedades finais da quitosana. Assim, é de fundamental importância que antes de qualquer aplicação, ela seja devidamente caracterizada, a fim de que a sua escolha seja a mais adequada possível. Essa caracterização pode ser feita levando-se em consideração as propriedades físicas, químicas e biológicas. Entre as físicas mais importantes encontram-se a solubilidade e viscosidade. Entre as químicas, a distribuição de massa molar e o grau de desacetilação. E entre as biológicas, a atividade antimicrobiana e ação cicatrizante.

3.1.2.1.1 Grau de desacetilação

O grau de desacetilação (GD) ou grau de acetilação (GA) é uma das mais importantes propriedades da quitosana, sendo fundamental o seu conhecimento. Enquanto o GD relaciona a quantidade de unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose ao número total de unidades da cadeia polimérica, o GA determina a proporção de grupos acetamido presentes no biopolímero (KUMAR, 2000; CARVALHO, 2006).

A quitosana apresenta uma maior proporção de unidades de β -(1-4) 2-amino-2-desóxi-D-glicose e, um menor número de unidades de β -(1-4) 2-acetamido-2-desóxi-D-glicose, implicando em um grau de acetilação inferior a 50% (DAMIAN et al., 2005). Esse valor, por sua vez, limita a solubilidade do polímero em soluções ácidas diluídas ($2 < \text{pH} < 6$) (CHATELET et al., 2001).

Dependendo do processo de desacetilação ao qual a quitosana é submetida, uma grande variedade no grau de acetilação pode acontecer, gerando alterações nas propriedades físico-químicas como pK_a , solubilidade e viscosidade do polímero (PERES, 2014).

A desacetilação da quitina raramente é completa e o prolongamento da reação, que gera produtos com maior grau de desacetilação, também provoca despolimerização (MATHUR; NARANG, 1990). Condições muito severas de reação tais como as empregadas na desacetilação da quitina por fusão alcalina ou o emprego de soluções alcalinas concentradas, por tempos prolongados e a temperaturas elevadas são evitadas quando o objetivo é a obtenção de quitosana de massa molar elevada (BISPO, 2009).

Diversos métodos para detectar a remoção dos grupos acetila da quitina podem ser utilizados, dentre eles: titulação condutimétrica (RAYMOND et al., 1993; SANTOS, 2004), espectroscopia no infravermelho (BRUGNEROTTO et al., 2001), espectroscopia por ressonância magnética de ^1H ou de ^{13}C (HIRAI; ODANI; NAKAJIMA, 1991; RAYMOND et al., 1993), espectroscopia no ultravioleta (TOLAIMATE et al., 2000), análise elementar (NIOLA, 1993), cromatografia líquida de alta eficiência (ROBERTS, 1992), potenciometria (KE; CHEN, 1990), dicroísmo circular, cromatografia de permeação em gel e TG (ALONSO; PENICHE-COVAS; NIETO, 1983; NIETO; PENICHE-COVAS; PADRÓN, 1991), DSC (NIETO; PENICHE-COVAS; PADRÓN, 1991; RATO; HATAKEYAMA, 1995; KITTUR et al., 2002; GUINESI; CAVALHEIRO, 2006) e análise térmica diferencial (DTA) (TALAIMATE et al., 2000).

3.1.2.1.2 Massa molar

A massa molar da quitina é geralmente maior que 1.000.000 Dalton, enquanto que a da quitosana comercial atinge de 100.000 a 1.200.000 Dalton (DAMIAN et al., 2005). Esses valores de massa molar, podem sofrer uma diminuição se durante o seu processo de obtenção, o polímero sofrer degradação.

Segundo Dee, Rhode e Wachter (2001), diferentes amostras de quitosana implicam em massas molares diferentes, isso devido a dependência que essa propriedade apresenta com a sua procedência, bem como ao tipo de tratamento empregado em sua obtenção. Para reduzir essa discrepância nas faixas de massa molar, as amostras de quitosana são comumente classificadas de acordo com a distribuição de massa molecular, em: alta, média e baixa. As de baixo peso se encontram na faixa de 100.000 g/mol, as de médio na faixa de 500.000 g/mol e as de alto na faixa de 1.000. 000 g/mol.

A massa molar da quitosana possui interferência direta em diversas propriedades funcionais deste polímero, como a solubilidade e a atividade antibacteriana dos seus derivados. Quitosana com elevada massa molar formam soluções com elevada viscosidade (SANTOS,2006).

Métodos como viscosimetria, dispersão de luz e cromatografia de permeação de gel (GPC) são utilizados na determinação de massa molar, entretanto, são as mais utilizadas e com custo relativamente baixo, a viscosimetria e GPC (SANTOS, 2006).

3.1.2.1.3 Solubilidade

A quitosana é normalmente insolúvel em água e em meios neutros e básicos, enquanto que pode ser dissolvida em meios ácidos orgânicos diluídos com pH inferior a 6 (SINGLA; CHAWLA, 2001; SHI et al., 2006). Entre os ácidos orgânicos, o acético e o fórmico são os que mais são empregados na solubilização desse polissacarídeo. Sendo as concentrações de 1 a 3% de ácido acético as mais utilizadas (MULLER, 2013). Alguns ácidos inorgânicos diluídos como: ácido nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico, também podem ser usados na preparação de uma solução de quitosana, entretanto, somente após prolongada agitação e aquecimento (DAMIAN et al., 2005).

A solubilidade da quitosana estar intimamente relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior o número de interações eletrostáticas repulsivas entre as cadeias e também maior a sua solvatação em água (GOMES, 2007). Esse comportamento justifica a boa solubilidade que a quitosana apresenta frente à quitina, cujo percentual de grupo amino não passa de 10%. O conhecimento preciso do teor de grupos $-\text{NH}_2$ é um fator de muita importância que pode condicionar a utilização da quitosana nas suas diferentes aplicações (SPIN-NETO et al., 2008).

A dissolução da quitosana dá origem a géis, que podem ser utilizados diretamente ou transformados em outros materiais na tentativa de utilização como biomateriais. Fatores como pH do solvente utilizado, força iônica, temperatura, concentração e massa molar da quitosana estão diretamente relacionados à viscosidade do gel obtido, bem como às propriedades do biomaterial final (DAMIAN et al., 2005; SPIN-NETO, 2008).

3.1.2.1.4 Atividade antimicrobiana e ação cicatrizante

Tavaria e colaboradores (2011) destacaram em estudo, as principais atividades biológicas da quitosana, entre elas, a atividade antimicrobiana, cicatrizações de feridas, antioxidante, anti-inflamatório, anticarcinogênico e anticoagulante.

A quitosana e alguns dos seus derivados têm apresentado excelentes propriedades antimicrobianas. Nela, a ação é rápida, efetuando-se em poucas horas, e de amplo espectro, incluindo desde as bactérias gram-positivas, como as gram-negativas (THATTE, 2004). No

grupo das gram-positivas destacam-se a *Staphylococcus aureus*, *S. epidemis* e *Bacillus subtilis*, já no das gram-negativas, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* e *Proteus vulgaris*. A presença desses bacilos em lesões retarda o processo de cicatrização pela liberação de toxinas e degradação do tecido em processo de epitelização (KIM et al., 1997; GARCIA, 2011).

Segundo Shi e colaboradores (2006), a atividade da quitosana frente a muitas bactérias e fungos, se dá por meio da interação dos grupos amino positivos das unidades glicosamina com os componentes negativos das paredes celulares das bactérias, que levam a supressão da biossíntese. Esse polissacarídeo também interrompe o transporte de nutrientes através da parede celular e causa o vazamento de organelas celulares, acelerando a morte da bactéria. Além desses, outro mecanismo proposto no esclarecimento dessa ação biológica da quitosana envolve a sua penetração no núcleo dos micro-organismos inibindo a síntese de RNA e proteínas (VINSOVA; VAVRIKOVA, 2008).

Influenciam a atividade antimicrobiana da quitosana, o grau de desacetilação, a massa molar, pH e temperatura. A justificativa para tal comportamento está no fato de que essas variáveis, uma vez modificando a estrutura química da quitosana, modificam também o seu potencial de ligação às membranas celulares (GOMES, 2007).

No estudo de aplicação de quitosana como agente cicatrizante, este polímero natural apresenta propriedades favoráveis como bioatividade e atoxicidade. O que o destaca em relação aos polímeros sintéticos que em sua grande maioria são tóxicos (TOMIDA et al., 2009).

A quitosana ativa e acelera a migração de neutrófilos e macrófagos para o local da lesão (UENO et al., 1999; UENO et al., 2001; SHI et al., 2006). Uma vez ativados, os macrófagos liberam interleucina-1, que estimula a proliferação de fibroblastos e influencia na estrutura do colágeno. Eles liberam também, N-acetilglicosaminidase, que hidrolisa a quitosana a monômeros de N-acetilglicosamina e glicosamina, unidades de açúcares necessárias na biossíntese do ácido hialurônico e outros componentes da matriz extracelular pelos fibroblastos (COSTA SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

Esse polímero prover estrutura para o crescimento celular, fornece proteínas para a cicatrização, fortalece o tecido em formação, atua como barreira contra micro-organismos, minimiza a deformação cutânea, estimula a coagulação sanguínea natural, absorve os fluidos

provenientes da ferida (exsudato) e bloqueia as terminações nervosas, reduzindo a dor (PAUL; SHARMA, 2004).

Feridas tratadas com quitosana apresentam diversas vantagens, entre elas: menor grau de fibrose, que favorece a etapa da reepitelização com formação de cicatriz lisa (GOY et al., 2009); excelente capacidade umectante; melhor aderência do que a apresentada pelo ácido hialurônico; viabilidade econômica (MUZZARELLI, 1997); e prevenção de infecções quando aplicados diretamente no local da lesão, devido suas ações bactericidas e bacteriostáticas (KOIDE, 1998).

A estrutura química da quitosana, similar à do ácido hialurônico, reforça a indicação do uso deste biopolímero como agente cicatrizador e reparador, pois ele é capaz de aumentar as funções de células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, promovendo organização celular e atuando no reparo de feridas amplas (UENO et al., 2001).

O potencial como agente liberador de drogas e acelerador de reparos teciduais, aliados a biodegradabilidade e biocompatibilidade, tem tornado a quitosana uma excelente opção como biomaterial no campo da engenharia tecidual (ISSA et al., 2006). No caso de tratamento de ferimentos e/ou queimaduras, a quitosana pode ser empregada sob a forma de filmes de recobrimento ou membranas, soluções coloidais ou esponjas (DALLAN, 2005).

3.1.2.2 Aplicações da quitosana

A quitosana é um polímero muito versátil em aplicações pelo fato de poder ser preparado em diferentes formas, tais como soluções de viscosidade controlada, pós, géis, filmes e membranas, microesferas, nanopartículas, flocos, esponjas, fibras e fibras ocas (CAMPANA-FILHO et al., 2007)

Conforme Brant (2008), esse biopolímero pode ser aplicado no tratamento de água agindo como um agente floculante e coagulante, na remoção de metais pesados. A quitosana se destaca dentre outros absorventes típicos, como, carvão ativado, pelo fato de ser mais economicamente atrativa (GANDHIRAJAN; SWAMINATHAN, 1997; CHEN et al., 2002; CHUNG et al., 2005).

Na agricultura, a quitosana é utilizada como adubo e fungicida e no revestimento de frutas e sementes (SINGLA, 2001). Na indústria alimentícia, vem sendo utilizada como

aditivo alimentar e na preservação de alimentos (SHAHIDI; ARACHCHI; JEON, 1999; DUTTA, P.; DUTTA, J.; TRIPATHI, 2004; FRANCO et al., 2004).

Por suas propriedades cientificamente comprovadas de auxiliar na redução do colesterol e na perda de peso em tratamento de obesidade, através da captura de gorduras presentes nos alimentos, a quitosana vem ganhando considerada notoriedade (DEUCHI, 1994; AZEVEDO et al., 2007).

Na indústria cosmética, esse polissacarídeo é usado como esfoliante, hidratante capilar, creme dental e até no tratamento de acne (AZEVEDO et al., 2007). Quando adicionada a produtos como condicionadores, cremes e xampus, a quitosana forma filmes com a queratina do cabelo, que, comparados com os filmes formados por polímeros sintéticos, são muito mais estáveis em alta umidade (CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, 1999).

Até no ramo de fotografias é encontrado aplicação para a quitosana devido às suas características de resistência à abrasão, propriedades ópticas e capacidade de formação de filmes (MAJETI; KUMAR, 2000).

Na área farmacêutica, a quitosana é utilizada como excipiente em formulações farmacêuticas, para liberação controlada de medicamentos e encapsulação de materiais. Na área biomédica são usadas em suturas cirúrgicas, reconstituição óssea, implantes dentários, lentes de contato, membranas renais e pele artificial (DODANE, 1998; KUMAR, 2000). As aplicações da quitosana estão resumidas na Tabela 1.

O emprego da quitosana como um biomaterial já foi explorado para a restauração de vários tipos de tecidos, como pele, osso, cartilagem, órgãos como fígado, vasos sanguíneos e até mesmo de componentes do sistema nervoso (KIM; SEO; MOON, 2008). Entretanto, devido à complexidade dos mecanismos envolvidos entre o polímero e o tecido alvo no processo de cicatrização, muitas pesquisas devem ainda ser realizadas para que a sua elucidação seja completa.

Atualmente, os investigadores têm estudado as potenciais aplicações das membranas de quitosana produzidas através do método “*casting*”. As membranas obtidas através dessa técnica possuem baixa espessura e propriedades de barreira e mecânicas aceitáveis (SANTOS, 2006). A combinação da quitosana com outros materiais com o objetivo de obter uma membrana com atividade antimicrobiana que acelere o processo de cicatrização em relação à

da quitosana pura são evidenciados em estudos (KHOR; LIM, 2003) e, para tanto, serão investigados neste trabalho com a presença de bioativos naturais.

Tabela 1 – Aplicações da quitosana.

Área	Emprego
Biomédica	Biomembranas artificiais
	Sutura cirúrgica
Farmacêutica	Agente cicatrizante
	Aditivo de medicamentos
	Liberação controlada de drogas
	Controle de colesterol
	Lente de contato
Cosmética	Umectante
	Fungicida
	Bactericida
Indústria de Alimentos	Aditivos alimentares
	Nutrição animal
	Embalagem biodegradável para alimentos
Biotecnologia	Imobilização de enzimas e de células
	Separação de proteínas
	Cromatografia
	Agente antibactericida
Indústria Têxtil e de papel	Tratamento de Superfície
Papel para Indústria Fotográfica	Filmes

Fonte: KUMAR (2000); TENG et al. (2001); JAAFARI et al. (2001).

3.2 BIOATIVOS NATURAIS

O homem sempre buscou na natureza soluções para os problemas de saúde. A utilização das plantas medicinais na prevenção e tratamento das doenças é feita desde os tempos mais remotos da humanidade (KARAM et al., 2013).

Considerando o uso popular de espécies potencialmente importantes e a recomendação para o desenvolvimento de pesquisas visando à utilização de plantas com finalidades terapêuticas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), se faz necessário a identificação e estudos de plantas que possuam comprovada ação farmacológica e/ou substâncias biologicamente ativas (SCHEFFER et al., 1999). A forte tendência mundial ao aproveitamento de recursos naturais no tratamento de feridas, inclusive aqueles já utilizados há muito tempo pela medicina tradicional, faz da fitoterapia uma opção disponível, com as vantagens de não apresentar efeitos colaterais; facilidade no cultivo e manipulação; fácil aquisição e baixo custo (TIAGO, 1997).

Segundo Gonçalves (2007), os principais grupos de compostos extraídos de plantas que apresentam atividade antimicrobiana, são: substâncias fenólicas e polifenóis (fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonóis, flavonoides, taninos e cumarinas); terpenóides e óleos essenciais; alcalóides; lectinas e polipeptídios; e poliacetilenos.

3.2.1 Óleo de cravo

O cravo-da-índia, como é popularmente conhecido, pertence à família *Myrtaceae* e possui o nome científico de *Syzygium aromaticum*. É uma planta tropical de origem das ilhas Molucas, localizadas na Indonésia, de porte arbóreo com copa alongada e que pode medir em torno de 8 a 10 metros de altura. Seu ciclo vegetativo é longo, podendo alcançar mais de cem anos. O botão seco da flor é a parte da planta que mais frequentemente é utilizada (LORENZI; MATOS, 2002; OLIVEIRA et al., 2009).

A concentração dos constituintes do óleo de cravo varia de acordo com a porção do vegetal analisada e a região na qual a planta foi cultivada (Tabela 2) (AFONSO, et al., 2012).

O componente majoritário é um composto fenólico volátil, o eugenol. Segundo a IUPAC, a sua nomenclatura é 4-Alil-2-Metoxifenol; de fórmula molecular: $C_{10}H_{12}O_2$; massa molar: 164,20 g/mol; ponto de ebulição: 255°C; densidade: 1,0664 g/L; características físicas:

líquido incolor ou amarelado, solúvel em álcool etílico, éter, clorofórmio e óleo, pouco solúvel em água e forte odor (MAZZAFERA, 2003), cuja fórmula estrutural está representada na Figura 4.

Tabela 2 – Porcentagem dos componentes do óleo de cravo.

Componentes	% área				
	FF*	FSS*	FSE*	PEN*	BFS*
Eugenol	82,47	87,07	82,69	90,41	88,38
β -Cariofileno	10,78	8,29	10,45	3,61	0,64
α -Humuleno	1,44	1,08	1,63	0,60	-
Acetato de eugenila	1,89	-	-	3,76	10,98
Óxido de cariofileno	0,47	-	0,51	-	-
Classes	FF*	FSS*	FSE*	PEN*	BFS*
Fenilpropanóides	84,36	87,07	82,64	94,17	99,36
Sesquiterpenos não oxigenados	12,22	9,37	12,08	4,21	0,64
Sesquiterpenos oxigenados	0,47	-	0,51	-	-
Total identificado (%)	97,05	96,44	95,23	98,38	100,00

*FF: Folhas frescas; FSS: Folhas secas ao sol; FSE: Folhas secas em estufa, Pen: Pedúnculos e BFS: Botões florais secos de *S. aromaticum*

Fonte: OLIVEIRA et al. (2009).

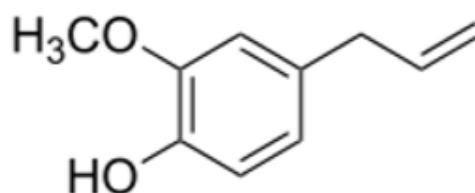


Figura 4 – Fórmula estrutural do eugenol.

Fonte: UGALDE (2014).

O eugenol é a substância responsável pelas atividades analgésica, anti-inflamatória e antioxidante encontradas no óleo essencial de cravo (OLIVEIRA et al., 2009). Além da

atividade antimicrobiana que foi encontrada nos testes com *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *Listeria monocytogenes* (diminuindo significativamente a taxa de crescimento), *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans* (PINTO et al., 2009; SCHERER et al., 2009; AFFONSO et al., 2012).

Dentre os diversos estudos realizados sobre as atividades farmacológicas apresentadas pelo *S. aromaticum*, a aplicação como anestésico bucal na odontologia é o mais consagrado. Esta atividade vem sendo explorada há mais de dois mil anos, sendo o *S. aromaticum* um dos principais ingredientes do cimento dental para restaurações temporárias nos dias de hoje (CHAIEB et al., 2007; PRESTA et al., 2007).

3.2.2 Óleo de melaleuca

O gênero *Melaleuca*, pertencente à família *Myrtaceae*, inclui aproximadamente 100 espécies nativas da Austrália e Ilhas do Oceano Índico. É comumente conhecida na Austrália como “árvore de chá”, florescendo principalmente em áreas de pântano, próximas de rios. O seu principal produto é o óleo essencial (TTO - tea tree oil), que por sua vez, é de grande importância na medicina por possuir comprovada ação bactericida e antifúngica contra diversos patógenos humanos, sendo utilizado em formulações tópicas (OLIVEIRA et al., 2011).

O óleo das folhas pode conter quantidades variadas de terpenos, terpineol (terpinen-4-ol), sesquiterpenos e cineol, que são os constituintes mais importantes relacionados à atividade antimicrobiana (SAWAYA et al., 2002; SIMÕES et al., 2002). Tais substâncias permitem que esse óleo apresente um amplo espectro de ação antibacteriana, que compreende tanto as espécies gram-positivas quanto as gram-negativas, além de atividade antifúngica potente (GARCIA et al., 2009).

A inibição da propagação de bactérias pelo óleo de melaleuca, incluem até as resistentes a antibióticos, tal como a *Pseudomonas aeruginosa*, comumente encontrada em infecções hospitalares. É eficaz, também, com as bactérias isoladas a partir da superfície da pele, como os estafilococos: *Staphylococcus aureus*, *S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus*; e micrococcos: *Micrococcus luteus*, *M.*

varianus. Já as bactérias Gram-negativas isoladas da pele, tais como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*; mostram-se sensíveis a este óleo em concentrações um pouco mais elevadas (CARSON, HAMMER; RILEY, 2006; SIENKIEWICZ et al., 2011). A atividade antifúngica presente no óleo de melaleuca frente a *Candida albicans* foi comprovada nos estudos de Packer e Luz (2007).

Atualmente, o TTO é empregado como agente antimicrobiano ou preventivo em escala farmacêutica ou cosmética e a indicação vai desde a utilização em lesões, queimaduras, picadas de inseto, gel para espinhas, cremes vaginais, cremes para a pele até a dentifrícios (COX; MANN; MARKHAM, 2001).

3.2.3 Caju

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma planta rústica, originária do Brasil, típica de regiões de clima tropical. É uma árvore popular na América do Sul, sendo especialmente encontrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, representando neste último, grande importância econômica, pela geração de emprego, renda e impostos, em decorrência dos produtos industrializados oriundos do seu fruto e pseudofruto, principalmente para os Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2000; MAIA; ANDRADE; ZOGHBI, 2000; MAIA; MONTEIRO; GUIMARÃES, 2001; MOURA; ALVES; INNECCO, 2001; PETINARI; TARSITANO, 2002).

O fruto do cajueiro (Figura 5) consiste da castanha (o verdadeiro fruto) e do pseudofruto que é formado por um pedúnculo alongado, carnoso e suculento cujo consumo *in natura*, estar relacionado, principalmente, com sua palatabilidade, coloração externa e suas excelentes propriedades sensoriais e nutricionais (KUBO; MASUOKA; TSUJIMOTO, 2006; SOARES et al., 2007; RUFINO, 2008; SIVAGURUNATHAN; SIVASANKARI; MUTHUKKARUPPAN, 2010).

Diversas propriedades farmacológicas são atribuídas ao *Anacardium occidentale*, tais como: antidiabético, anti-inflamatório, antitussígeno, antissifilítico, diurético, cicatrizante, antiulcerogênico e adstringente (BARBOSA-FILHO et al., 2005; KONAN; BACCHI, 2007; VARDERLINDE et al., 2009).



Figura 5 – Fruto e pseudofruto do caju.

Fonte: RIBEIRO (2003).

Acredita-se que a adstringência proporcionada pela casca do tronco do caju, é decorrente da presença natural de taninos, que atuam como compostos fenólicos ativos polimerizados no fruto, capazes de precipitar proteínas e tendo também um efeito vasoconstrictor de reduzir o fluido de feridas e queimaduras, aumentando a regeneração tecidual (VAN WYK; GERICKE, 2003). O extrato dessa parte do cajueiro apresenta, também, atividade antimicrobiana em diferentes organismos como *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi* (LAURENS et.al., 1992).

A *A. occidentale* também possui atividade frente a algumas espécies de fungos, como observado por Silva (2012) que relatou ação antifúngica de extratos obtidos pelas flores de *A. occidentale* contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Pastore e Lima (2000) observaram que o óleo obtido a partir da casca da castanha de caju apresentou atividade antimicrobiana frente a cepas de *S. mutans*, *S. aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis*.

3.2.4 Noni

A *Morinda citrifolia* Linn, conhecida popularmente como noni, é uma planta da família *Rubiaceae* originária do Sudoeste da Ásia que vem sendo utilizada como medicamento pelos habitantes da Polinésia há mais de 2000 anos (CORREIA et al., 2011).

Atualmente, a planta é encontrada em várias partes do mundo, como nas regiões tropicais da África (Centro e Sul), no Caribe, Austrália, China, Malásia, Indonésia, Índia (LUBECK; HANNES, 2001 apud VASCONCELOS; MIRANDA; SOUSA, 2014), na América do Norte e América do Sul (ROSS, 2001 apud CORREIA, 2010). No Brasil, o cultivo do noni é relatado nos estados do Acre, São Paulo, Minas Gerais, Pará, Sergipe, Ceará, dentre outros (CORREIA et al., 2011). Contudo, os estudos de pesquisa desenvolvidos com essa espécie no Brasil ainda estão em fase inicial.

O vegetal é um arbusto perene que cresce entre 3-10 metros em regiões costeiras ao nível do mar e em áreas de florestas até aproximadamente 1.300 metros acima do nível do mar (WANG et al., 2002). É muito conhecido por sua facilidade de tolerância ambiental, podendo crescer em solos inférteis, ácidos ou alcalinos, ou até mesmo em solos variando de muito secos a encharcados (NELSON, 2006).

Segundo Correia (2010), praticamente todas as partes da planta de noni são utilizadas e a cada uma delas são atribuídas propriedades medicinais diferentes. A casca, a qual é atribuída propriedade adstringente, é utilizada no tratamento da malária; as folhas são usadas como analgésico e para inflamações externas; as flores são empregadas no tratamento de inflamações oculares; o extrato das raízes ajuda a baixar a pressão sanguínea; as sementes são utilizadas como laxante. O fruto (Figura 6) é a parte da planta de mais ampla utilização, sendo várias as suas aplicações, sendo elas: antibactericida, analgésica, anticongestiva, antioxidante, expectorante, anti-inflamatória, adstringente, emoliente, emenagoga, laxativa, hipotensora, purificadora do sangue, imunoestimulante e tônica (ELKINS, 1997 apud CARVALHO et al., 2010). Ao fruto também é atribuída à ação anticancerígena (RODRIGUEZ; PINEDO, 2004).



Figura 6 – Fruto maduro do noni.

Segundo Chan-Blanco et al. (2006), a composição química difere grandemente com a parte da *Morinda citrifolia* L. analisada e ainda não foi descrita uma composição fitoquímica completa do fruto noni, o que se tem é apenas informação parcial do seu suco.

Foram identificados na planta noni cerca de 160 compostos fitoquímicos, e os principais micronutrientes são compostos fenólicos, alcalóides e ácidos orgânicos (WANG; SU, 2001). São vários os efeitos benéficos à saúde atribuídos aos compostos fenólicos. Estudos epidemiológicos, clínicos e *in vitro* mostram múltiplos efeitos biológicos relacionados a estes compostos, tais como: atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (ABE et al., 2007).

A atividade antimicrobiana do noni já tem sido registrada na literatura. Estudos têm demonstrado que o noni inibiu o crescimento de certas bactérias *in vitro*, tais como, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Candida albicans*, *Salmonella* e *Shigella*. Acredita-se que esse efeito seja provavelmente devido a presença de antraquinonas, entre outras substâncias (MULLER, 2007; CORREIA, 2010; CRUZ, 2013).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A quitosana (CS) sob a forma de pó, coloração creme (Figura 7), foi fornecida pelo Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UFCG. Segundo o fornecedor, a quitosana empregada nesse estudo é de médio peso molecular com valores na faixa de 230 a 250 KDa e grau de desacetilação em torno de 80 a 83%, contendo um teor de resíduos insolúveis menor que 1%.



Figura 7 – Amostra de quitosana sintetizada no CERTBIO.

Os óleos essenciais de cravo (*Eugenia caryophyllata* ou *Syzygium aromaticum*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) (Figura 8), em frascos de 10 mL, 100% puros e naturais da Phytoterápica, foram adquiridos no Mundo Verde/Rio de Janeiro-RJ e usados como recebidos. São incolores e com odores fortes e característicos. O óleo de cravo apresenta aroma penetrante e quente, enquanto o aroma herbáceo prevalece sobre o óleo de melaleuca.



(a)

(b)

Figura 8 – Imagens dos frascos de óleos essenciais de cravo (a) e melaleuca (b).

O caju e o noni, maduros, foram adquiridos no Mercado Central da cidade de João Pessoa-PB. O caju (Figura 9) é formado pela castanha que apresenta consistência dura e coloração acinzentada, e pelo pseudofruto (alaranjado), parte de interesse do estudo, que é carnoso, suculento e com odor agradável.



Figura 9 – Imagem do fruto e pseudofruto do caju.

O noni (Figura 10a) apresenta uma superfície irregular, coberta por poligonais em forma de seções, com aparência enrugada, semitranslúcida, cor pouco acinzentada e com um elevado número de sementes (Figura 10b), em torno de 200 por fruto (WANG et al., 2002). No estado maduro, a casca é fina e facilmente removível. Além dessas, outra característica muito dominante do noni, é o forte cheiro de ranço exalado devido à presença de ácido butírico (DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; NELSON; ELEVITCH, 2006).

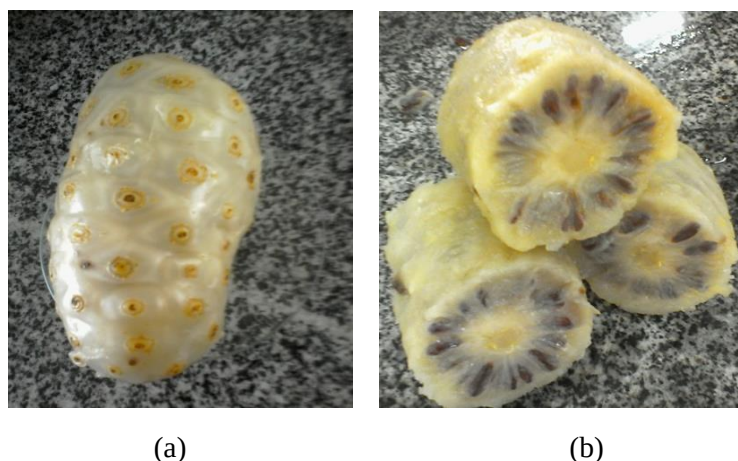


Figura 10 – Imagem do fruto noni maduro (a) e noni descascado com as sementes expostas (b).

O caju e o noni também foram usados sob a forma de pós, obtidos através da secagem por atomização, cujos detalhes do processo estão descritos no item seguinte dessa Dissertação. O agente carreador ou encapsulante utilizado foi a maltodextrina (Figura 11) da *Athetica Nutrition* sob a forma de pó, coloração branca, sendo pouco hidrosscópica e de baixo custo doada pelo Prof. Héber Sivini (DEMAT/CT/UFPB). Esse agente tem como objetivo promover proteção às substâncias contra evaporação, oxidação e reação química, assim como preservação do perfil sensorial de compostos com aroma, para garantir a alta qualidade do produto final (HEGENBART, 1993).

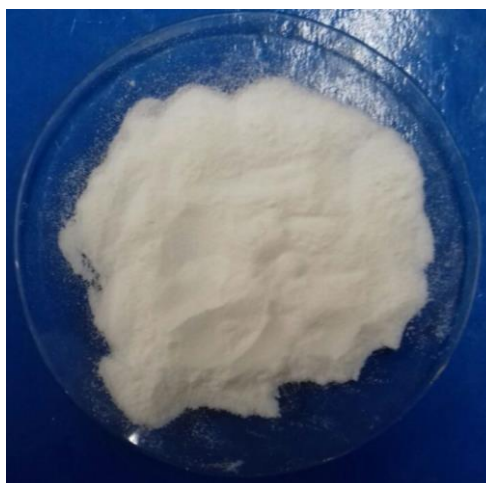


Figura 11 – Maltodextrina utilizada na atomização.

O ácido láctico (85%) P.A., de fórmula molecular $C_3H_6O_3$, e massa molar de 90,08 g/mol da Neon, é viscoso e incolor, e foi adquirido na Cidalab (Comércio de Artigos Laboratoriais e Hospitalares), Campina Grande-PB e usado como ácido orgânico para a

formação das soluções poliméricas de quitosana pura, bem como de quitosana incorporada com substâncias biologicamente ativas.

Para simulação dos fluídos corpóreos em ensaios de intumescimento e molhabilidade por ângulo de contato, foi utilizado a solução tampão fosfato-salino ou phosphate buffered saline (PBS) da Sigma-Aldrich (São Paulo-SP). O PBS (Figura 12), sob a forma de pó branco, apresenta pH igual a 7,2 a 25 °C.



Figura 12 – Amostra de PBS sob a forma de pó.

4.2 MÉTODOS

4.2.1. Obtenção dos sucos das frutas caju e noni

Para a preparação do suco de caju, inicialmente, os frutos foram lavados abundantemente em água corrente, as castanhas foram retiradas e por esmagamento manual do pseudofruto sobre uma peneira, o suco de coloração levemente acinzentada e de baixa viscosidade foi obtido (Figura 13a). No caso do noni, os frutos também foram lavados em água corrente, descascados com o auxílio de uma espátula e utilizando uma peneira doméstica, as sementes foram separadas de sua polpa (Figura 13b). Sendo praticamente liquefeita, porém, viscosa e com presença de fibras. A polpa de noni apresenta coloração creme com leves traços de espuma e sofre escurecimento com o tempo.

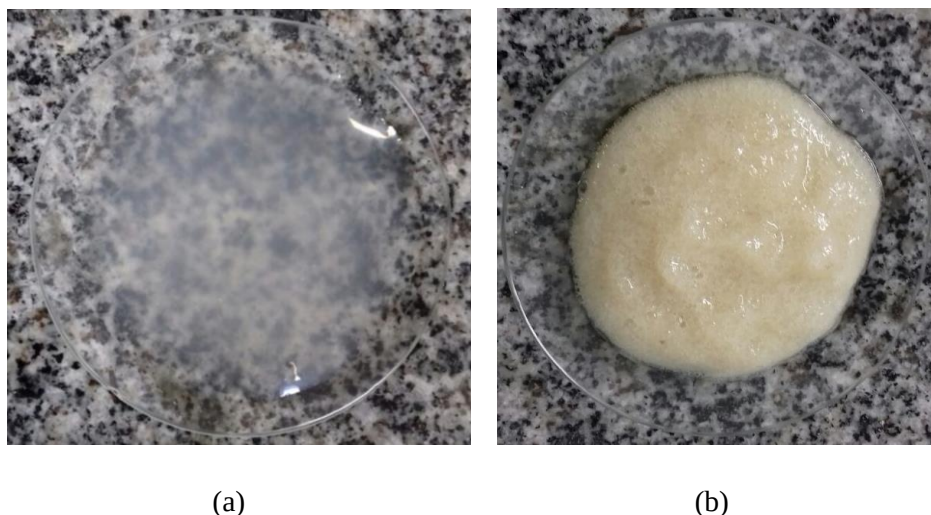


Figura 13 – Suco de caju (a) e polpa de noni (b).

4.2.2 Atomização do caju e do noni

A secagem por atomização consiste na transformação do produto do estado fluído (suco feito da polpa ou da fruta *in natura*) em uma partícula seca sob a forma de pó, por meio de uma corrente de ar aquecida (FELLOWS, 2006). Esse produto final permite um armazenamento duradouro e uma maior estabilidade e longevidade, além de promover disponibilidade da fruta em qualquer época do ano (ANSELMO et al., 2006). Essa técnica tem sido utilizada em alimentos como café, leite, ovos, aromas, corantes, chá e suco de frutas. Nos casos de alimentos líquidos ou pastosos termossensíveis, a secagem por atomização ou *spray drying* é um dos processos mais adequados, devido ao rápido contato do alimento com a temperatura pré-determinada, alta produção horária e custos relativamente baixos (MASTERS, 1991). Nos alimentos ricos em açúcares pela alta pegajosidade e higroscopicidade, o processo apenas se torna possível quando agentes carreadores são utilizados, dentre os mais empregados têm-se a maltodextrina (ADHIKARI et al., 2004).

Antes da realização da atomização do suco de caju e da polpa do noni, ambos *in natura*, tornou-se necessário a determinação do teor de sólidos totais presentes, a fim de se determinar a concentração de maltodextrina a ser utilizada. A metodologia empregada foi reportada por Moura (2017) com algumas modificações.

Inicialmente, pesou-se a massa do suco (aproximadamente 20 mL). Em seguida, a amostra foi colocada em estufa com circulação e renovação de ar da SPLABOR, à temperatura de 60 °C até massa constante (60h). Após esse período, a massa seca foi

determinada. A Equação 1 foi utilizada para calcular a porcentagem do teor de sólidos totais (%ST).

$$\%ST = \frac{MS}{M_{suco}} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

%ST = porcentagem de sólidos totais;

MS = massa seca após 60h (g);

M_{suco} = massa do suco *in natura* (g).

Como a polpa de noni é mais viscosa e consistente, trabalhou-se com uma diluição em água destilada na proporção 1:1 (V/V), a fim de evitar problemas de entupimentos no *spray dryer*.

A determinação do teor de sólidos totais foi realizada no Laboratório de Materiais Poliméricos, já o processo de secagem por Atomização foi realizado no Laboratório de Materiais Cerâmicos, ambos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.

A maltodextrina foi adicionada na concentração de 20% (m/m) em relação à massa equivalente à 1,8 L de suco, e a homogeneização foi realizada por meio de um agitador mecânico da marca Fisatom, modelo 713D, com uma rotação de 800 rpm.

A secagem por atomização foi realizada no *spray dryer* da marca Labmaq do Brasil, modelo LM – SD 5.0 em escala piloto (Figura 14). Este é composto por uma câmara de secagem, ciclone, módulo de comando/controle e sistema carrossel para acoplamento de frascos coletores dos pós.

As condições de operação da secagem estão apresentadas na Tabela 3. E uma vez programado o secador em tais condições, a atomização acontecia pelo bombardeio da mistura à câmara de secagem. Durante toda a secagem, os sucos permaneciam sob agitação mecânica na velocidade de 400 rpm.



Figura 14 – *Spray dryer* da LabMiq.

Tabela 3 – Condições de operação da secagem.

Condições de operação	Valores
Vazão de alimentação (L/h)	1,5
Vazão do soprador (m ³ /min)	2,8
Pressão (bar)	6
Vazão do pulverizador (L/min)	30
Temperatura de entrada (°C)	140

Terminado o processo de secagem, os pós (Figura 15) foram acondicionados em sacos plásticos transparentes de polietileno com fecho hermético, devidamente etiquetados e armazenados em freezer para posterior uso na preparação dos filmes de quitosana e nas suas respectivas caracterizações.

Os pós de caju e noni apresentam mesma coloração, branca, apresentando diferenças quanto à estabilidade. Enquanto o pó de caju forma aglomerados e é bastante higroscópico

quando exposto ao ar, formando um “mel” em questão de horas, o pó fino do noni mostra-se muito estável, mesmo em dias de exposição.

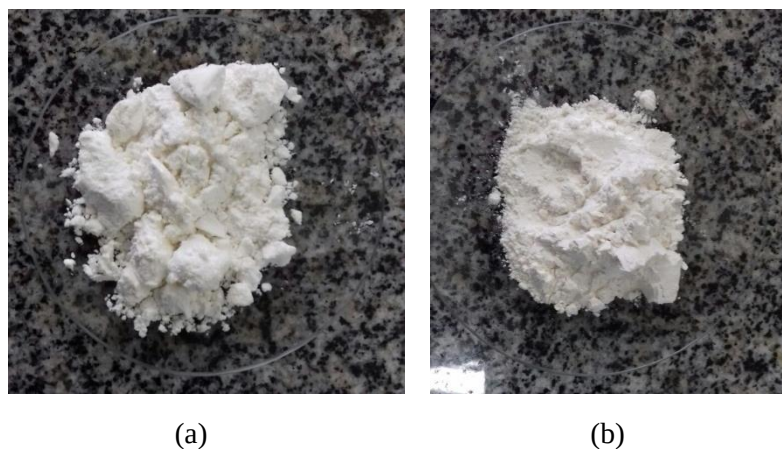


Figura 15 – Pó do suco de caju (a) e pó da polpa de noni (b).

A Figura 16 ilustra o fluxograma das etapas envolvidas no processamento para obtenção dos pós-desidratados do caju e noni, microencapsulados com maltodextrina.

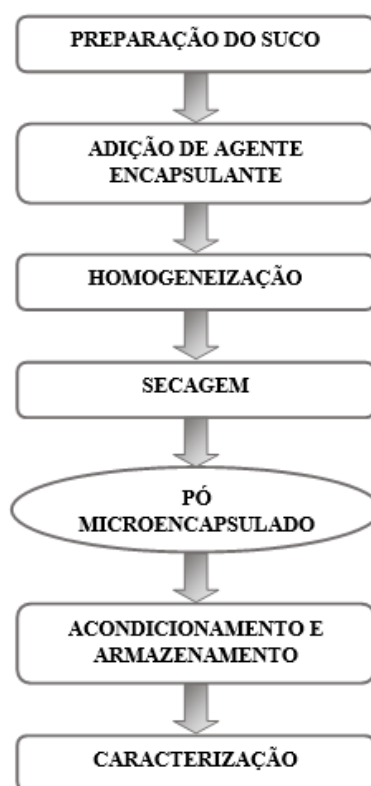


Figura 16 – Etapas da atomização do suco de caju e da polpa de noni.

4.2.2.1 Rendimento do processo

O rendimento da atomização foi calculado utilizando a Equação 2.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa de pó obtida após o processo (g)}}{\text{massa da alimentação (g)}} \times 100 \quad (2)$$

4.2.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

As medidas de pH em triplicata, foram realizadas no suco de caju e polpa diluída de noni, nas misturas com a maltodextrina inseridas na alimentação do *spray dryer* e nos pós reidratados, onde foi preciso restabelecer o teor de sólidos presentes antes do processo de secagem. O pHmetro empregado para obter essas medidas foi o portátil da KASVI (Figura 17).



Figura 17 – pHmetro da KASVI utilizado nas medidas de pH.

4.2.2.3 Atividade de água

A medição da atividade de água dos pós de caju e noni foi feita utilizando um medidor de atividade de água Novasina LabMaster AW, com precisão de +/- 0,003 à temperatura de 30 °C (Figura 18). O procedimento foi realizado no Laboratório de Termodinâmica do Departamento de Engenharia Química da UFPB.



Figura 18 – Medidor de atividade de água da marca Novasina.

4.2.2.4 Análise granulométrica

A determinação da granulometria dos pós de caju e noni foram realizadas por difração de laser, que utiliza o método de dispersão de partículas associado a um processo de medida óptica, que pode ser operado tanto no modo úmido, quanto no seco. Operando no modo seco, os pós foram dispersos através da vibração mecânica sobre o jato de ar comprimido com 2500 mb de pressão e frequência de 55 Hz. A dispersão teve período de 15 s e a coleta de dados aconteceu em 5 s. O equipamento utilizado na realização dessa análise foi o CILAS 1090LD (Figura 19).

O procedimento foi realizado no Laboratório de Materiais Metálicos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.



Figura 19 – Equipamento CILAS utilizado na determinação da granulometria dos pós de caju e noni.

4.2.3 Preparação das membranas pelo método *casting*

4.2.3.1 Membranas de quitosana pura

Preparou-se membranas de quitosana pura a 1 e 2% (m/V), usando ácido láctico a 1% (V/V) como solvente. O ácido láctico foi aquecido a 45 ± 5 °C, sendo então, adicionado o polímero que permaneceu sob agitação magnética por 2h. Passado esse tempo, as soluções de quitosana foram mantidas em repouso para serem resfriadas até a temperatura ambiente, e, então, submetidas a medidas de pH, em triplicata, utilizando o pHmetro portátil da KASVI (Figura 17). Por fim, 70 mL das soluções poliméricas foram vertidas em placas Petri de 12 cm de diâmetro e mantidas em repouso por 24h, a fim de que as bolhas fossem eliminadas. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa com circulação e renovação de ar da SPLABOR à 40 °C por 30h, até que todo o solvente fosse evaporado e a membrana pudesse ser destacada. As membranas de quitosana contendo 1 e 2% (m/V) foram codificadas como CS1 e CS2.

4.2.3.2 Membranas de quitosana incorporadas com bioativos

Para incorporação das substâncias biologicamente ativas, a preparação das soluções de quitosana a 1% (m/V) seguiu metodologia descrita no item anterior (4.2.3.1).

Após preparação das soluções de quitosana, os bioativos naturais foram assim incorporados nas concentrações de 1% e 3% (m/V ou V/V). Nos casos dos óleos de cravo e melaleuca assim como do suco *in natura* do caju, os volumes utilizados foram de 0,7 mL nas composições de 1% (V/V) e 2,1 mL nas composições de 3% (V/V). Já no caso da polpa *in natura* do noni e dos pós de caju e noni, as massas de 0,7 e 2,1 g foram empregadas na preparação de composições de 1 e 3% (m/V), respectivamente. A agitação magnética permaneceu por mais 1h nas composições com suco e pó de caju, polpa e pó de noni; e por mais 3h nas composições com óleos essenciais, tendo em vista a maior dificuldade de homogeneização. Depois de resfriadas até a temperatura ambiente, as soluções com noni foram filtradas à vácuo para retirar as partículas oriundas do aspecto fibroso de sua polpa. Todas as soluções poliméricas foram submetidas a medidas em triplicata de pH e, em seguida, 70 mL das soluções foram vertidas em placas Petri de 12 cm que foram mantidas em repouso

por 24 h para eliminação das bolhas presentes. Por fim, as amostras foram secas em estufa com circulação e renovação de ar por 30h nas composições com o suco e pó de caju, polpa e pó de noni; por 48h nas composições com óleo de melaleuca e composição de 1% (V/V) de óleo de cravo; e por 60 h na composição de 3% (V/V) de óleo de cravo. Uma vez evaporado todo o solvente, as membranas formadas foram codificadas como CS1C1, CS1C3, CS1M1, CS1M3, CS1CJ1, CS1CJ3, CS1N1, CS1N3, CS1PCJ1, CS1PCJ3, CS1PN1 e CS1PN3.

As membranas sintetizadas foram acondicionadas em envelopes de papel A4 e papel manteiga, recobertos com papel alumínio para proteger da luz e evitar escurecimento.

O procedimento descrito nesse item foi realizado no Laboratório de Materiais Poliméricos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.

A Tabela 4 apresenta uma descrição de todas as composições estudadas nessa pesquisa.

Tabela 4 – Codificação das composições das membranas poliméricas e de seus respectivos tempos de agitação e secagem.

Nº	Códigos	Descrição	Tempo de agitação (h)	Tempo de secagem (h)
1	CS1	1% de quitosana	2	30
2	CS2	2% de quitosana	2	30
3	CS1C1	1% de quitosana com 1% de óleo de cravo	4	48
4	CS1C3	1% de quitosana com 3% de óleo de cravo	4	60
5	CS1M1	1% de quitosana com 1% de óleo de melaleuca	4	48
6	CS1M3	1% de quitosana com 3% de óleo de melaleuca	4	48
7	CS1CJ1	1% de quitosana com 1% de suco de caju	2	30
8	CS1CJ3	1% de quitosana com 3% de suco de caju	2	30

9	CS1PCJ1	1% de quitosana com 1% de pó de caju	2	30
10	CS1PCJ3	1% de quitosana com 3% de pó de caju	2	30
11	CS1N1	1% de quitosana com 1% de polpa de noni	2	30
12	CS1N3	1% de quitosana com 3% de polpa de noni	2	30
13	CS1PN1	1% de quitosana com 1% de pó de noni	2	30
14	CS1PN3	1% de quitosana com 3% de pó de noni	2	30

4.2.4 Caracterização das amostras

4.2.4.1 Grau de desacetilação da quitosana

O método empregado na determinação do conteúdo de grupos aminos na cadeia polimérica da quitosana foi baseado por Broussignac (1970). O procedimento experimental consistiu em pesar 0,1 g de quitosana e dissolvê-la em 4,0 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) de concentração igual a 0,3 M. Ao sistema foi adicionado um volume de 400 mL de água destilada para melhorar a dispersão do polímero na solução. A titulação potenciométrica foi efetuada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 M, medindo-se a variação de pH da solução titulada.

Um gráfico com os valores de pH versus o volume gasto de titulante (NaOH) foi plotado para identificar os dois pontos de equivalência e assim calcular o grau de desacetilação, empregando a fórmula conforme reportada por Broussignac (1970) (Equação 3).

$$\%NH_2 = 16,1 * (V_2 - V_1) * \left(\frac{M_b}{w}\right) \quad (3)$$

Onde:

V₁ e V₂ correspondem aos volumes no primeiro e segundo ponto de equivalência (mL);

M_b é a molaridade da base (g/mol);

W é a massa do polímero empregada na titulação (g).

A titulação potenciométrica foi realizada em triplicata no Laboratório de Materiais Poliméricos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.

4.2.4.2 Avaliação qualitativa

As emulsões poliméricas das 14 composições estudadas foram analisadas qualitativamente quanto à solubilidade, viscosidade, cor, presença de bolhas, e as suas membranas quanto a cor, presença de impurezas, falhas, aderência, flexibilidade e resistência mecânica, utilizando-se da análise visual e do tato. O escurecimento com o tempo também foi analisado nas membranas, para sua análise, amostras nas dimensões 1,5x1,5 cm foram fotografadas durante um período de 3 meses.

Essas análises foram realizadas no Laboratório de Materiais Poliméricos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.

4.2.4.3 Espessura

As espessuras das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais foram medidas utilizando o micrômetro da Mitutoyo que tem capacidade de medição de 0 a 25 mm, resolução milesimal de 0,001 mm e exatidão de $\pm 2 \mu$ (Figura 20a). A espessura final foi resultado da média de 6 pontos distintos distribuídos ao longo de toda a membrana polimérica (Figura 20b).

Essa análise simples e rápida, também foi efetuada no Laboratório de Materiais Poliméricos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.



Figura 20 – Micrômetro da Mitutoyo utilizado nas medidas de espessura (a) e representação esquemática das medidas de espessuras ao longo da membrana (b).

4.2.4.4 Atividade antimicrobiana

Os testes microbiológicos foram realizados para determinar se os óleos essenciais de cravo e melaleuca, o suco de caju, a polpa de noni e seus respectivos pós, assim como as emulsões de quitosana pura e quitosana incorporada com esses bioativos naturais são capazes de inibir o crescimento de uma bactéria gram-negativa, uma gram-positiva, além de um fungo. As análises foram realizadas no CERTBIO da UFCG.

O método utilizado foi o de difusão em ágar descrito por Althertum e colaboradores (1999), que consiste em depositar um antimicrobiano impregnado em um pedaço de papel filtro em forma de disco e fixá-lo em um meio de cultura sólido apropriado previamente semeado com a bactéria teste. Dependendo da atividade presente no antimicrobiano em relação a bactéria, halos de inibição podem ser formados no meio em torno do disco, indicando o não crescimento microbiano. O diâmetro do halo varia de acordo com a velocidade de difusão do antimicrobiano testado e com a sensibilidade da bactéria.

As amostras foram manipuladas em ambiente estéril utilizando a cabine de segurança biológica da marca Quimis modelo Q216F21RA1. Para o ensaio foi utilizado meio de cultura Mueller Hinton Broth (Caldo Mueller Hinton- Kasvi - Italy) adicionado de meio solidificante (BactoAgar – BD). As cepas empregadas na análise foram as bactérias gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e gram-negativa *Escherichia coli* ATCC 25922, e o fungo *Candida albicans* ATCC 10231.

4.2.4.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros na região do infravermelho foram registrados à temperatura ambiente em um espectrofotômetro Spectrum 400 da Perkin Elmer, acoplado ao módulo ATR, cristal de diamante e prisma ZnSe na região espectral de 4000 a 600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras. As análises foram realizadas nas amostras sob a forma de membranas e de pós, no CERTBIO da UFCG.

4.2.4.6 Molhabilidade por ângulo de contato

O método empregado para determinação da medida de molhabilidade por ângulo de contato dos filmes com os fluidos, água destilada e PBS, foi o da gota estática. A análise aconteceu no goniômetro da marca Ramé-Hart, modelo 190 CA, usando volume de 50 μL de solução em análise que foi depositado na membrana e fotografado por uma câmera digital SAMSUNG® Digimax V4000 dentro do tempo máximo de 1 min. Devido à rápida variação do ângulo com o tempo, foram tomadas 9 medidas para cada amostra. As análises foram realizadas a uma temperatura de $20 \pm 5^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de 60% e pHs de 5,18 e 7,2 para a água destilada e o PBS, respectivamente. Essas medidas foram executadas no CERTBIO da UFCG.

4.2.4.7 Grau de intumescimento

Para avaliar a capacidade de intumescimento das membranas quando imersas em água destilada (pH = 5,54) e PBS (pH = 6,44), amostras das membranas no tamanho (2x2) cm foram cortadas, pesadas (P_s) em balança analítica com precisão de 4 casas decimais da marca SHIMADZU, modelo AY220 e, em seguida, imersas em 20 mL de solução em placa de acrílico de 6 cm de diâmetro. O período de permanência das membranas em solução foi de 1, 2 e 3 h. Em seguida, as membranas foram colocadas sobre papel toalha para retirada do excesso de solução, e novamente pesadas, obtendo-se assim a massa úmida (P_u). O ensaio foi realizado em triplicata e seguiu a metodologia de Pal e Pal (2006) com algumas adaptações.

A Equação 4 foi utilizada no cálculo do grau de intumescimento (G_i) das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais.

$$G_i = \left(\frac{P_u - P_s}{P_s} \right) * 100 \quad (4)$$

Onde:

G_i é o grau de intumescimento em porcentagem (%);

P_s é a massa inicial antes do intumescimento (g);

P_u é a massa final após o intumescimento (g).

O ensaio de intumescimento foi realizado no Laboratório de Materiais Poliméricos do Departamento de Engenharia de Materiais da UFPB.

4.2.4.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As morfologias das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com substâncias biologicamente ativas foram analisadas através da microscopia eletrônica de varredura. O procedimento experimental consistiu em cortar as amostras no tamanho de 0,7x0,7 cm e recobri-las com uma fina camada de ouro, de espessura em torno de 22,5 nm e corrente de 25 mA por um tempo de 1min e 30s, utilizando o metalizador Emitech, modelo K550X do Laboratório de Caracterização de Materiais da UFCG. As imagens das superfícies foram geradas usando um detector de elétrons secundários sob vácuo e tensão de 10 kV, com ampliações de 500, 1000 e 3000X através do microscópio eletrônico de varredura da RG Zeiss, modelo LEO 1430 do Laboratório de Solidificação Rápida do Departamento de Engenharia de Mecânica da UFPB.

4.2.4.9 Ensaio de tração

O ensaio de tração foi executado em uma máquina universal AG-X de 10 kN da Shimadzu, conforme a norma ASTM D 882 (1995) no Laboratório de Ensaios Mecânicos da UFPB. Os parâmetros adotados foram: célula de carga de 20 Kgf, velocidade de deslocamento do travessão de 5 mm/min e corpo de prova retangular com 10 mm de largura, comprimento

de base de 50 mm e espessura variando entre 0,049 e 0,173 mm, de acordo com a composição analisada. Este ensaio foi realizado à temperatura ambiente e com número mínimo de 6 amostras por composição para avaliar a resistência à tração (RT), o alongamento na ruptura (%) e o módulo de elasticidade (ME) das membranas de quitosana.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ATOMIZAÇÃO DO CAJU E DO NONI

5.1.1 Teor de sólidos totais

Antes de iniciar o processo de atomização, usando o suco de caju e a polpa de noni, ambos *in natura*, para obtenção dos pós, foi necessário determinar primeiramente, o teor de sólidos totais referente às frutas de modo a calcular o percentual do agente carreador (maltodextrina) a ser incorporado nas respectivas diluições. O teor de sólidos totais obtido foi de 10,81% para o suco de caju e 10,05% para a polpa de noni. Esse resultado implica afirmar que 89,19% do suco de caju e 89,95% da polpa de noni são constituídas de água. Como para a atomização do noni necessitou-se de uma diluição 1:1 (V/V) da polpa em água destilada para evitar entupimentos no equipamento *spray dryer*, devido a sua viscosidade e consistência, o teor de sólidos totais sofreu uma diminuição, ficando em 5,5%, sendo este o valor utilizado na determinação do percentual da maltodextrina. A maltodextrina foi utilizada para minimizar os problemas da alta pegajosidade e higroscopicidade presentes no caju e noni.

Segundo a legislação brasileira, o suco de caju deve obedecer à composição de 10,5% no mínimo de sólidos totais para estar dentro dos padrões de identidade e qualidade (BRASIL, 2000). Verifica-se, então, que o valor de sólidos totais obtido para o caju nesse trabalho, está em concordância com o valor tabelado estipulado pela legislação. Quanto ao noni, por ser uma fruta pouco difundida no país, cujas evidências científicas avaliadas até o momento não comprovam a segurança dos seus produtos como alimento, não havendo legislação que libere a sua comercialização, nem muito menos que regule os padrões de características e composições que a fruta deve apresentar (ANVISA, 2007).

Nos trabalhos com o suco de caju, Moura (2017) obteve $(14,328 \pm 0,002)\%$ de sólidos totais e Santos Filho (2016) $(14,49 \pm 0,28)\%$. Enquanto que Gadelha et al. (2009) trabalhando com polpa de caju comercializada em supermercado, observou um valor igual a $(11,2278 \pm 0,0042)\%$; esse teor, por sua vez, é o mais próximo ao encontrado no suco dos frutos utilizados nesse trabalho.

Em análises das propriedades físico-químicas da polpa de noni realizadas por Costa (2011), Correia (2010), Chan-Blanco et al. (2006), Canuto et al. (2010) e Chan-Blanco et al. (2007) foram observados valores de umidade de 88,36%, 89,44%, 90,0%, 90,2% e 91,9%, podendo afirmar que os teores de sólidos totais no noni são 11,64%, 10,56%, 10,0%, 9,8% e

8,1%, respectivamente. O valor encontrado para as frutas do noni empregado no presente estudo estão de acordo com esses reportados na literatura.

O processo de secagem por atomização é viável, se o teor de sólidos totais estiver em torno de 25% (NATH; SATPATHY, 1988). Como obteve-se 10,81 e 5,5% de sólidos totais para o suco de caju e para a polpa de noni diluída, respectivamente, fixou-se uma concentração de 20% em massa de maltodextrina, a ser usado como agente encapsulante no processo de atomização para obtenção dos seus respectivos pós.

5.1.2 Rendimento do processo

Os rendimentos alcançados na atomização do suco de caju e polpa de noni foram 16,68 e 14,78%, respectivamente. Tais valores encontram-se abaixo dos relatados em estudos de atomização com alimentos encontrados na literatura. No trabalho com o suco de caju atomizado, Moura (2017) e Rocha et al. (2014), obtiveram rendimentos cujos valores variaram de 6,26 a 42,38% e 73,98 a 99,30%, respectivamente. Rodrigues (2011) no seu estudo com extratos de folhas de café alcançou rendimentos que variaram de 31,73 a 67,62%. Não diferente dos autores citados, Santos et al. (2014) e Queiroz Pegado et al. (2016) obtiveram resultados significativos na secagem do suco de acerola, alcançando rendimentos que variaram de 54,4 a 71,2% e 23,9 a 58,2%, respectivamente.

Na secagem por atomização, fatores como temperatura de entrada e concentração de agente carreador influenciam no rendimento final do processo. Enquanto alguns estudos relatam que menores temperaturas de entrada e maiores concentrações de agente carreador resultam em rendimentos maiores, outros relatam o contrário (TONELI, 2006; TONON, 2009; RODRIGUES, 2011; MORAES, 2014; MOURA, 2017). Explicar com precisão a causa para os baixos rendimentos encontrados não é possível, tendo em vista, a ausência de parâmetros para comparação (mesma temperatura de entrada e mesma concentração de maltodextrina). Mas, uma das possíveis causas para os baixos rendimentos encontrados pode ter sido a aderência de produto no interior da câmara de secagem, problema muito comum em processos de atomização (MASTERS, 1991; MASTERS, 2002; HUANG; MUJUMDAR, 2006; LANGRISH; CHAN; KOTA, 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2008; BHANDARI; ADHIKARI, 2009; WOO et al., 2009; FILKOVÁ; GOULA; ADAMAPOULOS, 2010; EVONIK, 2013).

5.1.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

Os ácidos orgânicos presentes nos alimentos influenciam diversos parâmetros de qualidade destes como a cor, odor, sabor e estabilidade (MOURA, 2010). Os resultados das medições de pH do suco de caju *in natura*, do suco com a maltodextrina alimentado no *spray dryer* e dos pós reidratados encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de pH medidos para o caju.

Amostra	pH				
	1	2	3	Média	Desvio Padrão
Suco de caju <i>in natura</i>	3,83	3,85	3,85	3,84	0,01
Suco de caju + Maltodextrina	3,27	3,30	3,30	3,29	0,02
Pó de caju reidratado	3,62	3,65	3,64	3,64	0,02

De acordo com os padrões de identidade e qualidade para o suco de caju, o valor mínimo de pH permitido é 3,80 (BRASIL, 2016). Assim, está em conformidade com a legislação, o pH apresentado pelo suco *in natura* em estudo, nesse trabalho. Valores próximos a $3,84 \pm 0,01$ (suco *in natura*, Tabela 5), foram obtidos por Pinheiro et al. (2006) com pH na faixa de 3,17 a 4,06, Gadelha et al. (2009) com pH de 3,85, Batista et al. (2013) com pH entre 3,86 a 4,21 e Brandão et al. (2003) com pH igual a $4,01 \pm 0,02$.

A adição do agente carreador proporciona uma discreta diminuição de pH no suco de caju. Comportamento semelhante foi observado por Moura (2017), onde o pH do suco *in natura* passou de $4,383 \pm 0,005$ para $3,893 \pm 0,005$ com a adição de 3% de goma arábica e 9% de maltodextrina, para $4,020 \pm 0,010$ com a adição de 4% de goma arábica e 12% de maltodextrina e para $4,260 \pm 0,005$ com a adição de 5% de goma arábica e 15% de maltodextrina.

Comparando os resultados de pH antes e após o processo de secagem para o caju, verifica-se que os ácidos do suco foram preservados no pó reidratado, tendo em vista que os valores de pH para o suco posto na alimentação do secador apresentaram-se semelhantes aos encontrados após a secagem. O suco do pó de caju oriundo da atomização com 30% em massa de maltodextrina realizado por Rocha et al. (2014), apresentou pH $3,88 \pm 0,01$, valor próximo ao encontrado para o pó reidratado nesse estudo que foi de $3,64 \pm 0,02$ (pó reidratado, Tabela

5), indicando a semelhança que esses pós atomizados de caju apresentam quanto a medida de acidez.

Os resultados das medições de pH da polpa de noni *in natura*, da polpa diluída em água com e sem a adição da maltodextrina e o pH do suco do pó de noni encontram-se descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de pH medidos para o noni.

Amostra	pH				
	1	2	3	Média	Desvio Padrão
Polpa de noni <i>in natura</i>	3,30	3,31	3,31	3,31	0,01
Polpa de noni diluída	3,31	3,34	3,32	3,32	0,02
Polpa de noni diluída + Maltodextrina	3,26	3,28	3,28	3,27	0,01
Pó de noni reidratado	3,27	3,26	3,25	3,26	0,01

Do levantamento bibliográfico realizado por Correia em 2010 sobre as propriedades químicas e físico-químicas da polpa de noni, nota-se que o pH verificado por Chunhieng (2003) foi de 3,72, por Barros et al. (2008) foi de 3,85, por Chan-Blanco et al. (2007) foi de 4,00 e por Silva et al. (2009) o pH encontrava-se numa faixa de 4,66 a 5,00. Esses valores são maiores do que o verificado para a polpa de noni *in natura* utilizada no presente estudo. Tais diferenças podem ser justificadas pela variação que a composição química do noni pode sofrer com fatores ambientais, genéticos, distribuição geográfica e estádios de maturação (CORREIA et al., 2011).

A análise dos valores permitiu constatar que a diluição não afetou no valor de pH da polpa de noni; a maltodextrina proporcionou um leve aumento na acidez da polpa e os sucos dos pós apresentaram pH semelhantes ao pH da polpa alimentada no *spray dryer*, comprovando que a atomização foi eficiente, não alterando a acidez da polpa.

Valor semelhante ao pH de 3,26 medido para o pó reidratado de noni, foi relatado por Figueirêdo, Grandin e Martucci (2011) quando estudaram a atomização da acerola. O valor do pH do pó reidratado encontrado por eles ficou em torno de 3,50.

Segundo Vasconcelos e Melo Filho (2010), os alimentos são classificados como ácidos quando o pH é menor que 4,5 e de baixa acidez quando o pH é maior que 4,5. Como os

valores de pH para o suco de caju, polpa de noni e para seus respectivos pós são menores que 4,5, tais produtos são classificados como alimentos ácidos. Tal propriedade confere estabilidade aos pós, tendo em vista, que a acidez dificulta o desenvolvimento e a proliferação de micro-organismos (ROCHA et al., 2014), podendo ser útil no tratamento de feridas.

5.1.4 Atividade de água

A água presente nos alimentos pode ser encontrada na forma livre ou imobilizada. E diferentemente da umidade que mede o percentual em peso de toda água no alimento, tanto livre quanto ligada, a atividade de água (a_w) é um dos fatores intrínsecos dos alimentos que possibilita avaliar a disponibilidade de água livre presente no alimento que está susceptível a reações físicas, químicas e biológicas (SCOTT, 1957; WELTI; VERGARA, 1997).

Ainda segundo SCOTT (1957), a atividade de água é definida como a razão entre a pressão de vapor de água presente em um alimento e a pressão de vapor da água pura, em temperatura constante, ambos à mesma temperatura.

Brochier (2013) cita que vários autores defendem que a atividade de água mínima necessária para que haja crescimento de micro-organismos depende do tipo de soluto; e que a literatura estabelece alguns intervalos limite para que a contaminação dos produtos seja facilitada. Micro-organismos osmofílicos se desenvolvem em a_w até 0,6; alguns bolores podem crescer em a_w igual a 0,8; leveduras estão propícias a existir em a_w até 0,87; e bactérias patogênicas podem se desenvolver em ambientes com a_w até 0,91.

Os pós de caju e noni apresentaram atividade de água de 0,227 e 0,207, respectivamente, o que é bastante favorável, uma vez que os alimentos com atividade de água menor que 0,6 são considerados microbiologicamente estáveis (QUEK; CHOK; SWEDLUND, 2006). Estes valores estão em concordância com o esperado e corroboram com os resultados do potencial hidrogeniônico discutidos no item anterior.

Os resultados de a_w obtidos na atomização de caju e noni mostraram-se semelhantes aos obtidos por Moura (2017) em seu trabalho com a atomização do suco de caju em diferentes temperaturas de entrada e proporções de goma arábica e maltodextrina nas formulações. Rocha (2013) constatou uma diminuição considerável na a_w para o suco integral de caju quando submetido ao processo de secagem por atomização, passando de $0,99 \pm 0,00$

para $0,22 \pm 0,00$. A redução da ordem de 77,78 % conferiu ao pó do suco de caju uma maior estabilidade microbiológica e, conseqüentemente, um aumento na vida útil do produto.

O valor encontrado para a a_w (0,93) da polpa de noni por Correia et al. (2011), o caracteriza como alimento de alta umidade ($a_w > 0,85$), o que favorece a perecibilidade do fruto, e por consequência afeta sua estabilidade quanto ao ataque microbiano, qualidade e composição. A secagem, então, vem proporcionar aos alimentos que facilmente são atacados por micro-organismos, como o noni e caju, possibilidades de melhorias de suas propriedades químicas e físico-químicas, além de promover uma gama de aplicações para os frutos em estudo.

5.1.5 Distribuição de tamanho de partículas

A distribuição de tamanho de partículas consiste em expressar a frequência da quantidade de partículas sólidas em cada faixa de tamanho, que normalmente é dada em fração mássica ou volumétrica, em função dos diferentes diâmetros de partícula encontrados em uma amostra (BRAGA, 2007). É uma análise importante em vários aspectos para os alimentos em pó, como por exemplo, no processamento, manipulação e na determinação de sua vida de prateleira. Dependendo do produto, o tamanho das partículas pode influenciar o sabor, a cor, a textura e o odor do produto final (O'HAGAN et al., 2005).

As Figuras 21 e 22 mostram as curvas de distribuição de tamanho de partículas para os pós de caju e noni, respectivamente.

Na curva de distribuição de tamanho de partículas para o pó obtido a partir do suco de caju (Figura 21), observa-se um tamanho médio de partículas igual a $10,89 \mu\text{m}$ e o gráfico apresenta comportamento polimodal com três picos distintos, cada um representando um tamanho predominante. O pó de noni (Figura 22), por sua vez, apresenta um tamanho médio de partículas ligeiramente maior ($12,11 \mu\text{m}$) e uma curva de distribuição de tamanho de partículas do tipo bimodal (dois picos distintos). Essa heterogeneidade de tamanhos é uma característica interessante para partículas obtidas por *spray drying*, pois as partículas menores podem ocupar os espaços disponíveis entre as partículas maiores trazendo benefícios durante a etapa de armazenamento destes materiais (CARNEIRO, 2011). A presença de partículas de menor tamanho pode ser atribuída às partículas que não conseguiram encapsular o suco, enquanto que a presença de partículas maiores pode ser atribuída ao início do processo de

aglomeração, onde a formação de ligações ou pontes irreversíveis leva à formação de partículas de tamanho maior (RODRIGUES, 2004; TONTON; BRABET; HUBINGER, 2008).

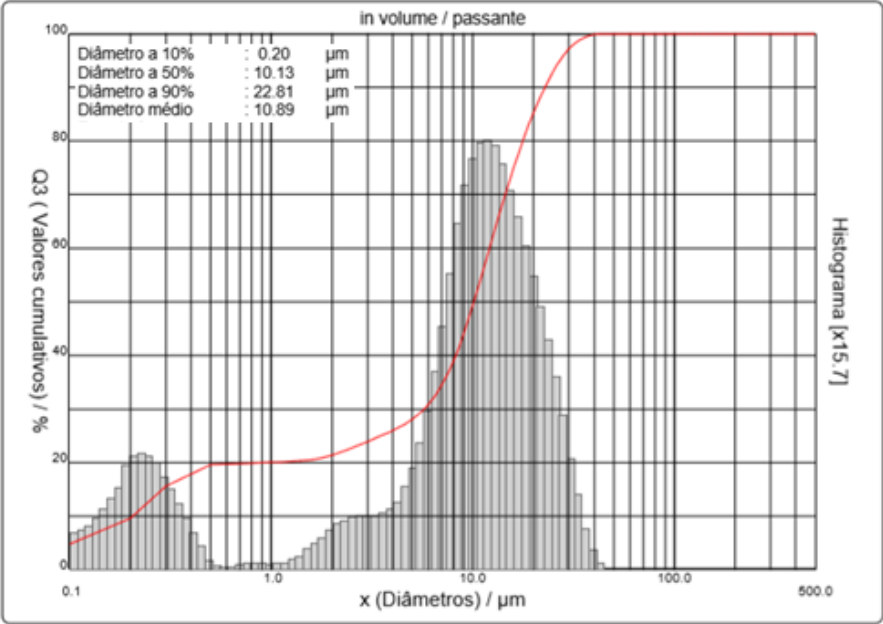


Figura 21 – Distribuição de tamanho de partículas para o pó de caju.

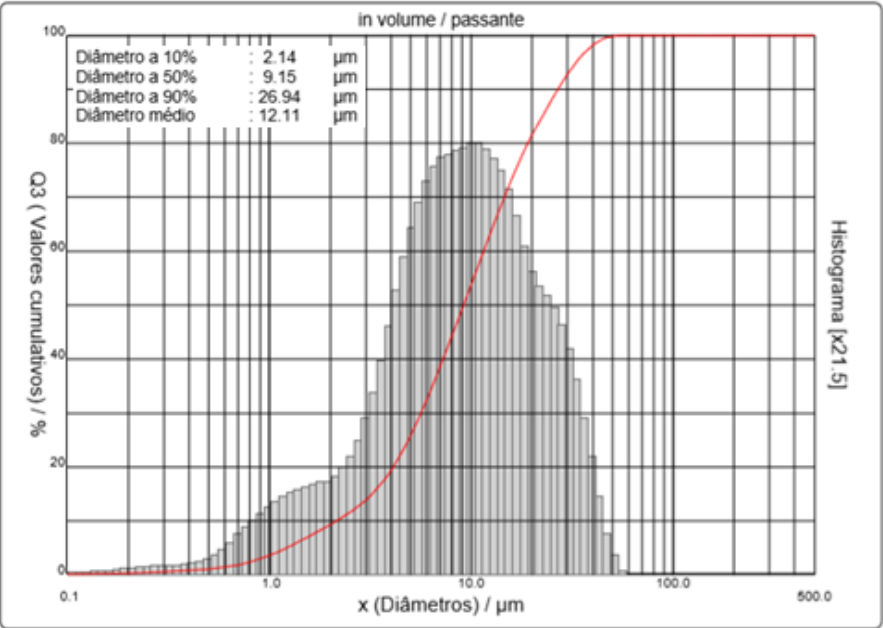


Figura 22 – Distribuição de tamanho de partículas para o pó de noni.

Tonon (2009) trabalhando com a atomização do suco de açaí e avaliando a influência da temperatura de entrada e concentração da maltodextrina na qualidade e estabilidade do produto, observou que fixando a concentração de maltodextrina em 20%, e variando as temperaturas em 138, 170 e 202 °C, os tamanhos médios sofreram variação e apresentaram os seguintes valores, respectivamente, 13,38, 16,12 e 20,11 μm . Verifica-se que o diâmetro médio das partículas para a menor temperatura (138 °C) é semelhante aos obtidos para os pós de caju e noni, usando uma temperatura de 140 °C. Valor aproximado também foi encontrado por Moura (2017), quando atomizou o suco de caju com 5% de goma arábica e 15% de maltodextrina na temperatura de 140 °C, obtendo um diâmetro médio de 10,00 μm .

5.2 MEMBRANAS DE QUITOSANA PELO MÉTODO *CASTING*

5.2.1 Grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação é uma importante propriedade a ser investigada no trabalho com quitosana, uma vez que determina a quantidade de grupos amino presentes no biopolímero (KUMAR, 2000). O efeito desse parâmetro nas propriedades físico-químicas da quitosana em solução é algo muito estudado por pesquisadores, uma vez que para obter o material sob as formas de gel, filme, esponja ou fibra, é necessário antes preparar suas soluções poliméricas (CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, 1999; KURITA, 2001; SORLIER; VITON; DOMARD, 2002; SCHATZ et al., 2003; HSU et al., 2004; ALVES, 2008).

O método de titulação potenciométrica foi escolhido por ser um dos mais simples e eficazes para a determinação do grau de desacetilação, tendo em vista que os equipamentos e reagentes requeridos são normalmente disponíveis em laboratórios químicos de rotina (BATISTA, 2009).

Curvas de pH versus o volume de solução titulante foram geradas com os valores obtidos nas titulações potenciométricas de modo a se identificar os dois pontos de equivalência necessários no cálculo do grau de desacetilação (Figura 23).

O ponto de equivalência na curva de titulação é o momento em que o titulado reage completamente com a solução titulante. Os volumes V_1 e V_2 da Equação 3 são esses pontos e

referem-se aos volumes necessários de solução de NaOH para neutralizar o excesso de HCl e os grupos aminos presentes na cadeia da quitosana, respectivamente (COELHO, 2006). A diferença entre V_1 e V_2 , corresponde ao volume de solução titulante requerida para neutralizar apenas os grupos amino protonados do biopolímero.

As curvas de titulação não apresentam a simetria característica das titulações de ácido e base forte, e tal comportamento é esperado uma vez que a medida que se titula ácidos e bases fracas, e quando as soluções dos mesmos vão se tornando mais diluídas, a determinação do ponto de equivalência vai se tornando cada vez mais difícil. E a razão disso está nas pequenas inflexões que as curvas apresentam nas proximidades do ponto de equivalência (TÔRRES, 2010).

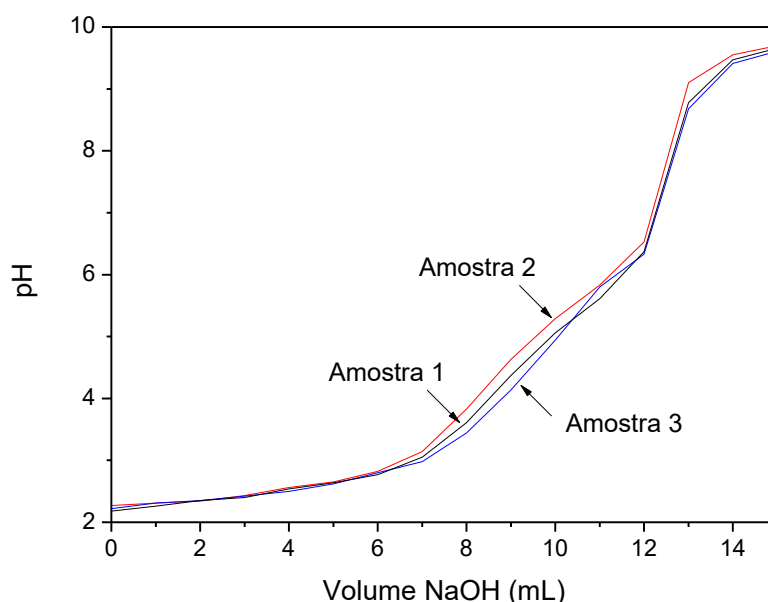


Figura 23 – Curvas das titulações potenciométricas das amostras 1, 2 e 3 de quitosana.

Os valores de V_1 e V_2 observados nas curvas acima foram 7,5 e 12,5 para amostra 1; 7,6 e 12,5 para amostra 2 e 7,5 e 12,5 para a amostra 3 de quitosana. Empregando esses valores na Equação 3, com $M_b = 0,1 \text{ molL}^{-1}$ e $W = 0,1004, 0,1008$ e $0,1002 \text{ g}$ para as amostras 1, 2 e 3, respectivamente, a quitosana apresentou graus de desacetilação (GD) de 80,3%, 78,3% e 80,3%, apresentando média de $(79,63 \pm 1,15)\%$. Esse valor encontra-se um pouco abaixo dos lotes de quitosana fornecidos pelo CERTBIO para estudo nesse trabalho, que tinham valores de GD na faixa de 80-83%.

Fávere (1994) ao empregar também o método de Broussignac em seu trabalho com quitina, quitosana e quitosanas modificadas para absorção de íons Cu (II), Cd (II), Ni (II), Pb (II) e Zn (II), obteve grau de desacetilação de 75,2%.

Das titulações potenciométricas realizadas por Santos, Cirilo e Nunes (2011), Peres (2014) e Muller (2013), os valores obtidos para o grau de desacetilação da quitosana foram 76,2%, 80,03% e 81,9 %, respectivamente, o que significa dizer que elas possuem em sua estrutura, percentuais de 23,8%, 19,97% e 18,1% de grupos acetilados. Esses valores de graus de desacetilação são semelhantes aos encontrados nesse trabalho, o que permite concluir que as propriedades físico-químicas observadas nessas quitosanas podem ser semelhantes às fornecidas pelo Certbio e usadas neste trabalho.

Os graus de desacetilação calculados encontram-se dentro da faixa dos dados encontrados na literatura, os quais podem variar de 50,0 a 92,3% (MARTINO, 1996).

Segundo Howling et al. (2001), quitosanas de alto grau de desacetilação, como a empregada nesse estudo, são as mais eficientes na modulação da mitogênese dos fibroblastos humanos. Chatelet et al. (2001) encontraram que, de uma forma geral, um aumento contínuo da adesão e da proliferação celular é observado quando se há aumento na quantidade de grupos aminos presentes na cadeia do polímero pelo fato de aumentar na superfície a densidade de cargas. Todas essas particularidades acabam por acelerar o processo de cicatrização das feridas, que tem atraído nosso grupo de pesquisa para investigação nessa área.

5.2.2 Avaliação qualitativa

As membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais preparadas conforme metodologia descrita no item 4.2.3 desse trabalho, encontram-se exibidas na Figura 24, assim como suas respectivas características estão reportadas na Tabela 7. Apesar da coloração das membranas variarem significativamente com o tipo e concentração de bioativos empregados, de um modo geral, todas as membranas de quitosana apresentaram boa transparência à luz visível além de aderência, flexibilidade e resistência mecânica quando tocadas.

1021	Tachometers & Stroboscopes	1021
1022-1025	Tanks	1022-1025
1026-1039	Tape	1026-1039
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1040-1045
1046-1085	Labels & Crayons	1046-1085
1086-1089	Glass Thermometers	1086-1089
1090-1110	Dial/Bimetal	1090-1110
1111-1121	Digital Indicators	1111-1121
1122-1135	Thermocouple Instruments	1122-1135
1136-1174	Thermistor Meters	1136-1174
1175-1176	RTD Meters	1175-1176
1177	Infrared	1177
1178-1215	Control	1178-1215
1216-1455	Probes	1216-1455
1216-1327	Recorders	1216-1327
1234-1235	Calibration	1234-1235
1236-1252	Tensiometers	1236-1252
1253-1259	Timers	1253-1259
1260-1287	Tissue & Cell Culture	1260-1287
1288-1291	Titration	1288-1291
1292-1296	Tongs & Tweezers	1292-1296
1297-1310	Tools	1297-1310
1311-1315	Trays	1311-1315
1316	Tubes	1316
1317-1327	Tubing	1317-1327
1328-1341	Turbidity	1328-1341
1342-1345	Ultrasonic Cleaners	1342-1345
1346-1362	Ultrasonic Processors	1346-1362

CS1

EXPANDED 1090-1110	Dial/Bimetal	1090-1110
1111-1121	Digital Indicators	1111-1121
1122-1135	Thermocouple Instruments	1122-1135
1136-1174	Thermistor Meters	1136-1174
1175-1176	RTD Meters	1175-1176
1177	Infrared	1177
1178-1215	Control	1178-1215
1216-1455	Probes	1216-1455
1216-1327	Recorders	1216-1327
1234-1235	Calibration	1234-1235
1236-1252	Tensiometers	1236-1252
1253-1259	Timers	1253-1259
1260-1287	Tissue & Cell Culture	1260-1287
1288-1291	Titration	1288-1291
1292-1296	Tongs & Tweezers	1292-1296
1297-1310	Tools	1297-1310
1311-1315	Trays	1311-1315
1316	Tubes	1316
1317-1327	Tubing	1317-1327
1328-1341	Turbidity	1328-1341
1342-1345	Ultrasonic Cleaners	1342-1345
1346-1362	Ultrasonic Processors	1346-1362
1363	Ultraviolet Equipment	1363
1364-1378	Vacuum Pumps	1364-1378
1379-1391	Valves	1379-1391
1392-1424	Vials	1392-1424
1425-1438	Vibration Measurement	1425-1438
1439-1445	Vasometers	1439-1445
1446-1449	Washers	1446-1449
1450-1451	Watch Glasses & Glass Wool	1450-1451
1452-1460	Water Purification	1452-1460
1461-1479	Water Sampling	1461-1479
1480-1490	Water Testing	1480-1490
1491-1522	Weather Measurement	1491-1522

CS2

1021	Tachometers & Stroboscopes	1021
1022-1025	Tanks	1022-1025
1026-1039	Tape	1026-1039
1040-1045	Temperature	1040-1045
1046-1085	Labels & Crayons	1046-1085
1086-1089	Glass Thermometers	1086-1089
1090-1110	Dial/Bimetal	1090-1110
1111-1121	Digital Indicators	1111-1121
1122-1135	Thermocouple Instruments	1122-1135
1136-1174	Thermistor Meters	1136-1174
1175-1176	RTD Meters	1175-1176
1177	Infrared	1177
1178-1215	Control	1178-1215
1216-1455	Probes	1216-1455
1216-1327	Recorders	1216-1327
1234-1235	Calibration	1234-1235
1236-1252	Tensiometers	1236-1252
1253-1259	Timers	1253-1259
1260-1287	Tissue & Cell Culture	1260-1287
1288-1291	Titration	1288-1291
1292-1296	Tongs & Tweezers	1292-1296
1297-1310	Tools	1297-1310
1311-1315	Trays	1311-1315
1316	Tubes	1316
1317-1327	Tubing	1317-1327
1328-1341	Turbidity	1328-1341
1342-1345	Ultrasonic Cleaners	1342-1345
1346-1362	Ultrasonic Processors	1346-1362

CS1C1

EXPANDED 1090-1110	Dial/Bimetal	1090-1110
1111-1121	Digital Indicators	1111-1121
1122-1135	Thermocouple Instruments	1122-1135
1136-1174	Thermistor Meters	1136-1174
1175-1176	RTD Meters	1175-1176
1177	Infrared	1177
1178-1215	Control	1178-1215
1216-1455	Probes	1216-1455
1216-1327	Recorders	1216-1327
1234-1235	Calibration	1234-1235
1236-1252	Tensiometers	1236-1252
1253-1259	Timers	1253-1259
1260-1287	Tissue & Cell Culture	1260-1287
1288-1291	Titration	1288-1291
1292-1296	Tongs & Tweezers	1292-1296
1297-1310	Tools	1297-1310
1311-1315	Trays	1311-1315
1316	Tubes	1316
1317-1327	Tubing	1317-1327
1328-1341	Turbidity	1328-1341
1342-1345	Ultrasonic Cleaners	1342-1345
1346-1362	Ultrasonic Processors	1346-1362
1363	Ultraviolet Equipment	1363
1364-1378	Vacuum Pumps	1364-1378
1379-1391	Valves	1379-1391
1392-1424	Vials	1392-1424
1425-1438	Vibration Measurement	1425-1438
1439-1445	Vasometers	1439-1445

CS1C3

1021	Tachometers & Stroboscopes	1021
1022-1025	Tanks	1022-1025
1026-1039	Tape	1026-1039
1040-1045	Temperature	1040-1045
1046-1085	Labels & Crayons	1046-1085
1086-1089	Glass Thermometers	1086-1089
1090-1110	Dial/Bimetal	1090-1110
1111-1121	Digital Indicators	1111-1121
1122-1135	Thermocouple Instruments	1122-1135
1136-1174	Thermistor Meters	1136-1174
1175-1176	RTD Meters	1175-1176
1177	Infrared	1177
1178-1215	Control	1178-1215
1216-1455	Probes	1216-1455
1216-1327	Recorders	1216-1327
1234-1235	Calibration	1234-1235
1236-1252	Tensiometers	1236-1252
1253-1259	Timers	1253-1259
1260-1287	Tissue & Cell Culture	1260-1287
1288-1291	Titration	1288-1291
1292-1296	Tongs & Tweezers	1292-1296
1297-1310	Tools	1297-1310
1311-1315	Trays	1311-1315
1316	Tubes	1316
1317-1327	Tubing	1317-1327
1328-1341	Turbidity	1328-1341
1342-1345	Ultrasonic Cleaners	1342-1345
1346-1362	Ultrasonic Processors	1346-1362
1363	Ultraviolet Equipment	1363

CS1M1

1022-1039	Tape	1022-1039
1040-1045	Temperature	1040-1045
1046-1085	Labels & Crayons	1046-1085
1086-1089	Glass Thermometers	1086-1089
EXPANDED 1090-1110	Dial/Bimetal	1090-1110
1111-1121	Digital Indicators	1111-1121
1122-1135	Thermocouple Instruments	1122-1135
1136-1174	Thermistor Meters	1136-1174
1175-1176	RTD Meters	1175-1176
1177	Infrared	1177
1178-1215	Control	1178-1215
1216-1455	Probes	1216-1455
1216-1327	Recorders	1216-1327
1234-1235	Calibration	1234-1235
1236-1252	Tensiometers	1236-1252
1253-1259	Timers	1253-1259
1260-1287	Tissue & Cell Culture	1260-1287
1288-1291	Titration	1288-1291
1292-1296	Tongs & Tweezers	1292-1296
1297-1310	Tools	1297-1310
1311-1315	Trays	1311-1315
1316	Tubes	1316
1317-1327	Tubing	1317-1327
1328-1341	Turbidity	1328-1341
1342-1345	Ultrasonic Cleaners	1342-1345
1346-1362	Ultrasonic Processors	1346-1362
1363	Ultraviolet Equipment	1363
1364-1378	Vacuum Pumps	1364-1378
1379-1391	Valves	1379-1391
1392-1424	Vials	1392-1424

CS1M3

1022-1025	Tanks	1664-16
1026-1039	Tap	1666-16
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1668-16
1046-1135	Labels & Crayons	1671-16
1046-1085	Glass Thermometers	1684-16
1086-1089	Dial/Bimetal	1687-16
1090-1110	Digital Indicators	1700-17
EXPANDED 1111-1121	Thermocouple Instruments	1719-17
1122-1135	Thermistor Meters	1724-17
EXPANDED 1136-1174	RTD Meters	1729-17
1175-1176	Infrared	1730-17
1177	Control	1740-17
1178-1215	Probes	1747-17
1216-1455	Recorders	1772-17
1216-1327	Calibration	1777-17
1234-1235	Tensimeters	1781-17
1236-1252	Timers	1790-17
1253-1259	Tissue & Cell Culture	1802-17
1260-1287	Titration	1807-17
1288-1291	Ton's & Tweezers	1811-17
1292-1296	Tool	1815-17
1297-1310	Trays	1819-17
1311-1315	Tubes	1823-17
1316	Tubing	1860-17
1317-1327	Turbidity	1868-17
1328-1341	Ultrasonic Cleaners	1874-17
1342-1345	Ultrasonic Processors	1879-17
1346-1362	Ultraviolet Equipment	1891-17
1363	Vacuum Pumps	1913-17
1364-1378	Valves EXPANDED	1935-17
1379-1391	Vials	1945-17
1392-1424	Vibration Measurement	1950-17
1425-1438	Viscometers	1955-17
1439-1445	Viscosity	1960-17

CS1CJ1

1022-1025	Tanks	1659-1663
1026-1039	Tap	1664-1665
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1666-1679
1046-1135	Labels & Crayons	1668-1670
1046-1085	Glass Thermometers	1671-1683
1086-1089	Dial/Bimetal	1684-1686
1090-1110	Digital Indicators	1687-1699
EXPANDED 1111-1121	Thermocouple Instruments	1700-1718
1122-1135	Thermistor Meters	1719-1723
EXPANDED 1136-1174	RTD Meters	1724-1728
1175-1176	Infrared	1729-1739
1177	Control	1740-1746
1178-1215	Probes	1747-1771
1216-1455	Recorders	1772-1776
1216-1327	Calibration	1777-1779
1234-1235	Tensimeters	1781-1789
1236-1252	Timers	1790-1801
1253-1259	Tissue & Cell Culture	1802-1806
1260-1287	Titration	1807-1810
1288-1291	Ton's & Tweezers	1811-1814
1292-1296	Tool	1815-1817
1297-1310	Trays	1819-1822
1311-1315	Tubes	1823-1825
1316	Tubing	1826-1829
1317-1327	Turbidity	1830-1861
1328-1341	Ultrasonic Cleaners	1868-1871
1342-1345	Ultrasonic Processors	1874-1877
1346-1362	Ultraviolet Equipment	1879-1889
1363	Vacuum Pumps	1891-1911
1364-1378	Valves EXPANDED	1913-1934
1379-1391	Vials	1935-1944
1392-1424	Vibration Measurement	1945-1949
1425-1438	Viscometers	1950-1957
1439-1445	Viscosity	1960-1967

CS1CJ3

1022-1025	Tanks	1659-1663
1026-1039	Tap	1664-1665
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1666-1679
1046-1135	Labels & Crayons	1668-1670
1046-1085	Glass Thermometers	1671-1683
1086-1089	Dial/Bimetal	1684-1686
1090-1110	Digital Indicators	1687-1699
EXPANDED 1111-1121	Thermocouple Instruments	1700-1718
1122-1135	Thermistor Meters	1719-1723
EXPANDED 1136-1174	RTD Meters	1724-1728
1175-1176	Infrared	1729-1739
1177	Control	1740-1746
1178-1215	Probes	1747-1771
1216-1455	Recorders	1772-1776
1216-1327	Calibration	1777-1779
1234-1235	Tensimeters	1781-1789
1236-1252	Timers	1790-1801
1253-1259	Tissue & Cell Culture	1802-1806
1260-1287	Titration	1807-1810
1288-1291	Ton's & Tweezers	1811-1814
1292-1296	Tool	1815-1817
1297-1310	Trays	1819-1822
1311-1315	Tubes	1823-1825
1316	Tubing	1826-1829
1317-1327	Turbidity	1830-1861
1328-1341	Ultrasonic Cleaners	1868-1871
1342-1345	Ultrasonic Processors	1874-1877
1346-1362	Ultraviolet Equipment	1879-1889
1363	Vacuum Pumps	1891-1911
1364-1378	Valves EXPANDED	1913-1934
1379-1391	Vials	1935-1944
1392-1424	Vibration Measurement	1945-1949
1425-1438	Viscometers	1950-1957
1439-1445	Viscosity	1960-1967

CS1PCJ1

1022-1025	Tanks	1659-1663
1026-1039	Tap	1664-1665
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1666-1679
1046-1135	Labels & Crayons	1668-1670
1046-1085	Glass Thermometers	1671-1683
1086-1089	Dial/Bimetal	1684-1686
1090-1110	Digital Indicators	1687-1699
EXPANDED 1111-1121	Thermocouple Instruments	1700-1718
1122-1135	Thermistor Meters	1719-1723
EXPANDED 1136-1174	RTD Meters	1724-1728
1175-1176	Infrared	1729-1739
1177	Control	1740-1746
1178-1215	Probes	1747-1771
1216-1455	Recorders	1772-1776
1216-1327	Calibration	1777-1779
1234-1235	Tensimeters	1781-1789
1236-1252	Timers	1790-1801
1253-1259	Tissue & Cell Culture	1802-1806
1260-1287	Titration	1807-1810
1288-1291	Ton's & Tweezers	1811-1814
1292-1296	Tool	1815-1817
1297-1310	Trays	1819-1822
1311-1315	Tubes	1823-1825
1316	Tubing	1826-1829
1317-1327	Turbidity	1830-1861
1328-1341	Ultrasonic Cleaners	1868-1871
1342-1345	Ultrasonic Processors	1874-1877
1346-1362	Ultraviolet Equipment	1879-1889
1363	Vacuum Pumps	1891-1911
1364-1378	Valves EXPANDED	1913-1934
1379-1391	Vials	1935-1944
1392-1424	Vibration Measurement	1945-1949
1425-1438	Viscometers	1950-1957
1439-1445	Viscosity	1960-1967

CS1PCJ3

1022-1025	Tanks	1659-1663
1026-1039	Tap	1664-1665
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1666-1679
1046-1135	Labels & Crayons	1668-1670
1046-1085	Glass Thermometers	1671-1683
1086-1089	Dial/Bimetal	1684-1686
1090-1110	Digital Indicators	1687-1699
EXPANDED 1111-1121	Thermocouple Instruments	1700-1718
1122-1135	Thermistor Meters	1719-1723
EXPANDED 1136-1174	RTD Meters	1724-1728
1175-1176	Infrared	1729-1739
1177	Control	1740-1746
1178-1215	Probes	1747-1771
1216-1455	Recorders	1772-1776
1216-1327	Calibration	1777-1779
1234-1235	Tensimeters	1781-1789
1236-1252	Timers	1790-1801
1253-1259	Tissue & Cell Culture	1802-1806
1260-1287	Titration	1807-1810
1288-1291	Ton's & Tweezers	1811-1814
1292-1296	Tool	1815-1817
1297-1310	Trays	1819-1822
1311-1315	Tubes	1823-1825
1316	Tubing	1826-1829
1317-1327	Turbidity	1830-1861
1328-1341	Ultrasonic Cleaners	1868-1871
1342-1345	Ultrasonic Processors	1874-1877
1346-1362	Ultraviolet Equipment	1879-1889
1363	Vacuum Pumps	1891-1911
1364-1378	Valves EXPANDED	1913-1934
1379-1391	Vials	1935-1944
1392-1424	Vibration Measurement	1945-1949
1425-1438	Viscometers	1950-1957
1439-1445	Viscosity	1960-1967

CS1N1

1022-1025	Tanks	1659-1663
1026-1039	Tap	1664-1665
EXPANDED 1040-1045	Temperature	1666-1679
1046-1135	Labels & Crayons	1668-1670
1046-1085	Glass Thermometers	1671-1683
1086-1089	Dial/Bimetal	1684-1686
1090-1110	Digital Indicators	1687-1699
EXPANDED 1111-1121	Thermocouple Instruments	1700-1718
1122-1135	Thermistor Meters	1719-1723
EXPANDED 1136-1174	RTD Meters	1724-1728
1175-1176	Infrared	1729-1739
1177	Control	1740-1746
1178-1215	Probes	1747-1771
1216-1455	Recorders	1772-1776
1216-1327	Calibration	1777-1779
1234-1235	Tensimeters	1781-1789
1236-1252	Timers	1790-1801
1253-1259	Tissue & Cell Culture	1802-1806
1260-1287	Titration	1807-1810
1288-1291	Ton's & Tweezers	1811-1814
1292-1296	Tool	1815-1817
1297-1310	Trays	1819-1822
1311-1315	Tubes	1823-1825
1316	Tubing	1826-1829
1317-1327	Turbidity	1830-1861
1328-1341	Ultrasonic Cleaners	1868-1871
1342-1345	Ultrasonic Processors	1874-1877
1346-1362	Ultraviolet Equipment	1879-1889
1363	Vacuum Pumps	1891-1911
1364-1378	Valves EXPANDED	1913-1934
1379-1391	Vials	1935-1944
1392-1424	Vibration Measurement	1945-1949
1425-1438	Viscometers	1950-1957
1439-1445	Viscosity	1960-1967

CS1N3



CS1PN1

CS1PN3

Figura 24 – Imagens das membranas de quitosana pura e incorporada com bioativos naturais.

As diferenças observadas macroscopicamente nas membranas são consequência das particularidades já existentes nas soluções poliméricas formadas por cada composição. A quitosana empregada nesse estudo com teor de impurezas menor que 1%, apresentou-se solúvel e com excelente propriedade óptica de transparência à luz visível (incolor). Tanto as emulsões poliméricas (Figura 25), quanto as membranas de quitosana pura à 1 e 2% (m/V) (CS1 e CS2) mostraram-se incolores (Figura 24). Diferente de Guimarães (2018) que ao trabalhar com a quitosana fornecida pela empresa Polymar-CE, GD de 85%, obteve emulsões e membranas amareladas de quitosana a 1% em ácido acético, devido à presença de grande quantidade de resíduos insolúveis. O aumento da concentração da solução de quitosana de 1 para 2% (m/V), implicou em aumento de viscosidade da solução polimérica, maior espessura, menor flexibilidade e aderência na membrana CS2.

As membranas de quitosana incorporadas com óleo de cravo (CS1C1 e CS1C3) apresentaram uma intensa coloração amarelada enquanto as membranas contendo óleo de melaleuca (CSM1 e CSM3) apresentaram uma coloração levemente amarelada, porém muito mais transparentes à luz visível do que as amostras com óleo de cravo, como podem ser observadas na Figura 24. Os óleos essenciais alteraram a coloração incolor da solução de quitosana quando acrescentados. Enquanto as emulsões de cravo possuíam cor “branco leite”, as de melaleuca eram “branco gelo” (Figura 25).



CS1



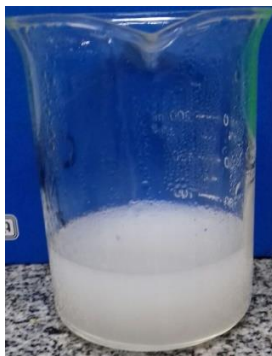
CS2



CS1C1



CS1C3



CS1M1



CS1M3



CS1CJ1



CS1CJ3



CS1PCJ1



CS1PJ3



CS1N1



CS1N3



CS1PN1



CS1PN3

Figura 25 – Imagens das emulsões poliméricas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais.

O aumento da concentração para 3% de óleo não afetou aparentemente a viscosidade das soluções. Entretanto, intensificou a cor nas emulsões e membranas, além de influenciar negativamente na solubilidade dos óleos no meio. A membrana CS1C3 apresentou pequenas fissuras oriundas de acúmulos de óleo de cravo não solubilizado. Já a CS1M3 exibiu maiores problemas, tendo em vista as diferentes fases claramente observadas ao longo de toda a membrana polimérica.

Uma particularidade a se destacar nas soluções e nas membranas CS1C1, CS1C3, CS1M1 e CS1M3 é o forte e intenso aroma característico de cada óleo. As membranas incorporadas com os óleos mostraram-se menos aderentes e flexíveis que o filme de CS1.

O suco e o pó de caju utilizados na obtenção das membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1 e CS1PCJ3 apresentaram excelente solubilidade na solução polimérica de quitosana estudada. A incorporação desses materiais formou soluções levemente amareladas para as composições com os sucos e mais amareladas para as composições com os pós (Figura 25). As maiores concentrações, por sua vez, apresentaram uma maior intensidade na cor das soluções. As membranas apresentaram coloração amarelada mais escura nas concentrações de 1% (CS1CJ1 e CS1PCJ1) e tom tendendo ao marrom nas concentrações de 3% (CS1CJ3 e CS1PCJ3), mostrando semelhança na coloração quando se tem a mesma concentração, independente da forma física que o caju é adicionado (Figura 24). As membranas com o suco mostraram-se aparentemente mais frágeis e mais finas que as membranas incorporadas com os pós.

A utilização do noni sob a forma de polpa e pó foi bastante positiva e bastante semelhante aos resultados alcançados nas composições com o caju. Praticamente não houve mudança na solubilidade dos bioativos, na viscosidade e cor da emulsão formada (Figura 25), nem na coloração e características das membranas obtidas (Figura 24).

Notou-se que a presença de bolhas e espuma nas composições com noni foram mais acentuadas que para as demais composições (Figura 25). Isso se deve possivelmente a própria característica da polpa de noni.

Um fato importante observado nas membranas, porém mais nítido nas mais escuras, trata-se da presença de regiões mais escuras ao longo das mesmas, indicando de forma qualitativa a não uniformidade de espessura ao longo da membrana; parâmetro que no item 5.2.4 desse trabalho foi avaliado quantitativamente.

Todas as membranas investigadas mostraram-se transparentes, independentemente da cor, pelo fato de que os bioativos naturais diminuíram, mas não extinguiram totalmente a transparência óptica característica da membrana pura de quitosana em estudo.

Maleabilidade, elasticidade e aderência são características essenciais em um material empregado como curativo. As membranas de quitosana pura a 1% (m/V) e quitosana incorporada com óleos de cravo e melaleuca, suco de caju, polpa de noni e pós de caju e noni são potenciais candidatas no tratamento de feridas por apresentarem essas propriedades. Diferente da composição CS2 que não se mostrou atrativa para essa finalidade, tendo em vista a ausência dessas características. A partir do próximo item, essa composição não será mais discutida.

A Tabela 7 apresenta de forma resumida as características levantadas durante a avaliação qualitativa das membranas poliméricas.

Tabela 7 – Avaliação qualitativa das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com os bioativos.

Composição	Cor	Homogeneidade	Flexibilidade	Aderência
CS1	Transparente	Alta	Alta	Alta
CS2	Transparente	Alta	Baixa	Baixa
CS1C1	Amarelo claro	Intermediária	Intermediária	Intermediária
CS1C3	Amarelo claro+	Baixa	Intermediária	Intermediária
CS1M1	Levemente amarelado	Intermediária	Intermediária	Intermediária
CS1M3	Levemente amarelado+	Baixa	Intermediária	Intermediária
CS1CJ1	Amarelo escuro	Alta	Alta	Alta
CS1CJ3	Amarronzado	Alta	Alta	Alta
CS1PCJ1	Amarelo escuro	Alta	Alta	Alta
CS1PCJ3	Amarronzado	Alta	Alta	Alta
CS1N1	Amarelo escuro	Alta	Alta	Alta
CS1N3	Amarronzado	Alta	Alta	Alta

CS1PN1	Amarelo escuro	Alta	Alta	Alta
CS1PN3	Amarronzado	Alta	Alta	Alta

+ Indicativo de maior intensidade na cor.

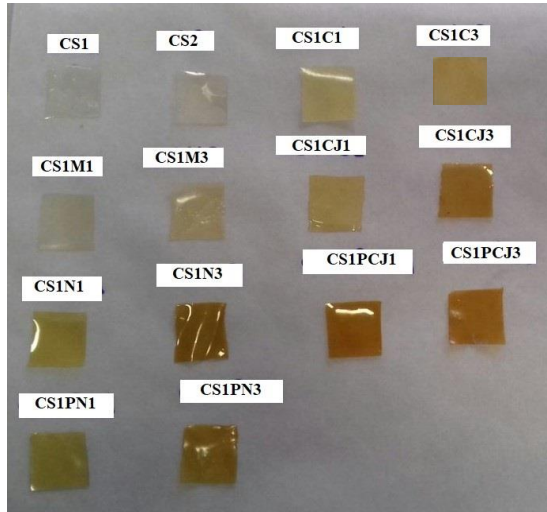
Da análise visual foi observado que as membranas de quitosana escureciam gradualmente com o tempo, principalmente as incorporadas com bioativos à base de frutas. O acompanhamento desse escurecimento ao longo de 3 meses, encontra-se apresentado na Figura 26.

As membranas puras de quitosana, CS1 e CS2, mostraram-se mais estáveis à luz, em razão do baixo grau de escurecimento sofrido por essas composições no período de 3 meses. As cores das membranas incorporadas com os óleos essenciais também não sofreram muita influência da luz, como verificado na Figura 26, acontecendo apenas um discreto aumento na intensidade das suas cores.

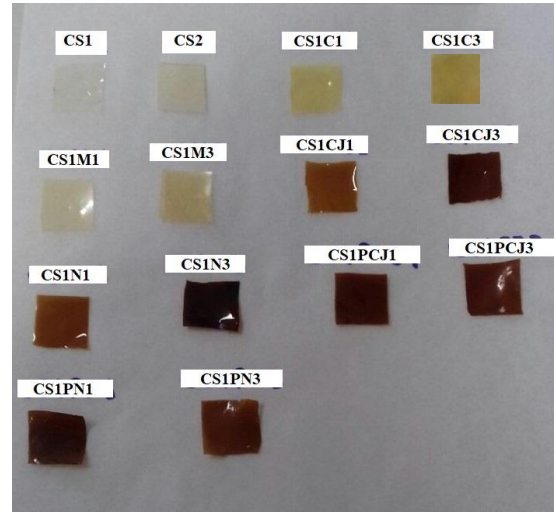
Em apenas 15 dias, as membranas incorporadas com caju e noni exibiram mudanças significativas em suas colorações, indicando a grande instabilidade que essas composições apresentam. As membranas incorporadas com 3% de suco de caju e polpa de noni apresentaram escurecimento mais intenso do que as com 1%, diferente das incorporadas com os pós atomizados de caju e noni, que independente da concentração no qual foram incorporados na matriz polimérica, em 15 dias, a cor marrom mais intensa foi a mesma para todas as membranas.

Em 45 dias, as membranas CS1CJ3, CS1N3, CS1PCJ1, CS1PCJ3, CS1PN1 e CS1PN3 já tinham sofrido completo escurecimento, de modo que as suas cores eram de um marrom tão intenso que tendiam ao preto. As amostras de CS1CJ1 e CS1CJ3, por outro lado, continuaram a escurecer com o tempo e muito provavelmente tenderão a possuir a coloração das composições acima citadas em tempos maiores que 90 dias.

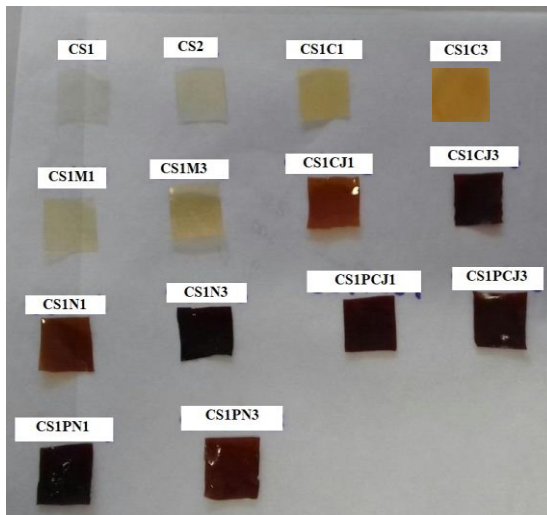
Os taninos são compostos facilmente oxidáveis e tendem a sofrer escurecimento com o tempo (MELLO; SANTOS, 2001). A presença desse metabólito secundário foi constatada em análises fitoquímicas reportadas na literatura para o caju e noni, o que pode justificar, portanto, o escurecimento observado nas membranas constituídas por esses bioativos (SILVA E SILVA; ALMEIDA, 2013; RODRIGUES; SILVA; MACÊDO, 2017).



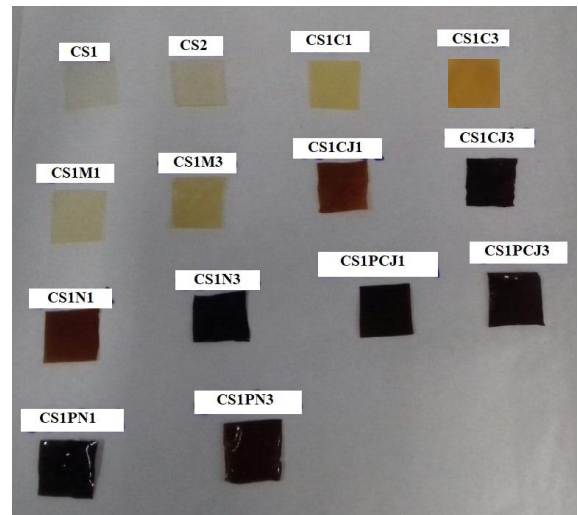
0 DIAS



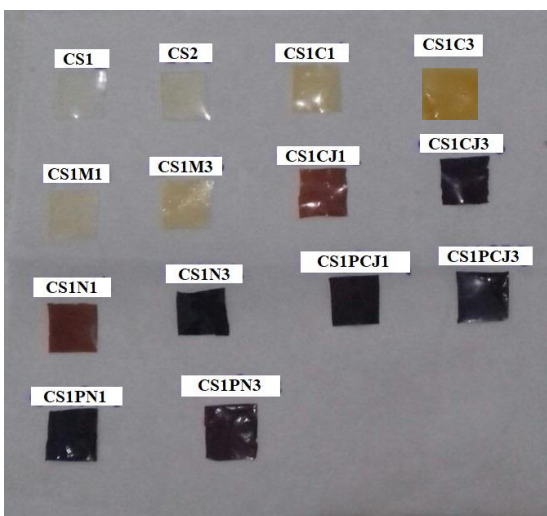
15 DIAS



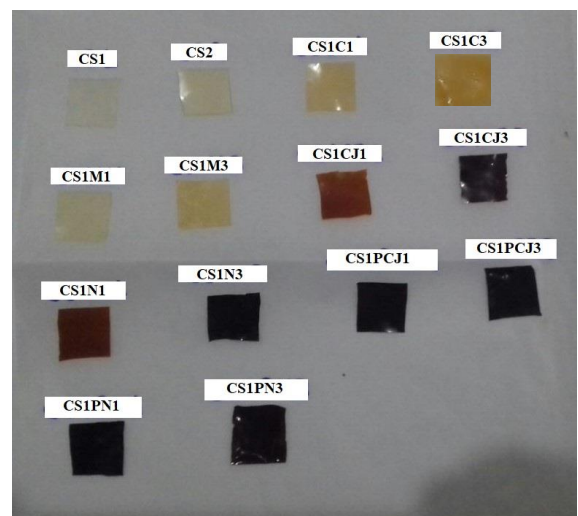
30 DIAS



45 DIAS

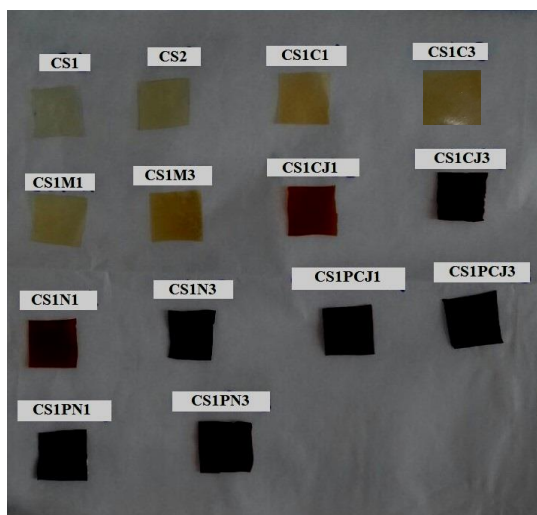


60 DIAS



75 DIAS

Figura 26 – Imagens do escurecimento das membranas de quitosana no decorrer de 90 dias.



90 DIAS

Figura 26 – Imagens do escurecimento das membranas de quitosana no decorrer de 90 dias (continuação).

5.2.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

As propriedades físico-químicas da quitosana em solução são significativamente influenciadas pelo pH do meio. Em solução ácida, os grupos amino presentes na cadeia da quitosana estão protonados (NH_3^+), limitando as interações entre as macromoléculas carregadas devido à repulsão eletrostática. Com o aumento do pH para aproximadamente 6, os grupos amino na quitosana tendem a ser desprotonados (NH_2) e favorecem a formação de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas e os grupos amina da quitosana (ALVES, 2013). Como a solução de ácido láctico à 1% (V/V) apresentou pH de $1,79 \pm 0,01$, facilmente os grupos amino da molécula de quitosana foram protonados e excelente solubilidade do biopolímero foi observada durante o processo de preparação das soluções poliméricas.

Os valores medidos de pH para as emulsões poliméricas de quitosana encontram-se apresentados na Tabela 8.

O potencial hidrogeniônico em todas as composições estudadas mostrou-se ácido, como esperado. A incorporação de quitosana proporcionou aumento nesse valor, em razão do caráter básico atribuído a presença do grupamento amino nas unidades repetidas desse polissacarídeo (CANELLA; GARCIA, 2001). Comparando o pH da solução pura de quitosana à 1% (m/V) ao pH da solução de partida, observou-se aumento de 46,37%.

Tabela 8 – Valores de pH para as emulsões poliméricas.

Composição	pH			Média	Desvio padrão
	1	2	3		
CS1	2,60	2,62	2,65	2,62	0,03
CS1C1	2,62	2,56	2,61	2,60	0,03
CS1C3	2,55	2,60	2,60	2,58	0,03
CS1M1	2,63	2,60	2,61	2,61	0,02
CS1M3	2,63	2,63	2,56	2,61	0,04
CS1CJ1	2,56	2,59	2,58	2,58	0,02
CS1CJ3	2,57	2,59	2,60	2,59	0,02
CS1PCJ1	2,63	2,64	2,64	2,64	0,01
CS1PCJ3	2,67	2,66	2,65	2,66	0,01
CS1N1	2,65	2,61	2,63	2,63	0,02
CS1N3	2,61	2,64	2,64	2,63	0,02
CS1PN1	2,64	2,65	2,64	2,64	0,01
CS1PN3	2,66	2,67	2,67	2,67	0,01

Os bioativos naturais, mesmo nas maiores concentrações, não exerceram influência na medida de acidez da solução polimérica de quitosana à 1% (m/V). O maior aumento de pH proporcionado pelos bioativos foi de 1,91% para a composição CS1PN3, o que mostra que é a quantidade de grupos aminos presentes no meio que determina o valor pH.

A determinação do pH da superfície cutânea tem motivado vários pesquisadores, pois é um importante indicador funcional do tecido cutâneo. A pele apresenta um pH entre 4,6 e 5,8, e essa acidez é importante no controle das reações enzimáticas, na renovação celular, na defesa contra micro-organismos e na formação da barreira semipermeável da pele (LEONARDO; GASPAR; CAMPOS, 2002; PARRA et al., 2003, SCHMID-WENDTNER; KORTING, 2006). Esta acidose é fisiológica e beneficia o processo de cicatrização.

Quando a pele sofre alguma lesão, o pH fica alcalino, entre 7,15 e 8,19, e o seu equilíbrio natural é perturbado, os lipídios epidérmicos essenciais não podem ser sintetizados e a pele perde água e seca (MENOITA; SANTOS, 2011). Nesta condição, a epiderme já não é

capaz de funcionar como uma barreira de proteção contra bactérias e fungos, o que dificulta todo o processo cicatricial. Para acelerar esse processo, então, o curativo a ser empregado no tratamento da ferida deve reestabelecer o pH ácido do ambiente.

Como verificado na Tabela 8, apesar das emulsões poliméricas apresentarem pH ácido, ajustes se tornam necessários, pelo fato dos valores de pH se encontrarem abaixo do observado da pele humana.

5.2.4 Espessura

O padrão histológico da pele pode ser definido a partir das três camadas que a compõem: epiderme, derme e hipoderme, cuja espessura pode chegar até 6 mm conforme a área revestida (BENBOW, 2005). A epiderme é a camada mais externa da pele e sua espessura varia entre 0,07 e 0,12 mm na maior parte do corpo, podendo atingir 0,8 mm na palma das mãos e 1,4 mm na planta dos pés (DALLAN, 2005). A derme é o tecido conjuntivo sobre o qual se apoia a epiderme, sendo, portanto, considerada a base da pele, apresentando espessura entre 1 e 4 mm (SILVER; FREEMAN; DEVORE, 2001). Já a hipoderme, formada por tecido frouxo, possui espessura variável e é constituída exclusivamente por tecido adiposo (ARAGÃO NETO, 2013).

A pele, não diferente dos demais órgãos do corpo, apresentam características específicas que devem ser obedecidas a fim de que o desempenho de suas funções seja a melhor possível. A sua espessura é uma dessas características, que sendo diminuída por alguma lesão, deve ser rapidamente reconstituída para que complicações maiores sejam evitadas.

Os materiais candidatos a curativos devem apresentar espessuras que sejam compatíveis à da pele, e com o intuito de investigar esse importante parâmetro, as medidas de espessura das membranas de quitosana encontram-se dispostas na Tabela 9. Conhecendo-se a espessura, é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira a gases e ao vapor d'água do material (CETEA, 1996).

Tabela 9 – Espessuras das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos.

Amostra	Espessura (mm)						Média	Desvio Padrão
	1	2	3	4	5	6		
CS1	0,150	0,112	0,135	0,128	0,149	0,131	0,134	0,014
CS1C1	0,208	0,107	0,153	0,096	0,158	0,111	0,139	0,042
CS1C3	0,155	0,140	0,181	0,206	0,186	0,183	0,175	0,024
CS1M1	0,093	0,136	0,094	0,101	0,107	0,114	0,108	0,016
CS1M3	0,117	0,119	0,163	0,146	0,172	0,165	0,147	0,024
CS1CJ1	0,150	0,146	0,105	0,094	0,136	0,115	0,124	0,023
CS1CJ3	0,127	0,136	0,072	0,102	0,123	0,107	0,111	0,023
CS1PCJ1	0,179	0,157	0,225	0,144	0,226	0,157	0,181	0,036
CS1PCJ3	0,385	0,219	0,225	0,177	0,368	0,220	0,266	0,088
CS1N1	0,128	0,091	0,117	0,162	0,129	0,106	0,122	0,024
CS1N3	0,098	0,193	0,102	0,102	0,162	0,112	0,128	0,040
CS1PN1	0,151	0,204	0,133	0,136	0,206	0,177	0,168	0,033
CS1PN3	0,244	0,197	0,288	0,309	0,227	0,249	0,252	0,041

A espessura das membranas de quitosana apresentaram valores que variaram de 0,108 a 0,266 mm, respectivamente, mostrando que o tipo e concentração dos bioativos incorporados influenciam nessa propriedade física das membranas. Para todas as composições estudadas, uma variação de espessura também é observada ao longo da membrana polimérica, fato pontuado no item 5.2.2 e quantificado por meio dos desvios-padrão nesse item. A composição com menor variação de espessura foi a CS1, com desvio-padrão de 0,014 mm, já a com maior variação foi a CS1PCJ3, com desvio-padrão de 0,088 mm.

O controle da espessura das membranas é importante para se avaliar a uniformidade desses materiais, a reprodutibilidade da medida de suas propriedades e a validade das comparações entre membranas. O controle da espessura das membranas é difícil, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting*, onde a secagem ocorre pela evaporação do solvente (SOBRAL, 1999).

A membrana CS1 apresentou espessura de $0,134 \pm 0,014$ mm (Tabela 9), valor abaixo aos encontrados por: Bujang, Adila e Suyatma (2013), que no estudo para avaliar a influência da concentração do ácido láctico e glicerol nas propriedades físicas das membranas de quitosana, encontrou para a membrana de 1% (m/V) de quitosana dissolvida em solução de ácido láctico a 1% (V/V), espessura de 0,110 mm. E Dallan (2005), que ao avaliar a influência da concentração da solução de quitosana nas propriedades físicas, mecânicas e biológicas, obteve espessura de $0,100 \pm 0,030$ mm para a membrana de 1% (m/V) de quitosana dissolvida em solução de 1% (V/V) de ácido acético.

Avaliando as membranas de quitosana incorporadas com os bioativos naturais, verifica-se que a concentração de 3% tende a formar membranas mais espessas, exceto a da composição de CS1CJ3 e CS1N3.

Em relação a membrana de quitosana pura (CS1), nota-se que os óleos proporcionaram aumentos na espessura, com exceção da membrana contendo 1% de óleo de melaleuca que sofreu uma diminuição na espessura. As membranas incorporadas com o óleo de cravo apresentaram espessuras maiores do que as membranas contendo óleo de melaleuca conforme Tabela 9.

As membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1N1 e CS1N3 mostraram-se menos espessas do que a membrana CS1. E isso pode ser explicado pela grande quantidade de água que é encontrada para o suco de caju (89,19%) e polpa de noni (89,95%), que ao ser incorporado na solução polimérica, acaba sendo evaporada juntamente com o solvente no processo de secagem.

As composições com os pós de caju e noni apresentaram os maiores valores de espessuras nesse estudo (Tabela 9). Seus valores foram maiores que o encontrado para a membrana de quitosana pura a 1% (m/V). Os aumentos foram 35,07% para CS1PCJ1, 98,51% para CS1PCJ3, 25,37% para CS1PN1 e 88,06% para CS1PN3. As membranas contendo 3% de bioativos obtiveram os aumentos mais significativos de espessura, como observado na Tabela 9.

A classificação das feridas quanto às estruturas comprometidas e profundidade são de suma importância na escolha do curativo ideal, pois a espessura do substituto cutâneo deve ser ajustada à profundidade da ferida (LOFÊGO FILHO et al., 2006). Segundo Araújo (2010), as feridas são classificadas da seguinte maneira: feridas de perda superficial quando a lesão se limita à epiderme; feridas de perda parcial quando se limita à epiderme e porção superior da

derme; feridas de perda total quando há destruição da epiderme, derme, tecido subcutâneo, com possível invasão de músculos, tendões e ossos.

Mandelbaum S., Di Santis e Mandelbaum M. (2003b), ao realizarem um levantamento dos diversos tipos de curativos disponíveis no mercado e a sua respectiva indicação, citou dentre eles, os destinados às feridas de perda superficial: hidropolímeros (Allevyn®, Allevyn Cavity®, Biatain®, Curafoam®, Elasto-Gel®, Hydrafoam®, Mepilex®, Oprasorb®, Polymen®, etc.), hidrogel (Intrasite gel®, Dermagran®, Duoderm gel®, Hydrosorb®, Hydrosorb Plus®, Hypligel®, Nu-Gel®, etc.) e membranas semipermeáveis à vapor (Omniderm®); às feridas de perda parcial: alginato de cálcio (Algoderma®, Acquacell®, Curasorb®, Kaltostat®, Melgisorb®, Seasorb®, Sorbsan®, Sorbalgon®, etc.), filmes semipermeáveis (Opsite®, Bioclusive®, Hydrofilm®, Tegaderm®, Aquagard®, Blisterfilm®, Hydrofilm®, Mefilm®, Poliskin®) e fator de crescimento celular (Regranex®); e às feridas de perda total: carvão ativado e prata (Actisorb Plus 25®, Carbo Flex®, Vliwaktiv®) e os de alginato de cálcio citado anteriormente.

O substituto cutâneo dérmico monolaminar MATRIDERM®, composto por fibras de colágeno (tipo I, II e III) intactas revestidas com elastina, são comercializados nas espessuras de 1 e 2 mm (NERY et al., 2001). Já o curativo para feridas com colágeno e alginato FIBRACOL* PLUS fabricado pela *Systagenix Wound Management Limited*, é comercializado na espessura de 1 mm, e é indicado para feridas de espessura parcial e total (SYSTAGENIX, 2012). Nota-se que as espessuras encontradas para as membranas estudadas são menores que as dos curativos citados.

Segundo Ma et al. (2001), substitutos artificiais da pele são geralmente mais finos do que a derme humana. Constatou-se que todas as membranas preparadas nesse estudo possuem espessuras menores que a derme, podendo ser indicada para tratamento de tecidos cutâneos lesionados.

5.2.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Uma das mais importantes aplicações da Espectroscopia na Região do Infravermelho é a informação sobre a estrutura das moléculas investigadas. Ligações químicas, quando expostas a radiações eletromagnéticas, são capazes de absorver energia, cuja absorção ocorre em porções específicas do espectro eletromagnético, sendo característico de cada ligação e

permitindo assim identificar a presença de grupos funcionais na estrutura molecular bem como de possíveis interações intermoleculares existentes entre os componentes da mistura (PAIVA; LAMPMAN; KRIZ, 1979).

No espectro da quitosana pura CS1 (Figura 27), observa-se uma banda larga entre 3686 e 3011 cm^{-1} , que corresponde às vibrações de estiramento do grupo -OH, sobrepostas à banda N-H, indicando a formação de ligação intermolecular (NUNTHANID et al., 2001; GUIMARÃES, 2018). Vibrações de estiramento assimétricas em 2935 cm^{-1} e simétricas em 2884 cm^{-1} do grupo C-H foram exibidas nos espectros (COSTA JÚNIOR, 2008; BISPO, 2009). O pico da deformação axial do grupo C=O característico da quitina é discreto em 1730 cm^{-1} , indicando pequena quantidade de grupos acetamidos na estrutura química da quitosana (FERNANDES, 2009; PERES, 2014). E as vibrações do grupo amina protonada $\delta(\text{NH}_3^+)$ aparecem em 1565 cm^{-1} (MARCHESSAULT et al., 2006).

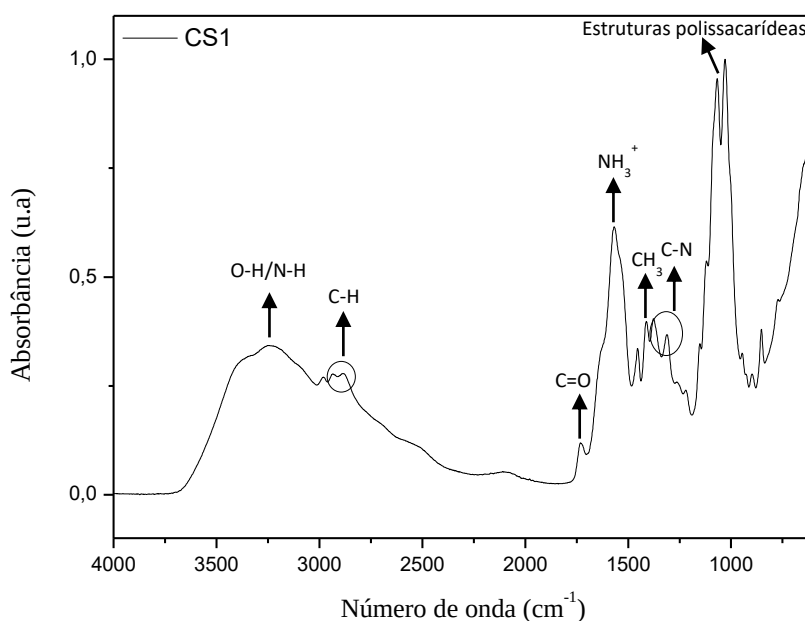


Figura 27 – Espectro de FTIR da membrana pura de quitosana à 1% (m/V).

Ainda são observadas no espectro da membrana de quitosana pura: deformação angular simétrica do grupo CH_3 (1410 cm^{-1}); banda em 1377 cm^{-1} indicando a deformação axial da ligação -CN do grupo amido, e banda 1312 cm^{-1} , correspondente a deformação axial da ligação -CN do grupo amino, demonstrando eficiência no processo de desacetilação; e por fim, bandas de estruturas polissacarídicas na região de 1120-946 cm^{-1} (BRUGNEROTTO et

al., 2001; SANTOS; SOARES; DOCKAL, 2003; ANJOS, 2005; GABRIEL, 2013; PERES, 2014).

Os espectros das membranas de quitosana incorporadas com os óleos essenciais de cravo a 1 e 3% (V/V), encontram-se expostos na Figura 28. A membrana CS1C1 não proporcionou mudanças no espectro em relação ao da membrana CS1, muito provavelmente pela pequena quantidade de óleo incorporada que levou a sobreposição das bandas, diferente da membrana incorporada com 3% de óleo, onde observou-se a presença de novas bandas no espectro, indicando a presença do óleo na estrutura da membrana de quitosana.

Ao analisar o espectro de infravermelho da membrana CS1C3, observou-se um aumento discreto na intensidade da banda em 2926 cm^{-1} , característico do estiramento assimétrico do grupo -CH, e em 1030 cm^{-1} , banda da estrutura sacarídea da quitosana. As bandas características do óleo de cravo aconteceram em 1514 cm^{-1} , que é característica da deformação axial de C=C de anel aromático; em 1266 cm^{-1} e 1231 cm^{-1} , que referem-se ao estiramento axial C-O; e as bandas entre $911\text{--}736\text{ cm}^{-1}$, que confirmam a deformação angular fora do plano de ligações C-H de anéis aromáticos (MULLER, 2013).

Nos espectros de infravermelho das membranas de quitosana incorporadas com óleo de cravo, principalmente para a CS1C3, verificou-se a presença de bandas específicas da quitosana e do óleo, além do aumento na intensidade de bandas referentes a alguns dos grupos funcionais da quitosana.

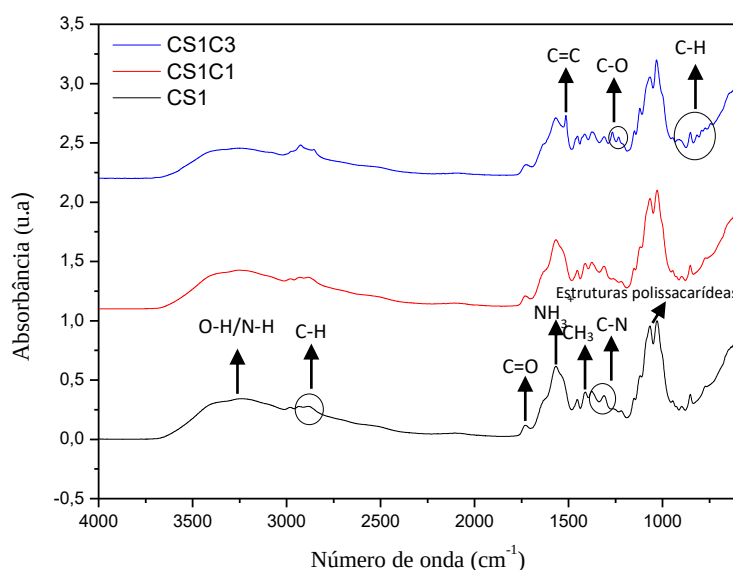


Figura 28 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com óleo de cravo.

Os espectros das membranas de quitosana incorporadas com o óleo de melaleuca encontram-se apresentados na Figura 29. O óleo no filme proporcionou aumento na intensidade da banda em 1727 cm^{-1} , pelo fato dos grupos carbonilas $\text{C}=\text{O}$ também serem grupos característicos do óleo. Os picos em 1567 cm^{-1} , referentes às vibrações do grupo amina protonada $\delta(\text{NH}_3^+)$ sofreram uma diminuição com a incorporação do óleo, indicando uma provável ligação entre o bioativo e a quitosana por meio desse grupo ativo (MARCHESSAULT, RAVENELLE; ZHU, 2006). Novas bandas foram observadas nos espectros das membranas CS1M1 e CS1M3 em 1232 cm^{-1} , correspondendo as vibrações das ligações $\text{C}-\text{O}$ e em 1123 cm^{-1} associada a ligação $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ presente no composto 1,8 cineol presente no óleo de melaleuca (PIRES, 2016).

A ausência de bandas mais proeminentes característica do óleo de melaleuca pode estar relacionada a sobreposição dessas bandas com as características da quitosana, e também, com a quantidade de óleo de melaleuca utilizada.

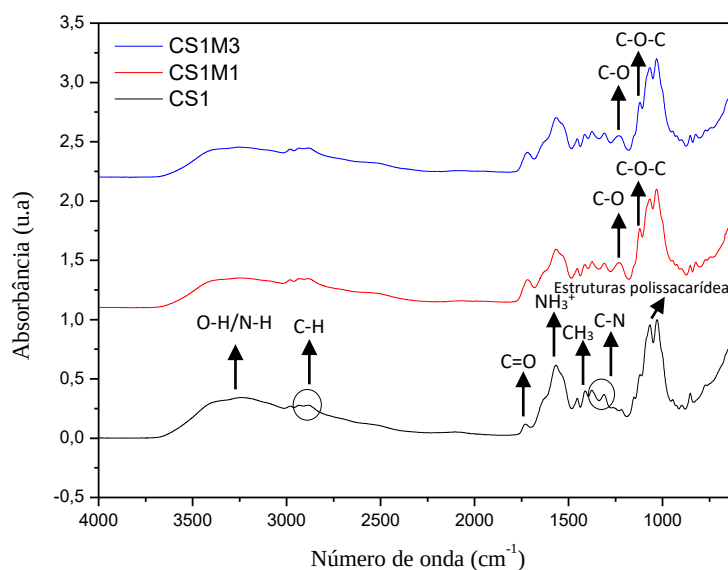


Figura 29 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com óleo de melaleuca.

Analisando os espectros das Figuras 30 e 31, das membranas incorporadas com suco de caju e polpa de noni, respectivamente, observa-se a grande semelhança dos espectros. Das diferenças observadas em relação ao espectro da membrana pura, pode-se destacar: aumento na intensidade da banda em 1721 cm^{-1} devido a presença de grupos $\text{C}=\text{O}$ da quitosana e dos grupos COO^- e água presentes na estrutura do caju e noni (ABREU et al., 2012); diminuição

na intensidade da banda do grupo amino protonado em 1567 cm^{-1} ; e diminuições discretas na intensidade das bandas em 1413 , 1377 e 1311 cm^{-1} características dos grupos CH_3 , C-N da amida e da amina, respectivamente, presente na quitosana. Além do aparecimento de duas novas bandas nos espectros do suco de caju (Figura 30) e polpa de noni (Figura 31), uma em 1225 cm^{-1} característica da ligação C-O e uma outra em 1126 cm^{-1} que corresponde as vibrações de estiramento dos grupos C-O-C presentes na estrutura dos bioativos (SILVA et al., 2009; LIU et al., 2009).

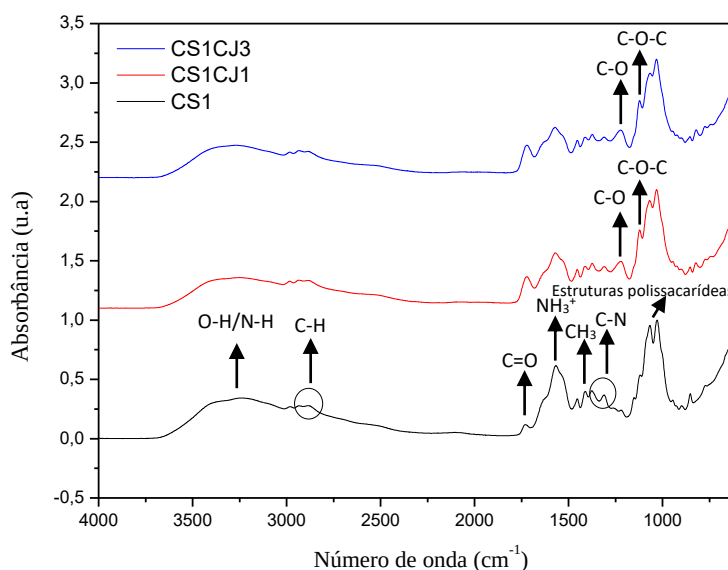


Figura 30 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com suco de caju.

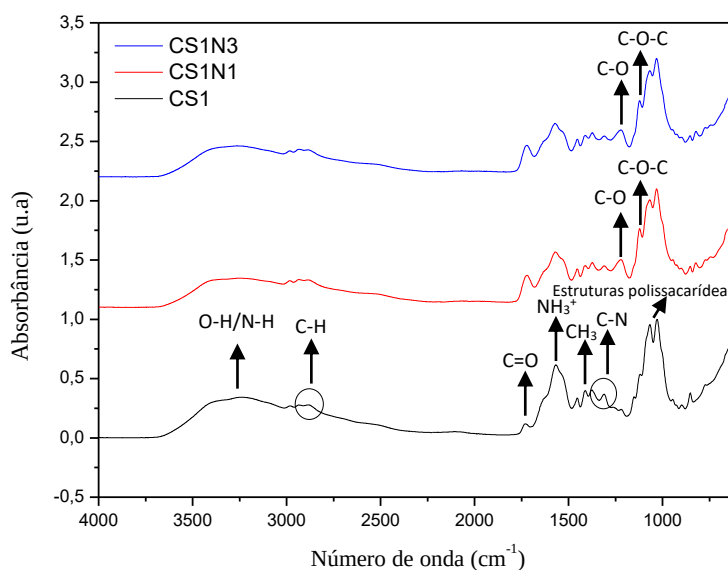


Figura 31 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com polpa de noni.

Os espectros de infravermelho dos pós de caju e noni encontram-se apresentados na Figura 32, e mostraram-se bem semelhantes ao encontrado por (RAMALHO, 2014) para a goma do cajueiro, que evidenciou bandas de absorção características da celulose, que é um polissacarídeo de constituição semelhante. Os espectros apresentaram bandas largas de absorção a 3286 e 2925 cm^{-1} que podem ser atribuídas as vibrações de estiramento das ligações O-H dos grupos hidroxilas delimitados por interações do tipo ligações de hidrogênio, e de estiramento C-H, respectivamente (MOURA, 2009; PAULA et al., 2012). Outras bandas de absorção podem ser visualizadas em 1635 cm^{-1} correspondendo à vibração dos grupos COO^- e água presentes na estrutura do caju e noni (ABREU et al., 2012). Grupos ácidos foram observados na faixa de 1500 a 1281 cm^{-1} . As bandas de absorção que aparecem em 1148, 1078 e 1016 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos dos grupos C-O-C e deformação dos grupos O-H das unidades glicosídicas e dos grupos álcoois, respectivamente, presentes no caju e noni (SILVA et al., 2009; LIU et al., 2009).

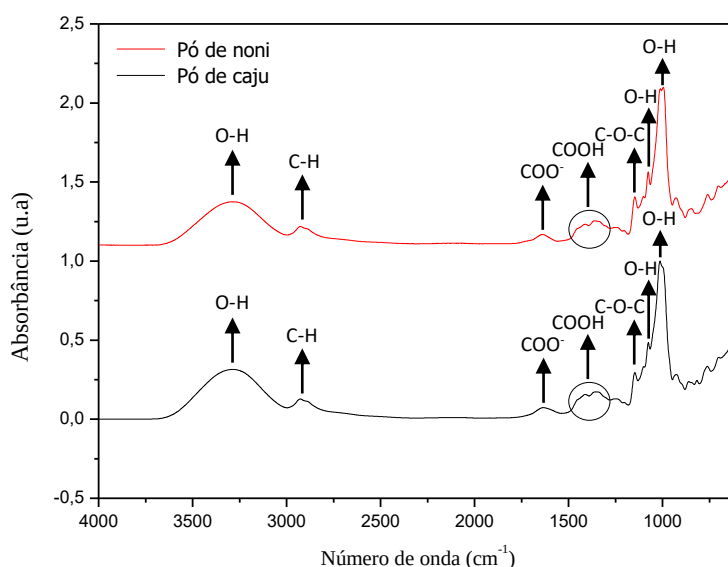


Figura 32 – Espectros de FTIR dos pós atomizados de caju e noni.

Os espectros das membranas de quitosana incorporadas com os pós atomizados de caju e noni encontram-se apresentados nas Figuras 33 e 34, e observa-se que ambos os espectros são bem semelhantes. Das diferenças observadas em relação ao espectro da membrana pura de quitosana (CS1), pode-se pontuar: aumentos graduais na intensidade das bandas atribuídas as vibrações de estiramento das ligações O-H dos grupos hidroxilas em

3293 cm^{-1} com o aumento da concentração dos pós nas membranas; em 1723 cm^{-1} (grupo C=O), discreto aumento foi observado para as bandas das composições com 1% do que para as com 3%; diminuições graduais na intensidade da banda característica das vibrações do grupo amina protonada $\delta(\text{NH}_3^+)$ foram observadas em 1567 cm^{-1} . Também verifica-se nos espectros CS1PCJ1, CS1PCJ3, CS1PN1 e CS1PN3: diminuições discretas nas intensidades das bandas característas da quitosana entre 1413 e 1311 cm^{-1} (CH_3 , C-N da amida e da amina); surgimento de uma nova banda em 1225 cm^{-1} e diminuição gradual na intensidade da banda em 1071 cm^{-1} atribuídas as ligações C-O e O-H das unidades glicosídicas, respectivamente.

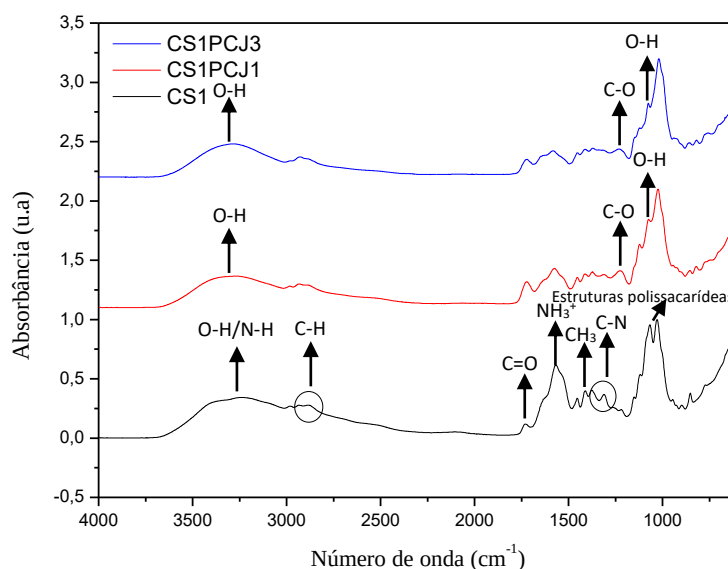


Figura 33 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com pó de caju.

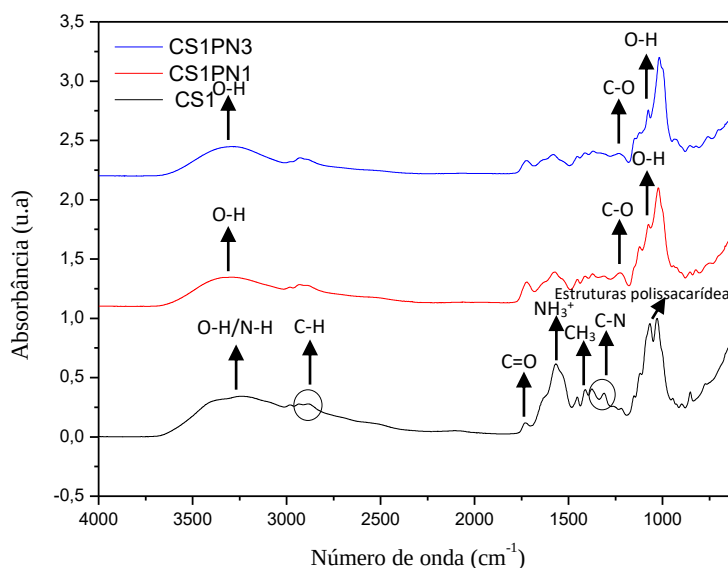


Figura 34 – Espectros de FTIR das membranas de quitosana incorporadas com pó de noni.

5.2.6 Molhabilidade por ângulo de contato

A molhabilidade é definida como a manifestação macroscópica da interação molecular entre sólidos e líquidos em contato direto na interface entre eles. É obtida por meio das tensões superficiais associadas à sua energia superficial, pois são elas que produzem um maior espalhamento ou aderência da gota na superfície. Este efeito das tensões é investigado por meio da medida do ângulo de contato entre a gota do líquido e a superfície do sólido que pode apresentar diferentes estados de molhabilidade (MA; HILL, 2006).

O ângulo de contato depende da relação entre as forças adesivas e coesivas do líquido, que respectivamente são a força que faz com que a gota se espalhe e a força que faz com que a gota se mantenha no formato esférico com o menor contato possível com a superfície do material sólido. Quando a gota se espalha na superfície, pode-se dizer que esta é hidrofílica, no caso oposto, quando a gota toma a forma de uma esfera, a superfície é chamada de hidrofóbica. Tal distinção é caracterizada pelo ângulo de contato. Os estados de molhabilidade são superhidrofílico em ângulos de contato menores que 40°, hidrofílico em ângulos entre 40 e 90°, hidrofóbico em ângulos entre 90 e 120°, e superhidrofóbico em ângulos maiores que 120° (COSTA, 2016).

As medidas de ângulo de contato para a análise do caráter hidrofílico/hidrofóbico das membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais em água destilada (pH= 5,18) e PBS (pH= 7,20) encontram-se apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores de molhabilidade por ângulo de contato entre as membranas de quitosana e água destilada e PBS.

Amostra	Ângulo de contato (°)			
	Água destilada (pH = 5,18)		PBS (pH = 7,20)	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
CS1	64,19	5,64	68,19	5,03
CS1C1	53,68	14,94	62,87	5,90
CS1C3	47,70	0,90	58,30	5,34
CS1M1	64,43	4,57	56,97	2,32
CS1M3	65,66	3,39	65,81	2,27
CS1CJ1	57,34	8,05	52,35	3,14
CS1CJ3	54,49	2,69	57,76	3,00
CS1PCJ1	51,34	6,08	42,06	1,80
CS1PCJ3	63,94	6,23	50,05	1,27
CS1N1	47,01	3,84	46,92	3,23
CS1N3	51,77	6,18	55,15	0,21
CS1PN1	51,30	5,57	52,91	1,05
CS1PN3	50,46	4,28	57,50	2,91

Os ângulos de contato para a membrana pura de quitosana (CS1) em água destilada e PBS foram $(64,19 \pm 5,64)^\circ$ e $(68,19 \pm 5,03)^\circ$, respectivamente. Como os valores nesse estudo encontram-se entre 40 e 90°, a membrana CS1 é classificada como hidrofílica. Atribui-se a hidrofiliabilidade da quitosana aos grupos hidroxila e amino presentes em sua estrutura (TSAI; WANG, 2008). As cargas positivas que surgem quando os grupos amino são protonados diminuem a energia livre da superfície, melhorando a molhabilidade das membranas (ZHENG et al., 2009).

Estudos reportados na literatura observam que os valores de ângulo de contato da quitosana com a água são bastante dispersos. Enquanto Hsu et al (2004), Fernandes (2009), Tsai e Wang (2008) encontraram valores próximos a 80°, Zheng et al. (2009) relatou valor próximo a 70°. Essa discrepância nos resultados ainda segundo Fernandes (2009), deve estar associada à dificuldade de se medir o ângulo no exato momento em que a gota do líquido entra em contato com a superfície da membrana e pela rápida absorção da água pela mesma. Além de fatores como grau de desacetilação da quitosana e pH da água utilizada no ensaio.

De uma forma geral, as incorporações dos bioativos naturais à solução polimérica de quitosana pura (CS1) proporcionaram em menor e maior grau um melhoramento na molhabilidade das membranas tanto em água destilada, quanto em PBS, exceto as membranas CS1M1 e CS1M3, que em água destilada proporcionaram um discreto aumento no ângulo de contato.

Da incorporação dos bioativos naturais na quitosana a 1% (m/V) notou-se uma diminuição intermediária nos ângulos de contato em água destilada para as membranas CS1C1, CS1C3, CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1, CS1N1, CS1N3, CS1PN1 e CS1PN3, com valores variando entre 47,01 e 57,34°. E diminuições mais discretas, ou seja, com valores de ângulo mais próximos ao da membrana pura (CS1), $(64,19 \pm 5,64)^\circ$, para a membrana CS1PCJ3 com $(63,94 \pm 6,23)^\circ$. A classificação quanto a molhabilidade permaneceu como hidrofílica para as membranas de quitosana incorporadas com os bioativos, tendo em vista que os ângulos de contato não foram nem menores que 40°, nem maiores que 90°.

Analizando o efeito do aumento da concentração dos bioativos nas membranas, observa-se que em água destilada os resultados da molhabilidade foram melhorados na concentração de 3% para os bioativos óleo de cravo, suco de caju e pó atomizado de noni. Enquanto que para os bioativos óleo de melaleuca, pó atomizado de caju e polpa de noni, o aumento da concentração de 1 para 3%, implicou em aumentos no ângulo de contato.

Em PBS, apesar de todas as membranas incorporadas com os bioativos naturais possuírem ângulos de contato menores do que o apresentado para a membrana CS1, a classificação quanto ao estado de molhabilidade permaneceram semelhantes, ou seja, hidrofílicos, pois o menor ângulo encontrado foi $(42,06 \pm 1,8)^\circ$ para a membrana CS1PCJ1. As composições que apresentaram ângulos de contato próximos a 50° foram CS1CJ1, CS1PCJ3, CS1N1 e CS1PN1, próximos a 60° foram CS1C1, CS1C3, CS1M1, CS1CJ3, CS1N3 e

CS1PN3 e valores próximos a 70°, como a membrana pura CS1 (68,19±5,03), foi a membrana CS1M3.

A concentração de 3% dos bioativos na composição das membranas proporcionaram aumentos nos ângulos de contato em PBS, com exceção da amostra CS1C3 que teve um melhoramento em sua molhabilidade, podendo ser considerada, portanto, “mais hidrofílica” que a membrana CS1C1.

A medida do ângulo de contato fornece informações importantes sobre o caráter de hidrofiliicidade ou hidrofobicidade de uma superfície. Conhecendo-se essas informações a respeito das membranas utilizadas como curativos é possível prever seu comportamento em resposta a um contato superficial com o exsudato proveniente da lesão (SOUZA, 2014). Os resultados de hidrofiliicidade encontrados nesse estudo, demonstram, portanto, a obtenção de membranas adequadas para uso em queimaduras, pois permitem uma elevada umidade quando em contato com exsudato da ferida, que é um requisito necessário quando se trata da elaboração de membranas para uso como curativo ideal (MORGADO et al., 2014).

5.2.7 Grau de intumescimento

O intumescimento é descrito como o aumento no volume do polímero quando este está imerso em um determinado fluído, ou também pode ser determinado a partir da quantidade da massa de fluído absorvida pelo polímero em relação a sua massa inicial (CAMPOS et al., 2005; NETO, 2005; RATNER, 1996; ZHANG, 2007).

Na estrutura química da quitosana, há predominância de grupos amino caracterizados por ligações covalentes eletronegativas (N-H), que geram sítios de alta polaridade que acabam favorecendo o rearranjo das moléculas de água ao seu redor. Associada a essa característica, os grupos acetamido também presentes no polímero, o torna um material com alto grau de afinidade e retenção de água (ASSIS; SILVA, 2003). Essa habilidade em absorver e reter água é um fator importante em materiais implantáveis, pois ela permite a absorção de fluídos corpóreos e a transferência de nutrientes e metabólitos (THEIN-HAN; KITTYANANT, 2007). Entretanto, elevadas taxas de absorção podem trazer consequências indesejáveis, como a redução da estabilidade estrutural do polímero, além da acelerada degradação e ataque de micro-organismos.

O estudo dos parâmetros de intumescimento de sistemas poliméricos para o entendimento mecanístico do processo de difusão do solvente para o interior dos polímeros é fundamental em materiais candidatos a curativos (SRIAMORNSAK et al., 2007).

As características de intumescimento das membranas de quitosana puras e incorporadas com bioativos naturais foram analisadas por parâmetros associados à quantidade de água destilada/solução de PBS absorvida pela matriz polimérica em função do tempo de 1, 2 e 3 h. Os resultados dessa absorção encontram-se dispostos nas Tabelas 11 e 12.

Tanto em água destilada, quanto em PBS, a membrana pura de quitosana CS1 se solubilizou completamente nos meios em menos de 1h de ensaio. Isso se deve possivelmente a grande afinidade por água que a quitosana apresenta, trazendo consequências indesejáveis como a redução da sua estabilidade natural na presença de umidade, findando com a desagregação das suas fibras (ASSIS; SILVA, 2003).

Foi visto no tópico 3.1.2.1.3 que a quitosana é solúvel em meios ácidos menores que 6,0 (SINGLA; CHAWLA, 2001; SHI et al., 2006) e que a solução de ácido láctico de pH de 1,79 formou soluções ácidas de quitosana, tais considerações podem também justificar a completa solubilização observada para as amostras de quitosana pura.

Kim et al. (2005) e Oliveira (2013), comprovaram em seus estudos que a aplicação das membranas puras de quitosana é limitada na regeneração tecidual guiada (RTG), pelo fato de apresentarem alta afinidade com água. Assim, os resultados do ensaio de intumescimento para a membrana CS1, sugerem a necessidade da incorporação de materiais que melhorem as suas taxas de absorção e sua estabilidade.

A incorporação do óleo de cravo, óleo de melaleuca, suco e pó de caju, polpa e pó de noni na membrana de quitosana (CS1) promoveram mudanças na absorção dos fluídos no ensaio de intumescimento como mostrado nas Tabelas 11 e 12.

As membranas de quitosana incorporadas com o óleo de cravo apresentaram alto poder de intumescimento nos dois fluídos estudados, entretanto, foi na solução de PBS que o aumento da absorção aconteceu de forma mais controlada para a membrana CS1C1. Em três horas de ensaio, a membrana CS1C1 apresentou porcentagens de intumescimento de 970,87% em água e 1149,15% em PBS. A membrana de quitosana incorporada com 3% de óleo de cravo mostrou-se instável na presença da água destilada, sendo desintegrado em 1h de ensaio. Em PBS, entretanto, a membrana apresentou taxas de absorção maiores que as encontradas

para a membrana CS1C1 nos 3 tempos de ensaio. O seu maior percentual de intumescimento foi exibido no tempo de 1h.

A incorporação do óleo de melaleuca a 1 e 3% resultaram em altos graus de intumescimento nas membranas de quitosana, entretanto, foi para a membrana incorporada com a menor concentração que a absorção dos fluídos se deu de forma ainda mais pronunciada. As membranas CS1M1 e CS1M3 em água destilada apresentaram aumento gradual de intumescimento com o tempo. Em 3h de ensaio, os percentuais de absorção aumentaram em 23,18% (CS1M1) e 66,31% (CS1M3) em relação aos de 1h. Em PBS, no entanto, os percentuais sofreram diminuições de 18,29 % (CS1M1) e 17,99% (CS1M3).

As membranas incorporadas com o suco e pó de caju tendem a sofrer uma diminuição nos graus de intumescimentos à medida que o tempo de ensaio aumenta. Tanto em água destilada, quanto em solução de PBS, os percentuais de absorção dos fluídos exibidos pelas membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1 e CS1PCJ3 são bem menores que os observados para as membranas incorporadas com os óleos essenciais. Em água destilada, os maiores percentuais encontrados para as membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1 e CS1PCJ3 foram: 69,75%, 41,59%, 26,41% e 16,77%, respectivamente. Já em PBS foram: 93,46% para CS1CJ1, 40,66% para CS1CJ3, 37,84% para CS1PCJ1 e 23,43% para CS1PCJ3. Observa-se que as membranas incorporadas com a maior concentração de bioativos apresentam menor poder de intumescimento, assim como as membranas incorporadas com os pós.

No ensaio de intumescimento em água destilada, verifica-se que os comportamentos exibidos pelas membranas incorporadas com noni são bem semelhantes aos encontrados para as membranas incorporadas com caju. Em PBS, as membranas incorporadas com o pó de noni apresentaram os maiores potenciais de intumescimento (CS1N1 - 71,61%; CS1N3 - 45,84%; CS1PN1 - 74,30%; e CS1PN3 - 76,59%).

As membranas produzidas devido à alta hidrofiliabilidade, podem se tornar géis ao entrar em contato com fluidos biológicos, permitindo uma alta umidade na região da ferida, um dos requisitos essenciais para uso como curativo ideal para tratamento de feridas (MORGADO et al., 2017; GUIMARÃES, 2018).

O comportamento de inchamento é decisivo para uma adequada difusão de nutrientes e células. E um maior grau de intumescimento representa uma maior capacidade de absorção dos exsudados da superfície dos ferimentos cutâneos, fator bastante relevante no processo de cicatrização (SUNG et al., 2010).

Das membranas incorporadas com os bioativos naturais, a ordem dos melhores resultados quanto ao intumescimento em água destilada foi CS1M1 > CS1M3 > CS1C1 > CS1CJ1 > CS1N1 > CS1N3 > CS1PN1 > CS1CJ3 > CS1PN3 > CS1PCJ1 > CS1PCJ3. Já em PBS: CS1M1 > CS1C3 > CS1M3 > CS1C1 > CS1CJ1 > CS1PN3 > CS1PN1 > CS1N1 > CS1N3 > CS1PCJ1 > CS1PCJ3.

Tabela 11 – Valores de intumescimento para as membranas de quitosana pura e incorporadas com bioativos em água destilada (pH = 5,54).

Amostra	Intumescimento (%)		
	1h	2h	3h
CS1	-	-	-
CS1C1	678,58 ± 95,08	611,97 ± 79,93	970,87 ± 319,65
CS1C3	-	-	-
CS1M1	2450,76 ± 442,66	2458,23 ± 299,45	3018,96 ± 703,60
CS1M3	752,67 ± 102,80	946,36 ± 103,76	1251,77 ± 275,74
CS1CJ1	69,53 ± 7,62	40,92 ± 9,11	69,75 ± 4,86
CS1CJ3	41,59 ± 4,38	33,35 ± 8,71	25,10 ± 6,66
CS1PCJ1	26,41 ± 5,60	28,74 ± 3,14	22,05 ± 2,34
CS1PCJ3	13,72 ± 2,88	16,77 ± 2,06	6,85 ± 1,89
CS1N1	66,69 ± 1,66	45,01 ± 13,68	46,38 ± 18,89
CS1N3	54,64 ± 19,52	14,24 ± 15,61	51,93 ± 16,23
CS1PN1	40,24 ± 1,77	43,13 ± 4,03	34,20 ± 2,15
CS1PN3	33,22 ± 5,69	36,71 ± 4,65	30,14 ± 3,99

Tabela 12 – Valores de intumescimento para as membranas de quitosana pura e incorporadas com bioativos em PBS (pH = 6,44).

Amostra	Intumescimento (%)		
	1h	2h	3h
CS1	-	-	-
CS1C1	325,23 ± 80,16	886,88 ± 258,85	1149,15 ± 67,12
CS1C3	3565,60 ± 395,62	1364,65 ± 153,86	1536,50 ± 360,19
CS1M1	5176,63 ± 213,72	3469,14 ± 643,15	4229,68 ± 450,08
CS1M3	1336,17 ± 206,65	887,35 ± 96,33	1095,81 ± 94,76
CS1CJ1	93,46 ± 4,04	45,69 ± 9,92	37,82 ± 2,82
CS1CJ3	40,66 ± 6,72	14,54 ± 6,29	17,88 ± 6,40
CS1PCJ1	37,84 ± 2,04	13,09 ± 5,16	10,23 ± 1,11
CS1PCJ3	23,43 ± 3,25	9,32 ± 2,88	11,80 ± 9,04
CS1N1	71,61 ± 13,65	54,62 ± 22,14	70,18 ± 6,26
CS1N3	45,84 ± 13,53	33,69 ± 11,34	15,52 ± 4,75
CS1PN1	74,30 ± 5,03	20,56 ± 2,72	27,28 ± 1,88
CS1PN3	76,59 ± 10,59	16,86 ± 3,40	23,74 ± 3,02

5.2.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que permite analisar o material através da interação de sua superfície com um feixe de elétrons, originando uma série de radiações, que fornece informações morfológica e topográfica necessárias para se entender o comportamento das superfícies dos sólidos (HOLANDA, 2011). Através das imagens obtidas pode-se visualizar as possíveis imperfeições, porosidades, separação de fases, dispersão e distribuição de um componente no outro (VASQUES, 2007).

As micrografias obtidas por MEV da superfície das membranas de quitosana pura assim como das diferentes composições contendo bioativos naturais foram registradas com aumentos de 500, 1000 e 3000 vezes e estão apresentadas das Figuras 35 a 39.

A Figura 35 mostra a superfície da membrana pura de quitosana a 1% (m/V). A membrana apresenta superfície lisa, porém com presença de aglomerados pontuais e fissuras, sendo essas últimas possivelmente atribuídas ao ácido láctico usado na preparação da solução polimérica, visto que as membranas de quitosana em ácido acético não apresentam tais problemas (DIAS, 2012; YASSUE-CORDEIRO et al., 2015; MARTINS; MORGADO, ASSIS, 2016; GUIMARÃES, 2018).

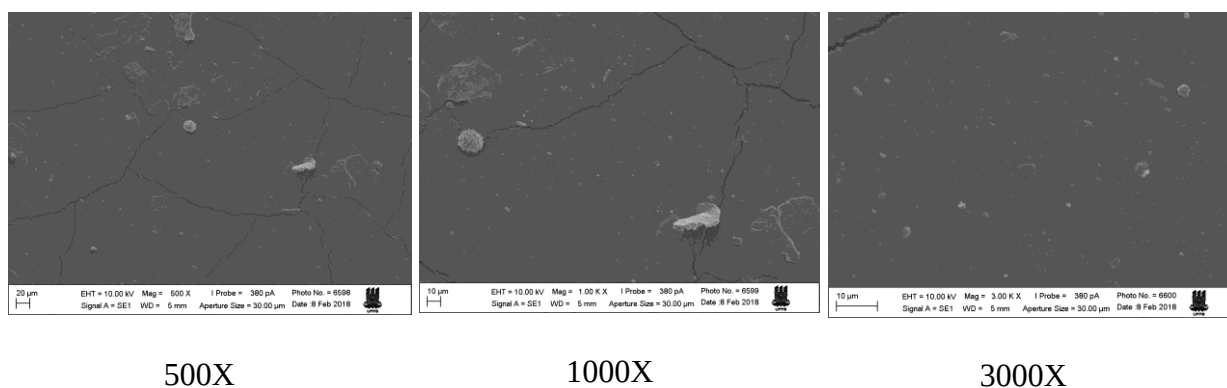
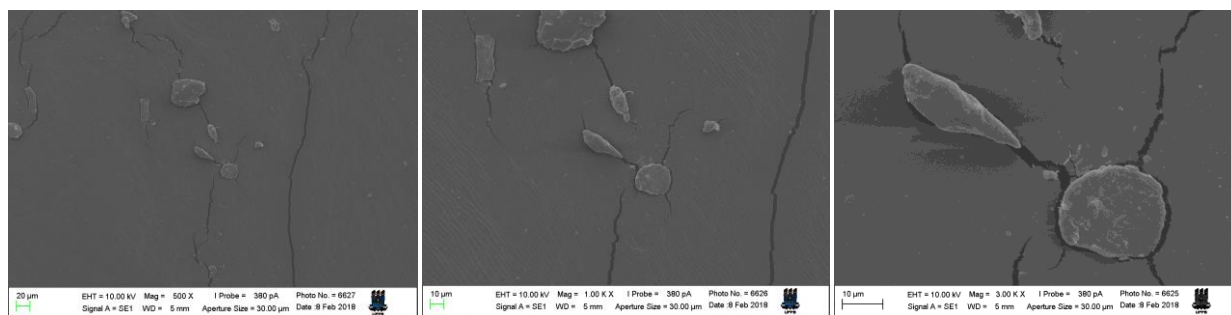


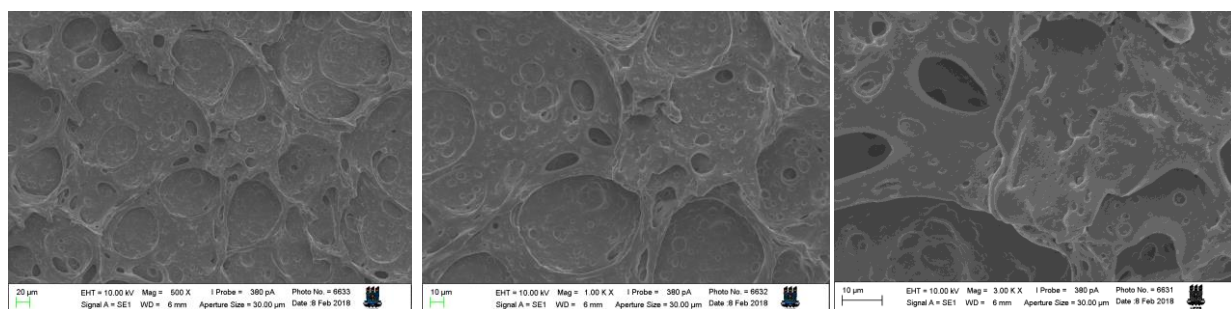
Figura 35 – Micrografias de MEV para a membrana CS1.

A incorporação do óleo de cravo à 1 e 3% (V/V) na membrana CS1, resultou em morfologias diferenciadas para a superfície das membranas obtidas, como observado na Figura 36. A membrana CS1C1 apresentou superfície semelhante à da membrana pura de quitosana (CS1), porém com a presença de aglomerados grandes e fissuras ao longo da superfície, demonstrando certa fragilidade mecânica em virtude talvez da imiscibilidade característica dos componentes da mistura, quitosana/óleo de cravo. A superfície da membrana CS1C3 mostrou-se rugosa e irregular, apresentando também vazios com formatos distintos, aspecto esponjoso como resultado possivelmente da formação de gotículas de óleo de cravo com diâmetros variados que foram distribuídas de maneira heterogênea ao longo da membrana de quitosana. Pontes (2013) encontrou morfologia semelhante ao avaliar as propriedades superficiais dos filmes de metilcelulose incorporados com emulsões de óleo de cravo para a produção de embalagens ativas para alimentos.

CS1C1



CS1C3



500 X

1000 X

3000 X

Figura 36 – Micrografias de MEV para as membranas CS1C1 e CS1C3.

Muller (2013), ao analisar as imagens de MEV das membranas de quitosana incorporadas com óleo de cravo, também observou uma estrutura composta com maior rugosidade em relação à membrana contendo apenas quitosana, corroborando, portanto, com os resultados encontrados nesta pesquisa para o filme CS1C3.

As micrografias das membranas CS1M1 e CS1M3 encontram-se apresentadas na Figura 37. As membranas mostraram morfologias bastante semelhantes, sendo ambos de aparência rugosa e com presença de gotículas de óleo de melaleuca com diâmetros menores e mais bem distribuídos e homogêneos do que os encontrados nas membranas com óleo de cravo.

Manchas escuras foram observadas nas membranas, porém são mais nítidas nas imagens de MEV da superfície da membrana CS1M1. Segundo Faria e Martins-Franchetti (2010), manchas escuras podem ser indicativas de material oleoso depositado no filme. Como trabalhou-se com óleo de melaleuca, as manchas escuras no caso, nada mais são que o óleo que não solubilizou na solução polimérica.

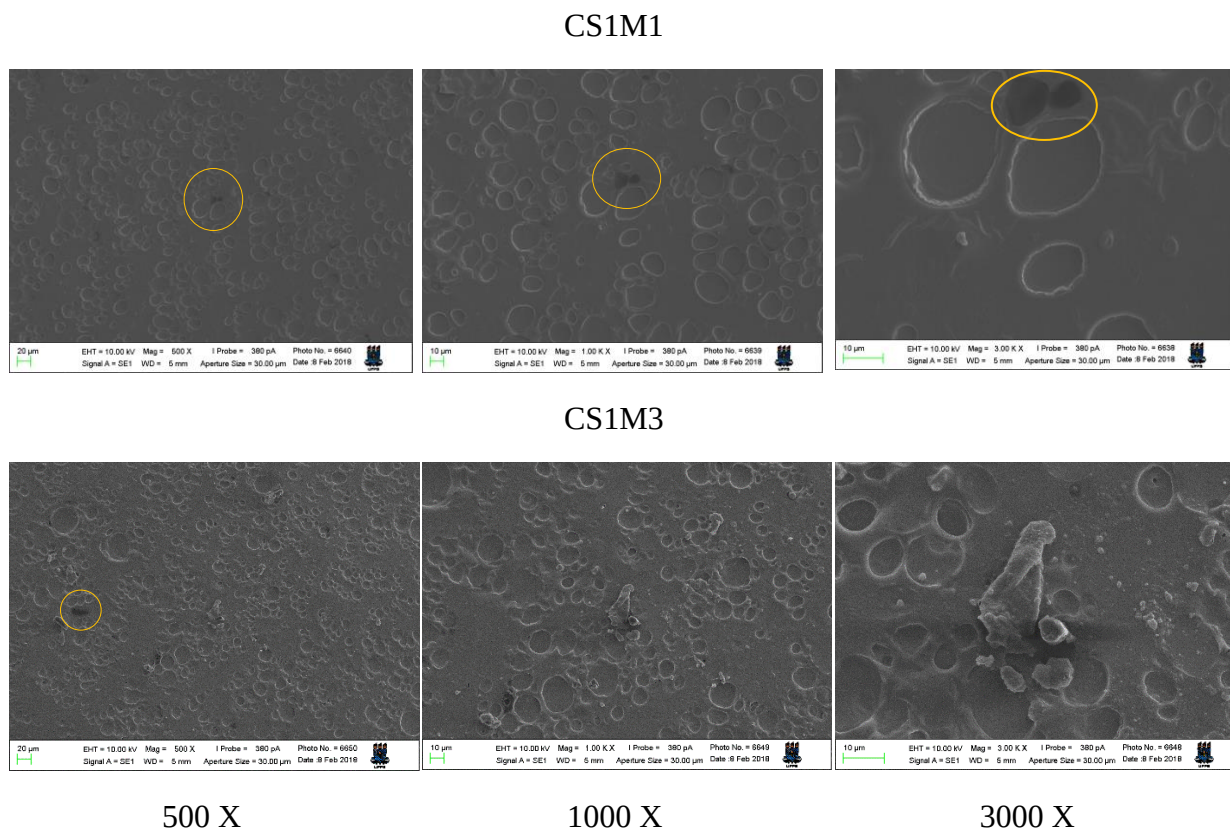
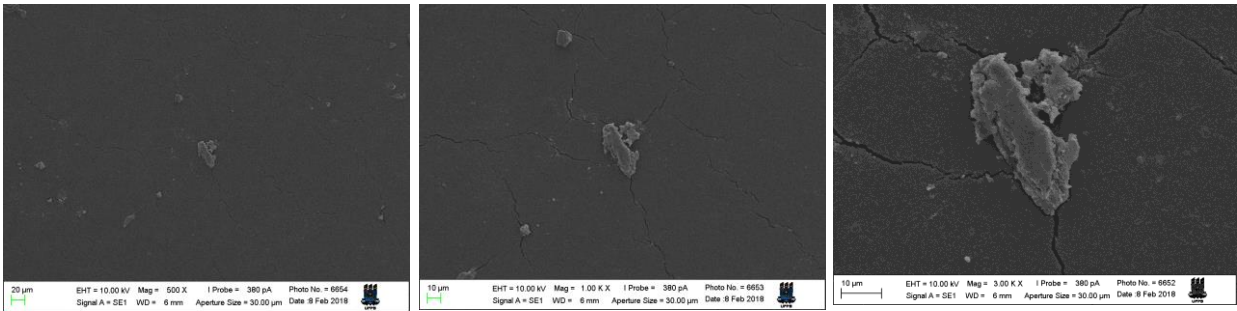


Figura 37 – Micrografias de MEV para as membranas CS1M1 e CS1M3.

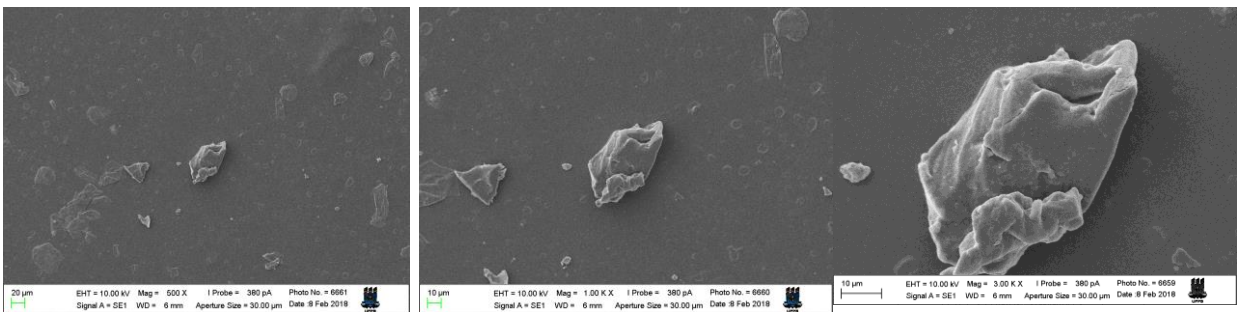
A Figura 38 exibe as micrografias das membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1 e CS1PCJ3. Suas superfícies mostraram-se lisas, compactas e com presenças de aglomerados como também observado na membrana pura de quitosana (CS1). Comparando as superfícies das membranas incorporadas com os óleos (Figuras 36 e 37), com as incorporadas com o suco e pó de caju (Figura 38), nota-se que as dessas últimas mostraram-se mais uniformes e homogêneas.

Na Figura 38, verifica-se que o aumento da concentração de bioativo no meio proporcionou mudanças nas morfologias das membranas. As superfícies das membranas CS1CJ1 e CS1PCJ1 apresentam aglomerados em menor tamanho que as incorporadas com a maior concentração. E as membranas CS1CJ3 e CS1PCJ3 não apresentam fissuras em suas superfícies como as incorporadas com 1%, o que pode resultar em melhores propriedades mecânicas.

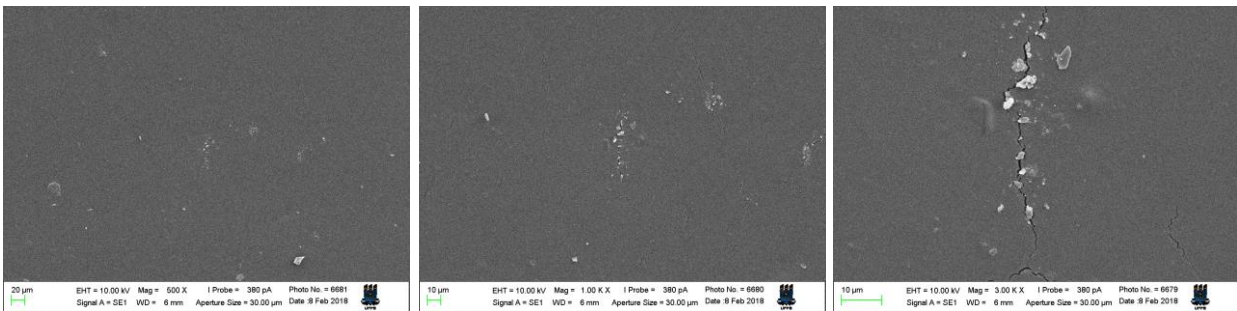
CS1CJ1



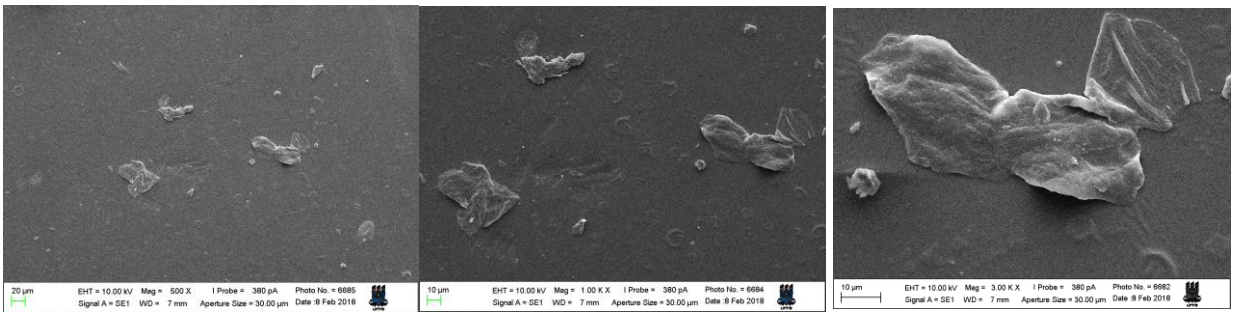
CS1CJ3



CS1PCJ1



CS1PCJ3



500 X

1000 X

3000 X

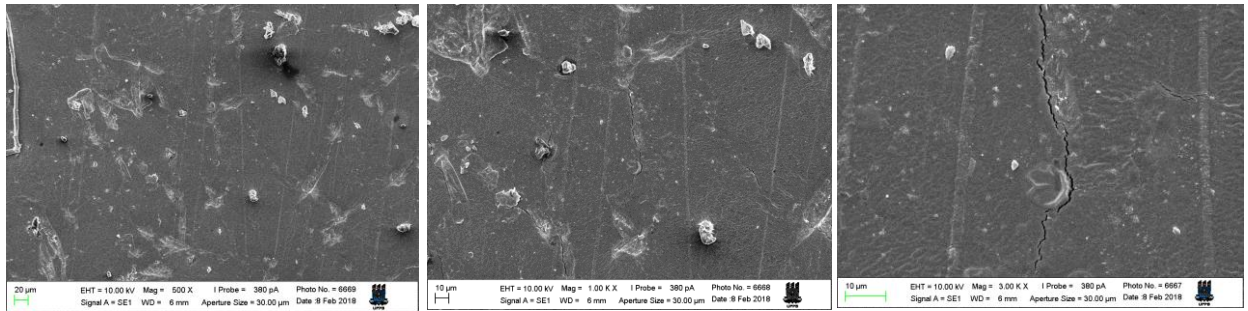
Figura 38 – Micrografias de MEV para as membranas CS1CJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1 e CS1PCJ3.

Martins, Morgado e Assis (2016), ao caracterizarem por meio do MEV blendas de quitosana, goma do cajueiro e glicerol como plastificante, observaram que o filme puro da goma do cajueiro apresentou uma superfície regular alisada, porém com rachaduras que se propagavam ao longo da matriz polimérica. A medida que foi adicionando a quitosana e o glicerol, as rachaduras ainda continuaram presentes, entretanto, mostraram-se descontínuas e não se propagavam em um padrão reto. Esses filmes não apresentaram nenhum sinal de separação de fase entre os componentes, indicando que os polímeros e o plastificante são fisicamente compatíveis entre si. O filme puro de quitosana mostrou-se o mais liso e homogêneo, sendo a sua superfície plana, sem fissuras, comprovando a grande habilidade da quitosana em formar filmes contínuos.

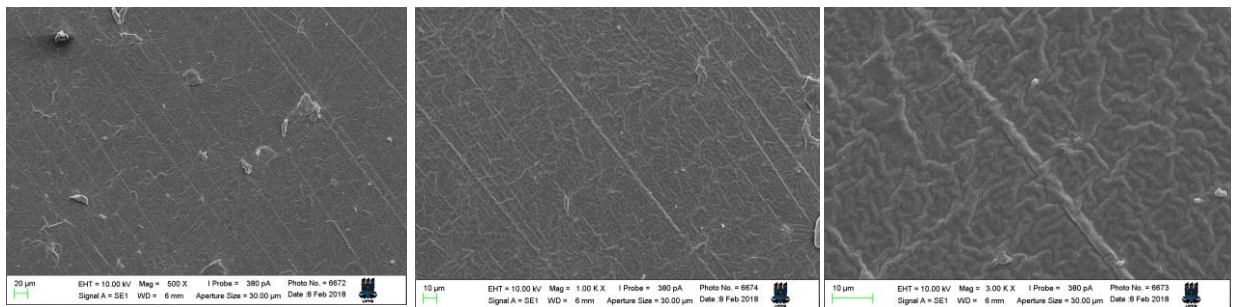
As morfologias das superfícies das membranas CS1N1 e CS1N3 (Figura 39) mostraram-se bem diferentes. Enquanto a membrana CS1N1 apresentou-se muito irregular, com presença de ranhuras, fissuras, imperfeições e maior quantidade de aglomerados. A membrana CS1N3, apresentou-se rugosa, uniforme e homogênea por toda a extensão da membrana com o mínimo de aglomerados, podendo indicar que os componentes da mistura tiveram boa compatibilidade.

As imagens de MEV das superfícies das membranas CS1PN1 e CS1PN3 (Figura 39) mostraram-se lisas, com aglomerados e menor quantidade de fissuras. O efeito do aumento da concentração do pó de noni na matriz polimérica implicou em aumento na quantidade de aglomerados na membrana CS1PN3, só que menores e mais bem dispersos do que na membrana CS1PN1.

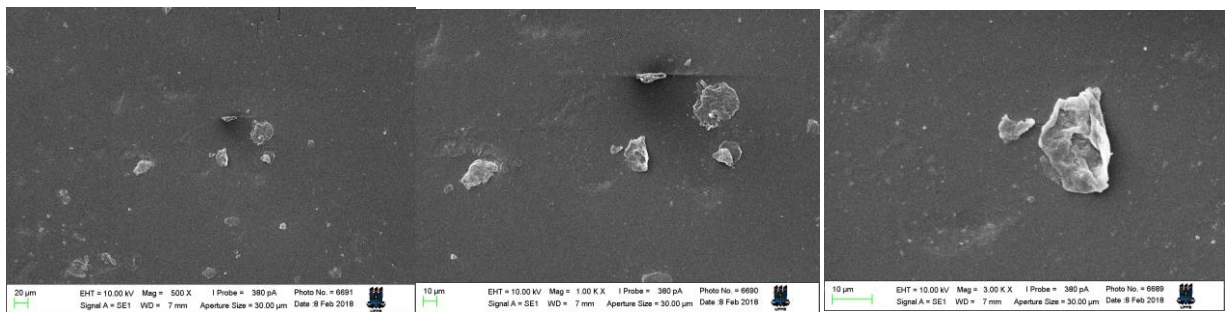
CS1N1



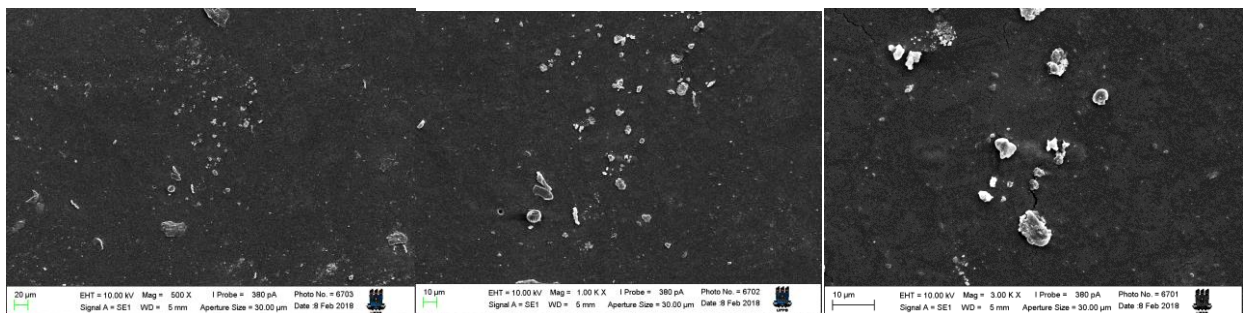
CS1N3



CS1PN1



CS1PN3



500 X

1000 X

3000 X

Figura 39 – Micrografias de MEV para as membranas CS1N1, CS1N3, CS1PN1 e CS1PN3.

5.2.9 Ensaio de tração

A pele é um material complexo e pode ser descrito como material com propriedades elásticas, viscosas e plásticas. O colágeno confere resistência à pele e a elastina extensibilidade. As propriedades mecânicas da pele são determinadas principalmente pela camada da derme (BISPO, 2009).

As propriedades mecânicas de um curativo para feridas são um fator crucial no seu desempenho, seja para uso tópico para proteger feridas cutâneas ou como suporte de ferida interna. Dependendo da aplicação, as membranas biodegradáveis devem suportar as cargas mecânicas demandadas durante seu funcionamento, transporte e manuseio, a fim de manter sua integridade e diversas propriedades, como a de barreira, resistência à tração e deformação antes da ruptura (LI et al., 2011; BONILLA et al., 2013).

O curativo deve ser flexível, mas suficientemente forte para ser manuseado durante a proteção do ferimento (ELSNER; ZILBERMAN, 2010). Assim, para avaliar as propriedades mecânicas das membranas de quitosana pura e incorporadas com bioativos, o ensaio de tração foi realizado nas condições especificadas no item 4.2.4.9 dessa dissertação, e os resultados de tensão máxima (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de elasticidade (MPa), encontram-se apresentados na Tabela 13.

As membranas apresentaram comportamento semelhante ao de elastômeros, com elevados valores de alongamento e aumento contínuo da resistência à tração. Segundo Zen (2015), entende-se por elastômeros os polímeros que apresentam deformação reversível quando submetidos à tensão na temperatura ambiente. Esta deformação depende da rotação em torno de suas ligações que é alterada pelos ângulos de ligação. Para que esta deformação ocorra, o elastômero deve ser predominantemente amorfo, para que a flexibilidade da cadeia não seja inibida pela cristalização.

Tabela 13 – Propriedades de tração para as membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais.

Amostra	Tensão máxima (MPa)	Alongamento na Ruptura (%)	Módulo de Elasticidade (MPa)
CS1	20,29±4,53	43,00±7,92	35,13±6,59

CS1C1	5,24±0,92	101,21±5,87	5,39±0,93
CS1C3	6,60±1,69	105,13±7,96	5,84±1,15
CS1M1	11,76±1,30	61,09±3,79	32,28±2,17
CS1M3	7,28±0,39	53,58±6,30	8,63±1,35
CS1CJ1	9,58±2,35	43,89±5,54	21,98±3,94
CS1CJ3	4,44±0,24	22,93±4,45	23,75±2,56
CS1PCJ1	6,72±0,72	38,37±6,59	24,19±3,88
CS1PCJ3	3,17±0,93	53,07±4,42	4,85±0,23
CS1N1	2,88±0,42	79,59±1,19	4,68±0,66
CS1N3	1,04±0,30	45,18±5,46	4,48±1,06
CS1PN1	2,48±0,50	65,52±9,45	5,45±1,42
CS1PN3	-	-	-

A membrana CS1 apresentou tensão máxima de (20,29±4,53) MPa e alongamento na ruptura de (43,00±7,92)%. Diferente de Guimarães (2018) que ao trabalhar com ácido acético, encontrou valores mais altos para a tensão máxima (50,07 ± 4,17) MPa e mais baixo para o alongamento (4,50 ± 1,00)%, mostrando que o tipo de ácido empregado na formação das membranas afeta fortemente as propriedades mecânicas finais. Tal comportamento pode ser atribuído ao fato do ácido láctico empregado nesse estudo, tender a formar membranas com maior flexibilidade e aderência, apresentando menor resistência à tração, funcionando muitas vezes como plastificante, já o ácido acético formar membranas mais rígidas e com maior resistência à tração, como esperado, uma vez que após a preparação das membranas, estas se apresentam mais ressecadas e com maior restrição de movimento. Valor de módulo de elasticidade de (57,4±7,2) MPa para a quitosana pura, maior do que o encontrado neste trabalho (35,13±6,59) MPa foi reportado por Yousefi et al. (2017) nos seus estudos sobre nanofibras de quitosana/extrato de henna usando o ácido acético como solvente.

Não apenas o solvente, mas inúmeros outros fatores podem influenciar as propriedades mecânicas das membranas, como o grau de desacetilação de quitosana, pH da solução, presença de plastificante e processo de mistura (COSTA-JÚNIOR et al.; 2009).

A incorporação dos bioativos naturais, conforme observado na Tabela 13, gerou em diferentes proporções, diminuição na tensão máxima de acordo com o tipo e concentração de

bioativo empregado. As composições com noni apresentaram as maiores reduções em relação a membrana pura CS1, especialmente a CS1N3 (94,87%) e as com óleo de melaleuca e suco de caju, as menores (42,04% para a CS1M1 e 52,78% para a CS1CJ1). O aumento da concentração dos bioativos de 1 para 3% tendeu a diminuir a resistência à tração das membranas. No caso dos óleos essenciais, tal efeito pode estar associado à capacidade desses bioativos atuarem como plastificantes, diminuindo a interação entre as cadeias poliméricas e conferindo flexibilidade a membrana (PIMENTEL et al., 2007; SCHLEMMER; SALES, 2010). Enquanto nos demais casos, usando bioativos sob a forma de suco, polpa e pós quer seja caju e/ou noni, além de não ter possivelmente favorecido a uma boa interação quitosana/bioativos, a má dispersão de uma fase na outra com a presença também de aglomerados e em alguns casos a presença de fissuras sejam possíveis fatores para essa diminuição na tensão máxima apresentada pelas membranas. Tal comportamento corrobora os resultados observados por MEV.

Curativos para a pele normal possuem tensão máxima entre 2,5 e 16 MPa (Wang et al., 2002). Como apenas a membrana CS1N3 apresenta valor abaixo da faixa, todas as demais composições investigadas estão dentro do estabelecido, e podem ser empregadas para tal aplicação.

De uma forma geral, os filmes de quitosana contendo bioativos naturais, experimentaram grandes deformações antes da sua ruptura, e se mostraram flexíveis e aderentes tanto na inspeção visual quanto no ensaio de tração, com exceção das amostras contendo suco de caju. Os maiores percentuais de alongamento foram exibidos pelos filmes CS1C3 ($105,13 \pm 7,96\%$), CS1C1 ($101,21 \pm 5,87\%$), CS1N1 ($79,59 \pm 1,19\%$), CS1PN1 ($65,52 \pm 9,45\%$) e CS1M1 ($61,09 \pm 3,79\%$).

O aumento da concentração de bioativo para 3% na membrana de quitosana, proporcionou aumentos no alongamento para as composições com óleo de cravo e pó de caju; e diminuições para as composições com óleo de melaleuca, suco de caju e polpa de noni.

A pele normal tem um alongamento na ruptura de aproximadamente 70%, e com exceção das amostras com óleo de cravo e com 1% de polpa de noni, os valores médios de alongamento para as demais composições encontram-se abaixo desse valor (HANSEN; JEMEC, 2002). Isto acontece possivelmente devido à propriedade de alongamento estar sendo avaliada em membranas secas, condição potencialmente diferente daquela usada na aplicação final, uma vez que as membranas produzidas podem absorver entre 11 e 19 vezes o seu peso

em água, atuando assim como plastificante na matriz polimérica, melhorando, portanto, tal propriedade (RODRIGUES et al., 2008).

A incorporação dos bioativos naturais proporcionaram diminuições no módulo de elasticidade da membrana pura de quitosana (35,13 MPa). Entretanto, a menor redução foi observada para a composição com 1% de óleo de melaleuca, com valor de 32,28 MPa. Valor que é maior que ao observado ao incorporar 3% do óleo de melaleuca (8,63 MPa), sugerindo possivelmente maior mobilidade aos segmentos moleculares da membrana CS1M3. Reduções menos significativas para o módulo de elasticidade da membrana pura de quitosana (35,13 MPa), também foram encontradas para as composições CS1PCJ1 (24,19 MPa), CS1CJ3 (23,75 MPa) e CS1CJ1 (21,98 MPa), implicando que tais bioativos assim como as concentrações usadas na preparação das membranas, afetaram menos à rigidez da quitosana. Todas as demais composições apresentaram módulos de elasticidades muito baixos, variando de 4,48 a 8,63 MPa, compatível com o comportamento de materiais elastoméricos, reportados anteriormente. Esse comportamento além de ter tido influência dos bioativos, pode estar relacionado diretamente ao ácido láctico usado na preparação das membranas, que confere característica gelatinosa, assim como a presença do óleo de cravo pode desempenhar papel importante como plastificante, melhorando a flexibilidade das amostras e diminuindo a rigidez das mesmas.

Segundo a literatura, o módulo elástico da pele varia entre 4,6 e 20 MPa, podendo variar em função de fatores como idade, cor da pele, histórico de lesões e fatores genéticos (PAILLER-MATTEI et al., 2008; MORGADO et al., 2014). Apenas as membranas CS1, CS1M1, CS1CJ1, CS1CJ3 e CS1PCJ1 encontram-se fora dessa faixa, enquanto os demais podem ser considerados adequadas para uso como curativos.

De uma forma geral, as membranas de quitosana pura e quitosana incorporada com bioativos naturais preparadas nessa dissertação, possuem propriedades tênses suficientes e compatíveis para serem aplicadas como curativos.

5.2.10 Atividade antimicrobiana

Os bioativos naturais foram avaliados individualmente e dentro das emulsões poliméricas de quitosana por meio do método de difusão em ágar. A Tabela 14 apresenta os valores dos halos de inibição exibidos por cada uma das amostras frente às bactérias

Staphylococcus aureus e *Escherichia coli*, e o fungo *Candida albicans*, micro-organismos que segundo PAIVA (2010) são os mais comumente encontrados em feridas. As imagens dos halos de inibição para todas as composições de membranas estudadas, encontram-se no Anexo 1.

Tabela 14 – Halos de inibição medidos para os bioativos naturais e para as emulsões poliméricas formadas.

Amostra	Diâmetro do halo de inibição (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Óleo cravo	36,0	16,0	21,0
Óleo melaleuca	9,0	10,0	12,0
Suco de caju	0,0	0,0	0,0
Pó de caju	0,0	0,0	0,0
Polpa de noni	8,0	6,0	0,0
Pó de noni	0,0	0,0	0,0
CS1	8,5	7,0	7,5
CS1C1	0,0	7,0	8,0
CS1C3	9,0	8,0	7,0
CS1M1	6,0	9,0	7,0
CS1M3	0,0	8,0	9,0
CS1CJ1	0,0	6,0	0,0
CS1CJ3	0,0	10,0	0,0
CS1PCJ1	7,0	0,0	0,0
CS1PCJ3	0,0	8,5	0,0
CS1N1	0,0	8,0	0,0
CS1N3	0,0	6,0	0,0
CS1PN1	0,0	8,0	0,0
CS1PN3	0,0	0,0	0,0

Comparando a atividade antimicrobiana dos bioativos, verificou-se que o óleo de cravo apresentou a maior inibição frente aos micro-organismos empregados, seguido do óleo

de melaleuca e polpa de noni, respectivamente. O caju sob as formas de suco e pó não exibiram nenhuma atividade, assim como o pó de noni.

Muller (2013), ao investigar a atividade antimicrobiana do óleo de cravo, obteve halos de inibição muito próximos aos encontrados nesse estudo, seus valores foram $31,5 \pm 0,7$ mm frente a *Staphylococcus aureus* e $17,0 \pm 0,0$ mm frente a *Escherichia coli*. Já Ulgade (2014), obteve halo menor para a *Staphylococcus aureus* ($23,67 \pm 1,15$ mm) e halo muito próximo para a *Escherichia coli* ($16,67 \pm 1,15$ mm). O presente estudo também está em concordância com os relatos realizados por Pinto et al. (2009) e Affonso et al. (2012) sobre a atividade do óleo de cravo contra fungos isolados como *Candida albicans*, o halo aqui encontrado foi bem significativo, sendo seu diâmetro igual a 21 mm.

Os halos de inibição observados para o óleo de melaleuca frente a *Staphylococcus aureus*, a *Escherichia coli* e o *Candida albicans* foram 9,0, 10,0 e 12,0 mm, respectivamente (Tabela 14). O fungo apresentou maior sensibilidade ao óleo, enquanto a bactéria gram-positiva demonstrou menor sensibilidade. Packer e Luz (2007), ao avaliarem o perfil bacteriostático e fungistático do óleo de melaleuca utilizando esses três micro-organismos, observaram halos de inibição que variaram entre 10 e 60 mm.

Para Cimanga e colaboradores (2002), óleos essenciais que resultem em halos de inibição de crescimento abaixo de 10 mm, são classificados como inativos, e ativos se resultarem em halos entre 10 e 15 mm e muito ativo para valores acima de 15 mm. Dessa maneira, classifica-se o óleo de cravo como muito ativo para os três micro-organismos e o óleo de melaleuca como inativo para a *Staphylococcus aureus* e ativo para a *Escherichia coli* e o *Candida albicans*.

A atividade antimicrobiana do noni já tem sido registrada na literatura. Estudos têm demonstrado que o noni inibiu o crescimento de certas bactérias *in vitro*, tais como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella*, acreditando-se que esse efeito seja provavelmente devido à presença de antraquinonas, entre outras substâncias (CORREIA, 2010; MULLER, 2007). Silveira e colaboradores (2011), ao avaliar a atividade bacteriana de extratos hidroalcoólicos do fruto de noni frente à *Staphylococcus aureus*, obtiveram halos de inibição que variaram de 13,7 a 21,5 mm. Nesse estudo, os halos de inibição mostraram-se mais discretos muito provavelmente pela forma como o noni foi utilizado: *in natura*.

O suco do caju sob a forma *in natura* não apresentou atividade em relação as 3 cepas empregadas, como observado na Tabela 14. Entretanto, resultados melhores foram obtidos por Silva e colaboradores (2007), ao trabalhar com o extrato hidroalcolico da casca do caule do cajueiro frente a amostras de *Staphylococcus aureus* obtidas a partir de pacientes do hospital universitário da UFPB; os halos de inibição chegaram a 20 mm de diâmetro.

Como discutido no item 3.1.2.1.4, a quitosana apresenta uma atividade antimicrobiana intrínseca. A solução polimérica de CS1 apresentou atividade frente as 3 cepas utilizadas como observado na Tabela 14.

A atividade antimicrobiana da quitosana tem sido atribuída a diferentes mecanismos (JEON et al., 2014; KONG et al., 2010). Um dos mais aceitos é que a carga positiva da quitosana liga-se a carga negativa da superfície da bactéria, danificando a estrutura, extravasando os constituintes intracelulares e, conseqüentemente, causando a morte celular (SUDARSHAN, 1992; TAN et al., 2013; JEON et al., 2014). Contudo, diversos fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados à quitosana como grau de acetilação, massa molar, solubilidade, pH, temperatura, viscosidade e a composição da parede celular bacteriana pode afetar a atividade antimicrobiana da quitosana (KONG et al., 2010).

O objetivo da combinação de bioativos naturais com a quitosana foi obter membranas com atividade antimicrobiana. Das composições investigadas, todas apresentaram atividade antimicrobiana em diferentes espectros de ação, com exceção da membrana CS1PN3 que não apresentou atividade para nenhuma das 3 cepas estudadas. As composições que apresentaram atividade frente as 3 cepas foram CS1, CS1C3 e CS1M1.

Das composições investigadas, as que proporcionaram aumentos na atividade antimicrobiana da CS1 frente a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* foi a CS1C3; frente a bactéria gram-negativa *Escherichia coli* foram: CS1C3, CS1M1, CS1M3, CS1CJ3, CS1PCJ3, CS1N1 e CS1PN1; e frente ao fungo *Candida albicans* foram: CS1C1 e CS1M3. Mostrando a relevância em se combinar a quitosana e materiais ativos.

Um fato interessante a se destacar é que como discutido anteriormente, o suco de caju e os pós de caju e noni não apresentaram atividade antimicrobiana individualmente frente às cepas estudadas. Entretanto, quando esses materiais foram incorporados nas soluções poliméricas, aumentos nos halos de inibição em relação aos da CS1 frente a *Escherichia coli* foram observados. Inclusive, dentre todas as 14 emulsões poliméricas investigadas, a composição CS1CJ3 foi a que apresentou maior halo de inibição (10 mm).

A infecção de feridas é a maior causa para a sua cronicidade, uma vez que as infecções persistentes param o crescimento do tecido de reparação como também modificam a resposta inflamatória (GANESH et al., 2014). Isso mostra a importância que as membranas candidatas a curativos com atividade antimicrobiana apresentam no tratamento de lesões cutâneas.

Curativos com princípios ativos possuem ação tópica dependente de sua composição química (FRANCO; GONÇALVES, 2008). Esses princípios ativos atuam principalmente no desbridamento enzimático e no controle da população bacteriana durante o preparo do leito de uma ferida (PINTO, 2016). Alguns curativos a base de prata também têm grande funcionalidade no processo de cicatrização de queimaduras e costumam ser utilizados em rotinas médicas. O principal motivo da utilização desses curativos está relacionado à sua forte ação antimicrobiana de amplo espectro, antisséptica e anti-inflamatória (MOIEMEN et al., 2011; FIORANTI-JUNIOR, 2012).

A utilização de agentes antimicrobianos de largo espectro incorporados aos curativos biológicos, tem sido estudada e vem demonstrando uma importante ferramenta no controle microbiológico (AGARWAL et al., 2012).

As membranas de quitosana incorporadas com os bioativos naturais apresentaram atividade antimicrobiana, entretanto, estas mostraram-se discretas, e muitos fatores podem ter contribuído para tais resultados, como a formação de ligações no meio polimérico que reduziram a intensa atividade biológica dos óleos, a forma *in natura* como o caju e o noni foram empregados, bem como as baixas concentrações de bioativos incorporados. Mas, como inúmeros fatores estão envolvidos no processo de cicatrização, além da atividade antimicrobiana, é válido avaliar o comportamento das membranas de quitosana com bioativos naturais frente a outras análises, como a atividade cicatrizante *in vivo*.

6 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu concluir que a obtenção dos pós de caju e noni pelo método de atomização, apresentaram excelente estabilidade microbiológica. As suas incorporações juntamente com as de óleos essenciais de cravo e melaleuca, suco de caju e polpa de noni à quitosana, proporcionaram a obtenção de membranas com propriedades antimicrobianas com diferentes espectros de ação. Todas as membranas apresentaram propriedade óptica de transparência a luz visível, apesar das colorações variarem de incolor a amarronzada. As membranas mostraram-se hidrofílicas, o que é uma importante característica em materiais candidatos à curativos, e a incorporação dos bioativos tanto em água destilada quanto em PBS proporcionaram aumentos na molhabilidade dessas membranas. Eles também promoveram melhorias nas taxas de absorção e estabilidade da membrana CS1 em ensaios de intumescimento, principalmente os óleos essenciais de cravo e melaleuca. Associado a todas essas características, as membranas de quitosana pura e incorporada com os bioativos naturais ainda apresentaram aderência e propriedades tênsis suficientes e compatíveis para serem aplicadas como curativos. Entretanto, dentre todos os bioativos investigados e todas as cepas estudadas, pode-se concluir que os óleos essenciais de cravo e melaleuca foram os que demonstraram as melhores atividades antimicrobianas nas emulsões à base de quitosana, apresentando-se como óleos potencialmente favoráveis no processo de cicatrização de lesões cutâneas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ❖ Realizar a triagem fitoquímica nos óleos de cravo, óleo de melaleuca, caju e noni para identificação das substâncias ativas responsáveis pela atividade antimicrobiana.
- ❖ Avaliar a atividade cicatrizante *in vivo* das membranas de quitosana incorporadas com óleos de cravo e melaleuca, suco e pó de caju, polpa e pó de noni.
- ❖ Realizar a própria extração dos óleos essenciais de cravo e melaleuca pelo método de arraste a vapor.
- ❖ Trabalhar com os bioativos naturais sob a forma de extratos, em razão dos metabólitos secundários estarem presentes de maneira mais concentrada.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 2, p. 394-400, abr./jun. 2007.
- ABREU, F. O. M. S.; OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; REGINA, C. M. P. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 1277-1282, 2012.
- ACKERMANN, M. R. Acute inflammation. In: McGAVIN, M. D.; ZACHARY, D. F. **Pathologic basis veterinary disease**. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2007.
- ADHIKARI, B.; HOWES, T.; BHANDARI, B. R.; TROUNG, V. Effect of addition of maltodextrin on drying kinetics and stickiness of sugar and acid-rich foods during convective drying: experiments and modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 62, p. 53-68, 2004.
- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da índia. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- AGACHE, P. G.; MONNEUR, C.; LEVEQUE, J. L.; DE RIGAL, J. Mechanical properties and Young's modulus of human skin in vivo. **Archives of Dermatological Research**, v. 269, p. 221-232, 1980.
- AGARWAL, A.; NELSON, T. B.; KIERSKI, P. R.; SCHURR, M. J.; MURPHY, C. J.; CZUPRYNSKI, C. J.; MCANULTY, J. F.; ABBOTT, N. L. Polymeric multilayers that localize the release of chlorhexidine from biologic wound dressings. **Biomaterial**, v. 33, n. 28, p. 6783-6792, 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Informe técnico n. 25, de maio de 2007**. Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda citrifolia*, também conhecida como noni. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a3c4d6004eb543508635868a610f4177/Informe+T%C3%A9cnico+sobre+Noni.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 07 fev. 2018.
- AGULLÓ, E.; PENICHE, C.; TAPIA, C.; HERAS, Á; ROMÁN, J. S.; ARGULLES, W.; GOYCOOLEA, F.; MAYORGA, A.; NAKAMATSU, J.; ABRAM, A. P. **Quitina y quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones**. Perú: Pontificia Universidad Católica Del Perú/Fondo Editorial, 2004. 312 p.
- AKUTSU, T. Artificial Cardiac Prostheses. In Norman, Cardiac Surgery. New York: Appleton-CenturyCrofts, 1972.
- ALMEIDA, T. L. **Desenvolvimento de membrana composta de PVAI e quitosana compatível com o sistema dermo-epidérmico**. 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- ALONSO, I. G.; PENICHE-COVAS, C.; NIETO, J. M. Determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan by thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis**, v. 28, n. 1, p. 189-193, 1983.

ALVES, K. S. **Alquilação redutiva da quitosana a partir do glutaraldeído e 3-amino-1-propanol**. 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

ALVES, K. S. **Obtenção de polímeros graftizados de quitosana e estudo das propriedades físico-químicas para aplicação na indústria do petróleo**. 2013. 144 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

AMARAL, I. F.; P. L. GRANJA; M. A BARBOSA. Chemical modification of chitosan by phosphorylation: an XPS, FT-IR and SEM study. **Journal of Biomaterials Science**, v. 16, n. 12, p. 1575–1593, 2005.

ANJOS, F. S. C. **Filmes e beads à base de quitosana**: incorporação de compostos luminescentes e estudos de interações hospedeiro-hóspede. 2005. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

ANSELMO, G. C. S.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; ARRUDA, P. C.; SOUSA, M. C. Determinação da higroscopicidade do cajá em pó por meio da secagem por atomização. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 58-65, 2006.

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

ARAGÃO NETO, A. C. **Avaliação da cicatrização de feridas cutâneas tratadas com hidrogel de policaju e quitosana associado a laser terapêutico**. 2013. 67 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

ARAÚJO, A. K. L. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouretea* sp.** 2010. 177 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2010.

ARAÚJO, E. L. **Preparação e caracterização de bases de Schiff e complexos metálicos a partir de quitosana e derivados de salicilaldeído**. 2015. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.

ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Caju in natura (*Anacardium occidentale* L.) – carotenóides e vitamina C. In: XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2000, Fortaleza, Ceará. **Resumos....** Fortaleza: SBCTA, v. 2, n. 5, p. 101, 2000.

ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants. Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. **Aust J Exp Biol Med Sci.**, v. 34, n. 1, p. 17-26, 1956.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A.C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista eletrônica de Materiais e processos**, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; ALENCAR, A. A; BATISTA, L. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; GUEDES, D. N. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, p. 392-413, 2005.

BATISTA, A. G.; OLIVEIRA, B. D. A.; OLIVEIRA, M. A.; GUEDES, T. J.; SILVA, D. F.; PINTO, N. A. V. D. Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas: uma abordagem para produção do agronegócio familiar no Alto Vale do Jequitinhonha. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 7, n.4, p. 49-54, 2013.

BATISTA, L. M. **Produção de quitosana a partir de resíduos de camarão: análise do processo e da operação de secagem**. 2009. 127 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, 2009.

BAUM, C. L.; ARPEY, C. J. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. **Dermatologic Sugery**, v. 31, n. 6, p. 674-686, 2005.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: Desvendando o sistema nervoso**. Porto Alegre: Artmed, 2008.

BENBOW, M. **Evidence-Based wound management**. London: Whurr Publishers, 2005.

BEZERRA, A. M. **Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2011.

BHANDARI, B.; ADHIKARI, B. Glass-transition based approach in drying of foods. In: RATTI, C. **Advances in Food Dehydration**. Boca Raton: CRC, 2009. Cap. 2, p. 37-58.

BISPO, V. M. **Estudo do efeito da reticulação por Genipin em suportes de Quitosana-PVA**. 2009. 189 f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2009.

BONONI, V. L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R. **Cultivo de cogumelos cosmestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995. 206 p.

BORGOGNONI, C. F.; POLAKIEWICZ, B.; PITOMBO, R. N. M. Estabilidade de emulsões de D-limoneno em quitosana modificada. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 3, p. 502-508, 2006.

BOROJEVIC, R. SERRICELLA, P. Próteses vivas de pele humana. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n. 7, p. 16-18, 1999.

BRADLEY, M.; CULLUM, N.; NELSON, E. A.; PETTICREW, M.; SHELDON, T.; TORGERSON, D. Systematic reviews of wound care management: (2) dressings and topical agents using in the healing of chronic wounds. **Health Technol Assess**, v.3, n.17, p.1-35, 1999.

BRAGA, A. C. C. **Influência da temperatura e do tamanho de partículas no comportamento reológico do suco de abacaxi pérola (*Ananas comosus* (L.) Merr.)**. 2007. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém – PA, 2007.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 58, de 30 de agosto de 2016. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e de qualidade para polpas de frutas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2016.

BREITBART, A. S.; GRANDE, D. A.; LASER, J.; BARCIA, M.; PORTI, D.; MALHOTRA, S.; KOGON, A.; GRANT, R. T.; MASON, J. M. Treatment of ischemic wounds using cultured dermal fibroblasts transduced retrovirally with PDGF-b and VEGF genes. **Annals of Plastic Surgery**, v. 46, n. 5, p. 555-561, 2001.

BROCHIER, B. **Estudo da desidratação osmótica de Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) usando solutos alternativos à sacarose**. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic Science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. 7, p. 12S-34S, 2006.

BROUSSIGNAC, J. Un haut polymère naturel peu connu dans l'industrie le chitosane, **Chim. Ind. Gén. Chim.**, v. 99, n. 9, p. 1241-1247, 1970.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F. M.; ARGUELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Na infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, v. 42, n. 8, p. 3569-3580, 2001.

BUJANG, A.; NUR ‘ADILA, S.; SUYATMA, N. E. Physical properties of chitosan films as affected by concentration of lactic acid and glycerol. **IPCBEE**, v. 58, n. 6, 2013.

CALHOUN, M. L. STINSON, A. W. O tegumento. In: DELLMANN, H. e BROWN, E. M. **Histologia Veterinária**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982, cap. 18, p. 369-387.

CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644-650, 2007.

CAMPOS, A. C. L.; GROTH, A. K.; BRANCO, A. B. Assessment and nutritional aspects of wound healing. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 11, n. 3, p. 281-288, 2008.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **Arq. Bras. Cir. Dig**, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CAMPOS, M. G. N.; GROSSO, C. R. F.; CÁDENAS, G.; MEI, L. H. I. Effects of neutralization process on preparation and characterization of chitosan membranes for wound dressing. **Macromolecular Symposium**, v. 229, p. 253-257, 2005.

CANELLA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 13-17, 2001.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Ver. Bras. Frutic.**, v. 32, n. 4, 2010.

CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying***: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2011.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, p. 50-62, 2006.

CARVALHO, P. T. C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através de espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos**. 2002. 72 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

CARVALHO, R. M.; NASCIMENTO, L. C. S.; CHAVES, D. C.; SILVA, M. V. F.; RODRIGUES, W. M. **Caracterização Físico-Química de Morinda Citrifolia L. (Noni) cultivado no Município de Zé Doca, Maranhão, Brasil**. Zé Doca: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, 2010.

CARVALHO, T. V. **Biomateriais à base de quitosana de camarão e bactérias para remoção de metais traços e petróleo**. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CENTRO DE TECNOLOGIA DE EMBALAGENS – CETEA. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: CETEA, 1996. 219 p

CETEA. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA, 1996. 219 p.

CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A. B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*): a short review. **Phytother. Res.**, v. 21, n. 6, p. 501-506, 2007.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PEREZ, A. M.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.-M.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): a review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 2, p. 645-654, 2006.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PÉREZ, A. M.; BELLEVILLE, M.; ZÚÑIGA, C.; BRAT, P. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. **J. Sci. Food Agric.**, v. 87, n. 9, p. 1710-1716, 2007.

CHANDY, T.; SHARMA, C. P. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicillin. **Biomaterial**, v. 12, n. 12, p. 65-70, 1993.

- CHATELET, C.; DAMOUR, O.; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. **Biomaterials**, v. 22, p. 261-268, 200.
- CHEN, C. C.; CHUNG, Y. C.; WANG, H. L.; CHEN, K. T.; LIN, S. Y. Antibacterial properties of chitosan in waterborne pathogen. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 37, p. 1379-1390, 2002.
- CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **J. Ethno-pharmacology**, v. 79, n.2, p. 213-220, 2002.
- CHUNG, Y.C.; LI, Y. H.; CHEN, C. C. Pollutant removal from: Aquaculture Wastewater using the biopolymer chitosan at different molecular weights. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 40, p. 1775-1790, 2005.
- CLARK, R. A. F. Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair. **Arch Dermatol**, v. 124, p. 201-206, 1988.
- CLARK, R. A. F. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. **Am. J. Med. Sci.**, v. 306, n. 1, p. 42-48, 1993.
- COELHO, T. C. **Estudos de adsorção de cobre (II) em microesferas de quitosana reticuladas com epícloridrina e impregnadas com heparina**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- COHEN, J. K.; DIEGELMANN, R. F. LINDBLAD, W. J. (eds.). **Wound healing: biochemical and clinical aspects**. Philadelphia: Saunders, 1992.
- CORREIA, A. A. S.; GONZAGA, M. L. C.; AQUINO, A. C.; SOUZA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A. Caracterização Química e Físico-Química da polpa do Noni (*Morinda Citrifolia*) cultivado no estado do Ceará. **Alim. Nutr.**, v. 22, n. 4, p.609-615, out./dez. 2011.
- CORREIA, A. A. S. **Maceração Enzimática da polpa de noni (*Morinda Citrifolia* L.)**. 2010. 105 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2010.
- COSTA, A. B. **Atividade antioxidante *in vitro* e antifúngica do noni (*Morinda citrifolia* L.)**. 2011. 86 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2011.
- COSTA, J. R. **A influência da temperatura na estrutura e molhabilidade de filmes finos**. 2016. 61 p. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2016.
- COSTA SILVA, H. S. R.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: Derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Quím. Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.
- COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.4927, 2001.
- CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. **Quitosana: a fibra do futuro**. Fortaleza: PADETEC, 1999. 124 p.

- CRUZ, M. A. G. **Atividade inibitória de *Morinda citrifolia* sobre *Streptococcus mutans* e *Candida albicans***. 2013. 46 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade de Uberaba, Uberaba, 2013.
- CUZZEL, J.; KRASNER, D. Curativos. In: GOGIA, P. **Feridas - tratamento e cicatrização**. Rio de Janeiro: Livraria Editora Revinter Ltda, 2003.
- DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A.; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr.**, v. 16, n. 2, p. 195-205, 2005.
- DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. 2005. 194 f. Tese – (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- DARDER, M.; COLILA, M.; RUIZ-HITZKY, E. Biopolymer-clay nanocomposites based on chitosan intercalated in Montmorillonite. **Chem. Mater.**, v. 15, p. 3774-3780, 2003.
- DEALEY, C. **Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
- DEMOULIERE, A.; CHAPONNIER, C.; GABBIANI, G. Tissue repair, contraction and myofibroblast. **Wound Repair and Regeneration**, v. 13, n. 1, p. 7-12, 2005.
- DEUCHI, K. Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility by rats fed on a high-fat diet. **Biosci. Biotechnol. Biochem**, v. 58, n. 9, p. 1613-1616, 1994.
- DIALLO, D.; PAULSEN, B. S.; LILJEBÄCK, T. H.; MICHAELSEN, T. E. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, p.159-71, 2001.
- DIAS, M. V. **Filmes a base de quitosana incorporados com α -tocoferol e montmorilonita para aplicação em embalagens funcional e antioxidante**. 2012. 172 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2012.
- DIAS, T. A. **Gel de quitosana à 2% na cicatrização de feridas cutâneas em ratas diabéticas**. 2012. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiana, 2012.
- DIEGELMANN, R. F.; DUNN, J. D.; LINDBALD, W. J.; COHEN, J. K. Analysis of the effects of chitosan on inflammation, angiogenesis, fibroplasia and collagen deposition in polyvinyl alcohol sponge implements in rat wounds. **Wound Rep Reg**, v. 4, p. 48-52, 1996.
- DIXON, A. R.; MCMILLEN, H.; ETKIN, N. L. Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **Ecological Botany**, v. 53, n. 2, p. 51-68, 1999.
- DEE, G. J.; RODE, O.; WACHTER, R. Chitosan-multi-functional marine polymer. **Cosmetics & Toiletries**, v. 116, n. 2, p. 39-42, 2001.
- DIPIETRO, L.; BURNS, A. L. **Wound healing: methods and protocols**. New Jersey: Humana Press, 2003. p. 38-46.
- DODANE, V.; VILIVALAM, V. D. Pharmaceutical applications of chitosan. **PSTT**, v. 1, n. 6, 1998.

DOUGHTY, D.B.; SPARKS-DEFRIESE, B. Wound healing physiology. In: BRYANT, R.A.; NIX, D.P. **Acute and chronic wounds: current management concepts**. 3 ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. p.56-81.

DUTTA, K. P.; RAVIKUMAR, M. N. V.; DUTTA, J. Chitin and chitosan for versatile applications. **Journal Macromolecular Science**, v. 42, n. 3, p. 307-354, 2003.

DUTTA, P. K.; DUTTA, J.; TRIPATHI, V. S. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, v. 63, p. 2031, 2004.

EDMUNDS, H. L. The Sangreal. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 90, n. 16, 1985.

ENGELHARD, E.; TOKSOY, A.; GOOBELER, M.; DEBUS, S.; BRÜCKER, E. B.; GILLITZER, R. Chemokines IL-8, Groa, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leucocyte subsets in human wound healing. **Am. J. Pathol.**, v.153, p. 1849-1860, 1998.

ERENO, D. Curativo de Borracha. Revista. **Pesquisa Fapesp**, n. 88, 2003. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2003/06/66-medicina.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

EVONIK. **Sipernat specialty sílica and Aerosil fumed sílica in spray drying applications**. Evonik Industries AG. Hanau, p. 4. 2013. Technical Information 1365.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M., STAMFORD, T.L.M. Potencial Biotecnológico de Quitosana em Sistemas de Conservação de Alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, n. 5, 2008.

FALANGA, V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. **Lancet**, v. 366, n. 9498, p. 1736-1743, 2005.

FARIA, A. U.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M. Biodegração de filmes de polipropileno (PP), poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e Blenda de PP/PHB por microrganismos das águas do rio Atibaia. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p. 141-147, 2010.

FÁVERE, V. T. **Absorção dos íons Cu(II), Cd(II), Ni(II), Pb(II) e Zn (II) pelo biopolímero quitina, quitosana e pelas quitosanas modificadas**. 1994. 153 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1994.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**, 2 Ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERNANDES, L. L. **Produção e caracterização de membranas de quitosana e quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. 2009. 57 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

FIGUEIREDO, J. S. L. **Síntese e caracterização de copolímeros de polietilenoglicol monometil éter em quitosana cationizada para futuras aplicações em biotecnologia**. 2014. 97 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

FIGUEIRÊDO, R. M. F.; GRANDIN, A.; MARTUCCI, E. T. Armazenamento do suco de acerola encapsulado. **Rev. Bras. Prod. Agroin.**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2001.

FILKOVÁ, I.; HUANG, L.A X.; MUJUMDAR, A. S. Industrial spray drying systems. In: MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 3. Ed. Boca Raton: CRC, 2006. Cap. 10, p. 215-256.

FINE, N.; MUSTOE, T. A. Wound healing. In: Greenfield, L. J.; Mulholland, M. W.; Oldham, K. T.; Zenelock, G. B.; Lillemoe, K. D. **Surgery: scientific principles and practice**. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins. 2001. p. 69-85.

FIORAVANTI-JUNIOR, G. A. **Avaliação dos efeitos da prata nanocristalina e da papaína sobre o processo cicatricial em ratos**. 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

FOXMAN, E. F.; CAMPBELL, J. J.; BUTCCHER, E. Multistep navigation and combinatorial control of leukocyte chemotaxis. **J. Cell Biol.**, v. 139, p. 1349-1360, 1997.

FRÁGUAS, R. M.; ROCHA, D. A.; QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; SOUSA, R. V.; JÚNIOR, E. N. O. Caracterização química e efeito cicatrizante de quitosana com baixos valores de massa molar e grau de acetilação, em lesões cutâneas. **Quitosana**, v. 25, n. 2, p. 205-211, 2015.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Rev Col Bras Cir.**, v. 35, n. 3, p. 203-206, 2008.

FRANCO, L.O.; MAIA, R.C.G.; PORTO, A.L.F.; MESSIAS. A.S.; FUKUSHIMA, K.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Heavy metal biosorption by chitin and chitosan isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 243-247, 2004.

GABRIEL, J. S. **Síntese, caracterização e atividade antifúngica de derivados anfifílicos de dietilaminoetil-quitosana contra *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus***. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2013.

GADELHA, A. J. F.; ROCHA, C. O.; VIEIRA, F. F.; RIBEIRO, G. N. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de abacaxi, acerola, cajá e caju. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 1, p. 115-118, 2009.

GALLETTI, P. M.; BRECHER, G. A. **Heart-Lung Bypass: Principles and Techniques of Extracorporeal Circulation**. New York: Grune & Stratton, 1962.

GANDHIRAJAN, M.; SWAMINATHAN, C.S. Coagulation of Oil Field Wastewater with Chitosan. **Journal Indian Chemical Society**, v.74, p. 257, 1997.

GANESH, K.; SINHA, M.; MATHEW-STEINER, S. S.; DAS, A.; ROY, S.; SEM, C. K. Chronic Wound Biofilm Model. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 7, p. 382-388, 2014.

GARCIA, C. C.; GERMANO, C.; OSTI, N. M.; CHORILLI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de melaleuca. **Rev. Bras. Farm.**, v. 90, n. 3, p. 236-240, 2009.

GARCIA, S. J. F. **Avaliação do efeito cicatrizando do hidrogel de quitosana a 2% no tratamento de lesões cutâneas em camundongos**. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

GIL, M. H; FERREIRA, P. Polissacarídeos como biomateriais. **Química**, v. 100, p.72-74, 2006.

GOMES, R. V. **Imobilização de esporos de *Bacillus subtilis* em esferas de quitosana obtida de quitina de camarão para o uso na biodegradação de hidrocarbonetos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

GONÇALVES, A. L. **Estudo da atividade antimicrobiana de algumas árvores medicinais nativas com potencial de conservação/recuperação de florestas tropicais**. 2007. 193 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2007.

GOOSEN, M. F. A. **Applications of Chitin and Chitosan**. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1997. 336p.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A new technique for spray drying Orange juice concentrate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 342-351, 2010.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: drying kinetics and product recovery. **Drying Technology**, v. 26, n. 6, p. 714-725, 2008.

GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 3, p.241-47, 2009.

GUIMARÃES, A. A. S. **Hidrogéis à base de quitosana/poli(álcool vinílico) para liberação de fármaco visando uso potencial como curativo**. 2018. 163 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

GUINESI, L. S.; CAVALHEIRO, É. T. G. Influence of degree of substitution in biopolymeric Schiff bases on the kinetic of thermal decomposition by non-isothermal procedure. **Thermochimica Acta**, v. 449, n. 1-2, p. 1-7, 2006.

HALL, E. E.; MEFFERT, R. M.; HERMANN, J. S.; MELLONIG, J. T.; COCHRAN, D. L. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. **J Periodontol**, v. 70, n. 5, p. 526-535, 1999.

HAMILTON, V.; YUAN, Y.; RIGNEY, A. D.; PUCKETT, A. D.; ONG, J. L.; YANG, Y.; ELDER, S. H. Characterization of chitosan films and effects on fibroblast cell attachment and proliferation. **J Mater Sci: Mater Med**, v. 17, p. 1373-1381, 2006.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele, Estrutura, Propriedades e Envelhecimento**. São Paulo: SENAC, 2009.

HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de farmacologia**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

HEGENBART, J. C. Encapsulated ingredients keep problems covered. **Food Product Design**, v. 3, n. 1, p. 28-34, 1993.

HENRIKSON, R. C.; KAYE, G. I.; MAZURKIEVCZ, J. E. **Histologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p. 228-244.

HIRAI, A.; ODANI, H.; NAKAJIMA, A. Determination of degree of deacetylation of chitosan by ¹H NMR spectroscopy. **Polymer Bulletin**, v. 26, n. 1, p. 87-94, 1991.

HIRANO, S. **Chitin and Chitosan**. New York: Elsevier, 1989.

HOLANDA, A. L. **Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização**. 2011. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.

HORN, M. M. **Obtenção e caracterização de hidrogéis de quitosana, xantana e colágeno aniônico**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 36, n. 4, p. 667-685, 2006.

HSU, S. H.; WHU, S. W.; TSAI, C. L.; WU, Y. H.; CHEN, H. W.; HSIEH, K. H. Chitosan as scaffold materials: effects of molecular weight and degree of deacetylation. **Journal of Polymer Research**, v. 11, p. 141-147, 2004.

ILAN, N.; MAHOOTI, S.; MADRI, J. A. Distinct signal transduction pathways are utilized during the tube formation and survival phases of *in vitro* angiogenesis. **J. Cell. Sci.**, n. 11, p. 3621-3631, 1998.

ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; RÊGO, F. M. P.; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M.C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Rev Med**, v. 89, n. 3/4, p. 125-131, 2010.

ISSA, J. P.; NASCIMENTO, C.; BARBOSA, R. E.S.; MELO, A.S.S.; YOMASA, M. M. Morphogenetic protein rhBMP-2 and new bone formation. **Int J Morphol**, v. 24, p. 323-330, 2006.

JALILI, K.; ABBASI, F.; OSKOEI, S. S.; ALINEJAD, Z. Relationships between The morphology, swelling and mechanical properties of poly(dimethyl siloxane)/poly (acrylic acid) interpenetrating networks. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 2, n. 5, p. 534-541, 2009.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; SUDHEESH KUMAR, P. T.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 322– 337, 2011.

JEON, S. J., OH, M., YEO, W. S., GALVÃO, K. N.; JEONG, K. C. Underlying mechanism of antimicrobial activity of chitosan microparticles and implications for the treatment of infectious diseases. **PLoS One** 9, 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0092723>.

JORGE, M. P.; MADJAROF, C.; RUIZ, A. L.T. G.; FERNANDES, A. T.; RODRIGUES, R. A. F.; SOUSA, I. M. O.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 361-366, 2008.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KAHN, R.; KAHN, M. H. Use of collagen as a biomaterial: an update. **J Indian Soc Periodontol**, v. 17, n. 4, p. 539-542, 2013.

KAMAMOTO, F. **Contração de feridas: revisão bibliográfica e estudo da contração gerada por fibroblastos normais e de quelóides**. 2007. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

- KAMEL, R. A.; ONG, J. F.; ERIKSSON, E.; JUNKER, J. P. E.; CATERSON, E. J. Tissue Engineering of Skin. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 217, p. 533-555, 2013.
- KARAM, T. K.; DALPOSSO, L. M.; CASA, D.M.; DE FREITAS, G. B. L. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. **Rev. bras. plantas med.** [online], v.15, n.2, p. 280-286, 2013. ISSN 1516-0572.
- KE, H.; CHEN, Q. Potentiometric titration of chitosan by linear method. **Huaxue Tongbao**, v. 10, n. 1, p. 44-46, 1990.
- KHOR, E.; LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v. 4, p. 2339-2349, 2003.
- KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular**: uma introdução à patologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p.168-170.
- KIM, C. H.; CHOI, J. W.; CHUN, H. J.; CHOI, K. S. Synthesis of chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their antibacterial activity. **Polymer Bulletin**, v. 38, n. 4, p. 387-393, 1997.
- KIM, I. Y.; SEO, S. J.; MOON, H. S. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 1-21, 2008.
- KIM, S. K.; PARK, P. J.; YANG, H. P.; HAN, S. S. Subacute toxicity of chitosan oligosaccharide in sprague-dawley rats. **Arzneim. Forsch./Drug Res.**, v. 51, n. 2, p. 769-774, 2001.
- KIM, S.; NIMNI, M. E.; YANG, Z.; HAN, B. Chitosan/gelatina-based films crosslinked by proanthocyanidin. **J. Biomed Mater Res Part B.**, v.75, p.442-450, 2005.
- KITTUR, F. S.; PRASHANTH, H. V. H.; SANKAR, K. U.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 1, p. 185-193, 2002.
- KOIDE, S. S. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. **Nutrition Research**, v. 18, n. 6, p. 1091 - 1101, 1998.
- KONAN, N. A.; BACCHI, E. M. Efeito antiulcerogênica e toxicidade aguda do extrato hidroetanólico do caju (*Anacardium occidentale* L.) folhas. **J Ethnopharmacol**, v. 112, p. 237-242, 2007.
- KONG, M.; CHENG, X. G.; XING, K.; PARK, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51-63, 2010.
- KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.
- KUMAR V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO N. 2005. In: ROBBINS & COTRAN. **Pathologic Basis of Disease**. 7 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.
- KURITA, K. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. **Marine Biotechnology**, v. 8, p. 203-226, 2006.
- KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. **Progresses in Polymer Science**, v. 26, p. 1921-1971, 2001.

- KWEON, D. K.; SONG, S. B.; PARK, Y. Y. Preparation of water-soluble chitosan/heparin complex and its application as wound healing accelerator. **Biomaterials**, v.24, p.1595-1601, 2003.
- LANGRISH, T. A. G.; CHAN, W. C.; KOTA, K. Comparison of maltodextrin and skim milk wall deposition rates in a pilot-scale spray dryer. **Powder Technology**, v. 179, p. 84-89, 2007.
- LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: Biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.
- LAURENS, A.; MBOUP, S.; GIONO, A.; BARBER, P.; DAVID-PRINCE, M. Étude de l'action antibatérienne d'extraits d'Anacardium occidentale L. **Ann Pharm Fr**, v. 40, p. 143-146, 1992.
- LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **An bras Dermatol**, v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.
- LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Phatophysiology of acute wound healing. **Clinical Dermatology**, v.25, n.1, p. 9-18, 2007.
- LIMA, C. A. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, E. D. P. A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anãoprecoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 358-362, 2000.
- LIU, Z.; MIAO, Y.; WANG, Z.; YIN, G. Synthesis and characterization of a novel super-absorbent based on chemically modified pulverized wheat straw and acrylic acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 1, p. 131-135, 2009.
- LLOYDB, J. F.; KENNEDYA, P.; METHACANONA, M.; PATERSONH; KNILLA, C. J. Carbohydrate polymers as wound management aids. **Carbohydrate polymers**, v. 37, n. 3, p. 315-322, 1998.
- LOFÊGO FILHO, J. A.; DADALTI, P.; SOUZA, D. C.; SOUZA, P. R. C.; SILVA, M. A. L.; TAKIYA, C. M. Ennxertia de pele em oncologia cutânea. **Na Bras Dermatol.**, v. 5, p. 465-472, 2006.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J.; **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002.
- MA, J.; WANG, H.; HE, B.; CHEN, J. "A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neofetal dermal fibroblasts". **Biomaterials**, v.22, p.331-336, 2001.
- MA, M.; HILL, R. M. Current opinion in colloid & interface Science. **Science Direct**, v. 11, n. 4, p. 193-202, 2006.
- MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **An bras Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003a.
- MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. **An bras Dermatol**, v. 78, n. 5, p. 525-542, 2003b

MAGALHAES, M. S. F. **Avaliação do Efeito do Dersani® e da Água de Coco Liofilizada no modelo cutâneo de cicatrização por segunda intenção em ratos wistar**. 2007. 178 f. Tese (Doutor em cirurgia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; GUIMARÃES, A. C. L. Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 43-46, 2001.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of food composition and analysis**, v. 13, p. 227-232, 2000.

MAJETI, N. V.; KUMAR, R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 26, p. 1-27, 2000.

MARCHESSAULT, R. H.; F. RAVENELLE; X. X. ZHU. **Polysaccharides for drug delivery and pharmaceutical applications**. Washington, DC: ACS, 2006.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; EZQUERRA BRAUER, J. M.; GRACIANO-VERDUGO, A. Z.; RODRIGUEZ-FÉLIX, F.; CASTILLO-ORTEGA, M. M.; YÉPIZ-GÓMEZ, M. S.; PLASCENCIA-JATOMEA, M. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 305–315, 2010.

MARTINO, A.; Immobilization of beta-glucosidase from a comercial preparation. Part 1. A comparative study of natural supports. **Process Biochemistry**, v. 31, p. 281-285, 1996.

MARTINS, C. S.; MORGADO, D. L.; ASSIS, O. B. G. Cashew gum-chitosan blended films: spectral, mechanical and surface wetting evaluations. **Macromolecular Research**, v. 24, n. 8, p. 691-697, 2016.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. Londres: Longman Scientific and Technical, 1991. 725 p.

MASTERS, K. **Spray Drying in Practice**. Charlottenlund: Spray Dry Consult International APS, 2002.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and Chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **J. Chem. Educ.**, v. 67, n. 11, p. 938-942, 1990.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira Botânica**, v. 26, n. 2, p. 231-238, 2003.

MELEGA, J. M.; PSILLAKIS, J. M.; ZANINI, S. A. R. **Cirurgia Plástica reparadora e estética**. 2 ed. São Paulo: Medsi, 1992.

MELLO, J. C.P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS/Ed.UFSC, 2001. cap. 24, p.517-543.

MELO, F. M. A. **Preparação e caracterização de nanocompósitos quitosana/bentonita**. 2010. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.

METCALFE, A.D.; FERGUSON, M.J.W. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. **Journal of the Royal Society Interface**, v.4, n.14, p. 413-437, 2007.

MOIEMEN, N. S.; SHALE, E.; DRYSDALE, K. J.; SMITH, G.; WILSON, Y. T.; PAPINI, R. Acticoat dressings and major burns: systemic silver absorption. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*. Elsevier Ltd and International Society of Burns Injuries, v. 37, n. 1, p. 27-35.

MONTEIRO, F. M. F. **Avaliação do tratamento tópico de lesões cutâneas com filmes obtidos do polissacarídeo da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)**. 2006. 163 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006.

MORAES, F. P. **Polpa desidratada de caju amarelo (*Anacardium occidentale* L.) por atomização em spray dryer: caracterização físico-química, bioativa e estudo da vida de prateleira do produto**. 2014. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

MORGADO, P. I.; MIGUEL, S. P.; CORREIA, I. J.; AGUIAR-RICARDO, A. Ibuprofen loaded PVA/chitosan membranes: a highly efficient strategy towards an improved skin wound healing. *Carbohydrate Polymers*, v. 159, p. 136–145, 2017.

MOURA, M. B. M. **Influência dos parâmetros de secagem por atomização do caju (*Anacardium occidentale* L.) utilizando diferentes concentrações de maltodextrina e goma arábica sobre propriedades físico-químicas**. 2017. 94 f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

MOURA, R. E. **Síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, 2009.

MOURA, S. M. **Estabilidade da acerola em pó oriunda do cultivo orgânico**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2010.

MULLER, J. C. **Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn.** 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MULLER, L. **Incorporação de óleo essencial de cravo em membranas de quitosana e avaliação atividade antimicrobiana e cicatrizante**. 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

MUTSAERS, S. E.; BISHOP, J. E.; MSGROUTHER, G.; LAURENT, G. J. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 29, n. 1, p. 5-17, 1997.

MUZZARELLI, R. A. A. **Natural Chelating Polymers**. Oxford: Pergamon, 1973. 254 p.

MUZZARELLI, R. A. A.; BELMONTE, M. M.; TIETZ, C.; BIAGINI, R.; FERIOLI, G.; BRUNELLI, M. A.; FINI, M.; GIARDINO, R.; ILARI, P.; BIAGINI, G. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. *Biomaterials*, v. 15, p. 1975-1081, 1994.

MUZZARELLI, R. A. A.; WECKX, M.; FILIPPINI, O.; SIGON, F. Removal of trace metal ions from industrial waters, nuclear effluents and drinking water, with the aid of cross-linked Ncarboxymethyl chitosan. *Carbohydr. Polym.*, v. 11, n. 4, p. 293-306, 1989.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, v. 32, p. 762-798, 2007.

NATH, S.; SAPATHY, G. R. A sistematic approach for investigation of spray drying process. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1173-1193, 1998.

NELSON, S. C.; ELEVITCH, C. R. **Noni**: the complete guide for consumers and growers. Holualoa-Hawaii: Permanent Agriculture Resources, 2006.

NERY, A. L. V.; PORTER, K. E.; FREIRE, R. F.; BAPTISTA, N. S.; ESBERARD, F.; SOUZA, T. H. S.; NOGUERA, W.; SILVA, M. A. L. Nova abordagem no tratamento de lesões complexas: uso de matriz de regeneração dérmica. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 10, n. 2, p. 66-70, 2011.

NETO, C. G. T. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 2630-2636, 2005.

NIETO, J. M.; PENICHE-COVAS, C.; PADRÓN, G. Characterization of chitosan by pyrolysis-mass spectrometry, thermal analysis and differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 176, n. 1, p. 63-68, 1991.

NIOLA, F.; BASORA, N.; CHORNET, E.; VIDAL, P. F. A rapid method for the determination of the degree of N-acetylation of chitin-chitosan samples by acid hydrolysis and HPLC. **Carbohydrate Research**, v. 238, n. 1, p. 1-9.

NO, H. K.; MEYERS, S. P. **Preparation of Chitin and Chitosan**. In: Chitin Handbook, MUZZARELLI, R. A A.; PETERS, M. G. (eds.). European Chitin Society, 1997. 475 p.

NÚÑEZ GÓMEZ, D. **Potencial da casca de camarão para remediação de águas contaminadas com drenagem ácida mineral visando seu reuso secundário não potável**. 2014. 151 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

NUNTHANID, J.; PUTTIPIATKHACHON, S.; YAKAMOTO, K.; PECK, G. E. Physical properties and molecular behavior of chitosan films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 143-157, 2001.

NYSKA, A.; SCHIFFENBAUER, Y.S.; BRAMI, C. T.; MARONPOT, R. R.; RAMOT, Y. Histopathology of biodegradable polymers: challenges in interpretation and the use of a novel compact MRI for biocompatibility. **Polym Adv Technol**, v. 24, p. 461-467, 2014.

O'HAGAN, P.; HASAPIDIS, K.; CODER, A.; HELSING, H.; POKRAJAC, G. Particle size analysis of food powders. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**, Boca Raton: Taylor & Francis, p. 215-245, 2005.

OKAMOTO, Y.; SHIBAZAKI, K.; MINAMI, S.; MATSUHASHI, A.; TANIOKA, S.; SHIGEMASA, Y. Evaluation of chitin and chitosan in open wound healing in dogs. **J. Vet. Med. Sci**, v. 57, p. 851-854, 1995.

OLIVEIRA, A. C. M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T. C.; NOGUEIRA, M. N; M; BEDRAN, T. B. L.; ANDRADE, C. R.; SPOLIDORIO, L. C.; SPOLIDORIO, D. M. P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Ver. Bras. PI. Med.**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

OLIVEIRA, A. P. R. **Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo do processo de reticulação**. 2013. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de

São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2013.

OLIVEIRA, L. S. A.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. Biomateriais como aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras. **R Ci Méd Biol**, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2010.

OLIVEIRA, M. A.; FURTADO, R. F.; BASTOS, M. S. R.; BENEVIDES, S. D.; MUNIZ, C. R.; BISWAS, A. CHENG, H. N. Cashew gum and gelatina Blend for food packaging application. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Anais...** Gramado: Sociedade Brasileira de Ciência e tecnologia de Alimentos, 2016.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Editora Cultura Médica, 2005.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n.1, p. 102-107, 2007.

PAGNANO, L. O. **Análise da cicatrização na pele de coelhos após tratamentos de feridas com biomateriais associados à fração de proteína do látex natural da seringueira (*Hevea brasiliensis*)**. 2009. 94 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009.

PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. New York: Saunders College, 1979. 513 p.

PAIVA, M. G. **Utilização do polissacarídeo da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L) em cicatrização cutânea experimental**. 2003. 58 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

PAULA, H. C.; OLIVEIRA, E. F.; ABREU, F. O; PAULA, R. C. Alginate/cashew gum floating bead as a matrix for larvicide release. **Materials Science and Engineering**, v. 32, n. 6, p. 1421-1427, 2012.

PAL, K.; PAL, S. Development of porous hydroxyapatite scaffolds. **Materials and Manufacturing Processes**, v. 21, n. 3, p. 325-328, 2006.

PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitosan and alginate wound dressings: a short review. **Trends in Biomaterials and Artificial Organs**, v. 18, n. 1, p. 18-23, 2004.

PARRA, J. L.; PAYE, M.; EEMCO GROUP. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.**, v. 16, n. 3, p. 188-202, 2003.

PARK, J. B.; LAKES, R. S. **Biomaterials science and engineering**. Nova Iorque: Springer, 2007. 561 p.

PEREIRA, A. P. V.; VASCONCELOS, W. L.; ORÉFICE, R. L. Novos biomateriais: híbridos orgânicos - inorgânicos bioativos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 104-110, 1999.

PERES, F. O. **Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e montmorilonita/quitosana**. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica e

Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2013.

PETINARI, R. A.; TARSITANO, M. A. A. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) commercialization in northwest of São Paulo state. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 697-699, 2002.

PEYREFITTE, G. Biologia da pele. In: PEYREFITE, G.; MARTINI, M.C.; CHIVOT, M. **Cosmetologia, biologia geral e biologia da pele**. São Paulo: Andrei, 1998. Parte 3. p. 329-478.

PIMENTEL, T. A. P. F.; DURÃES, J. A.; DRUMMOND, A. L.; SCHLEMMER, D.; FALCÃO, R.; SALES, M. J. A. Preparation and characterization of blends of recycled polystyrene with cassava starch. **J. Mater. Sci.**, v. 42, n. 17, p. 7530-7536, 2007.

PINHEIRO, A. M.; FERNANDES, A. G.; FAI, A. E. C.; PRADO, G. M.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, G. A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas inteiras: abacaxi, caju e maracujá. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2006.

PINTO, E.; VALE-SILVA, L.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* (*Eugenia caryophyllus*) on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. **J. Med. Microbiol.**, v. 58, p. 1454-1462, 2009.

PINTO, G. P. N. M. **Biofilmes e Feridas Crônicas**. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade Ciências da Saúde – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2016.

PIRES, V. G. A.; MOURA, M. R. Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial. **Quím. Nova**, v. 40, n. 1, p. 1-5, 2017.

PONTES, S. F. O. **Desenvolvimento de nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em filme de metilcelulose para uso em alimentos**. 2013. 112 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

PRESTA, G. A.; SANTOS-FILHO, S. D.; PAOLI, S.; GIANI, T. S.; MAIWORM, A. I.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A. C.; FONSECA, A. S.; BERNARDO-FILHO, M. Effects of *Chrysobalanus icaco* on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the shape of the red blood cells. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 50, p. 145-152, 2007.

QUEIROZ PEGADO, W. R.; OLIVEIRA, J. S.; MAFRA, G. P.; GURGEL, C.E. M. R.; MEDEIROS, M. F. D. Secagem da polpa de acerola em camada de espuma e no spray dryer com adição de adjuvantes. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, Fortaleza, 2016. **Anais...** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2016.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spraydried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, n. 5, p. 386-392, 2007.

RABEA, E. I.; BADAWY, M. E. T.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G. STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules – American Chemical Society**, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

RAMALHO, I. M. M. **Biopolímero da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como potencial excipiente farmacêutico**. 2014. 28 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

- RATNER, B. D. Characterization of biomaterial surfaces. **Cardiovasc. Pathol.**, v. 2, p. 87-100, 1993.
- RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN F. J.; LEMONS, J. E. **An introduction to materials in medicine**. San Diego: Academic Press, 2005.
- RATO, J; HATAKEYAMA, T. Differential scanning calorimetry investigation of phase transitions in water/chitosan systems. **Polymer**, v. 36, n. 15, p. 2915-2919, 1995.
- RAYMOND, L.; MORIN, F. G.; MARCHESSAULT, R. H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. **Carbohydrate Research**, v. 246, n. 1, p. 331-336, 1993.
- REID, J. S. G. Carbohydrate metabolism: structural carbohydrates. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**. Editora: Academic Press, p. 205-236, 1997.
- RIBEIRO, J. L. 2003. **Desempenho produtivo de oito clones de cajueiro-anão precoce cultivados sob regime de sequeiro no cerrado sul maranhense**. Comunicado Técnico 153/ EMBRAPA/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.cpamn.embrapa.br/publicacoes/comunicado/2003/CT153.pdf>>. Acesso em: 10 JAN. 2018.
- ROBERTS, G. A. F. **Chitin chemistry**. London: Mc Millan Press, 1992. 350 p.
- ROBSON, M. C.; STEED, D. L.; FRANZ, M.G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. **Current Problems in surgery**, v. 38, n. 2, p. 72-140, 2001.
- ROCHA, E. M. F. F.; SOUSA, S. L.; COSTA, J. P.; RODRIGUES, S.; AFONSO, M. R. A.; COSTA, J. M. C. Obtenção de suco de caju atomizado através do controle das condições de secagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 6, p. 646-651, 2014.
- ROCHA, E. M. F. F. **Desidratação de polpa de manga e suco de caju integral por atomização e caracterização dos produtos obtidos**. 2013. 145 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2013.
- RODRIGUES, L. S.; SILVA, A. R. A.; MACÊDO, A. A. Noni (*Morinda citrifolia* Linn): determinação fitoquímica e potencial antioxidante pelo método DPPH. **Conex. Ci e Tecnol.**, v. 11, n. 4, p. 47-54, 2017.
- RODRIGUES, L. R. **Secagem por atomização e caracterização química de extratos de folhas de café**. 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2011.
- RODRIGUES, R. A. F. **Preparo, caracterização e avaliação funcional de microcápsulas obtidas por spray drying, contendo extrato de café crioconcentrado**. 2004. 227 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2004.
- RODRIGUÉZ, F. J. M.; PINEDO, D. M. Mito y realidad de *Morinda citrifolia* L. (noni). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 9, n. 3, 2004.
- RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 237p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Área de concentração: Agricultura Tropical – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2008.

SAHOTA, P. S.; BURN, J. L.; BROWN, N. J.; MACNEIL, S. Approaches to improve angiogenesis in tissue-engineered skin. **Wound Repair and Regeneration**, v. 12, n. 6, p. 635-642, 2004.

SANTOS, C. A. N. S. **Propriedades de filmes de quitosano – influência do grau de acetilação e da massa molecular do biopolímero**. Dissertação (Mestrado em Química e Qualidade dos Alimentos) – Universidade de Aveiro, Aveiro, 2006.

SANTOS, E. M. S. **Modificação e caracterização da quitosana para uso como suporte em processos biotecnológicos**. 2009. 171 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campo dos Goytacazes, 2009.

SANTOS FILHO, W. L. G. Características físicas e químicas de caju (*Anacardium occidentale*). **Tecnol. & Ciênc. Agropec.**, v. 10, n. 5, p. 23-28, 2016.

SANTOS, G. G.; MARINHO, S. M. O. C.; MIGUEL, F. B. Polímeros como biomateriais para o tecido cartilaginoso. **Rev Ciênc Méd Biol**, v. 12, n. 3, p. 367-373, 2013.

SANTOS, J. B.; PORTO, S. G.; SUZUKI, L. M.; SOSTIZZO, L. R.; ANTONIAZZI, J. L. ECHER, I. C. (org). **Avaliação e tratamento de feridas: orientações aos profissionais de saúde**. Porto Alegre: Hospital de Clínicas, 2010, 44 p.

SANTOS, J. E. **Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre**. 2004. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SANTOS, L. M. L.; MUNIZ, J. L.; PIRES, A. P. M.; ARAÚJO, R. S. Microencapsulação de ácido ascórbico em pó de acerola verde obtido por spray drying. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, Florianópolis, 2014. **Anais...** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L. Determinação do grau de desacetilação de quitosana obtida de camarão “Saburica” (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877). **Scientia Plena**, v. 7, n. 9, p. 1-3, 2011.

SAWAYA, A. C. H.; PALMA, A. M.; CAETANO, F. M.; MARCUCCI, M. C.; CUNHA, I.B.S.; ARAUJO C. E. P. & SHIMIZU, M.T. Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of Candida. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, 2002.

SCHATZ, C.; VITON, C.; DELAIR, T.; PICHOT, C.; DOMARD, A. Typical physicochemical behaviors of chitosan in aqueous solution. **Biomacromolecules**, v. 4, p. 641-648, 2003.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

SCHILLING, A. F.; LINHART, W.; FILKE, S.; GEBAUER, M.; SCHINKE, T.; RUEGER, J. M.; AMLING, M. Resorbability of bone substitute biomaterials by human osteoclasts. **Biomaterials**, v. 25, p. 3963-3972, 2004.

- SCHLEMMER, D.; SALES, M. J. A. Thermoplastic starch films with vegetable oils of Brazilian Cerrado. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 99, p. 675–679, 2010.
- SCHMID-WENDTNER, M. H.; KORTING, H. C. The pH of the skin and its impact on the barrier functionl. **Skin Pharmacol Physiol.**, v. 19, p. 296-302, 2006.
- SCOTT, W. J. Water relation of food spoilage microorganisms. **Adv. Food Res.**, v.7, p. 83-127, 1957.
- SEAL, B. L.; OTERO, T. C.; PANITCH, A. Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration. **Materials Science & Engineering**, v. 34, p. 147-230, 2001.
- SEHN, E.; HERNANDES, L.; FRANCO, S. L.; GOLÇAVES, C. C. M.; BAESSO, M. L. Dynamics of reepitheliasation and penetration rate of a bee própolis formulation during cutaneous wounds healing. **Analytica Chimica Acta**, v. 635, n. 1, p. 115-120, 2009.
- SENEL, S.; McCCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Review**, v.56, p.1467-80, 2004.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V; JEON, Y. J. Food applications of chtin and chitosans. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 37-51, 1999.
- SHI, C.; ZHU, Y.; RAN, X.; WANG, M.; SU, Y.; CHENG, T. Therapeutic potencial of chitosan and its derivates in regenerative medicine. **Journal of Surgical Research**, v. 133, n. 2, p. 185-192, 2006.
- SHI, G.; CHEN, Y.; WAN, C.; YU, X.; FENG, T.; DING, Y. Study on the preparation of chitosan-alginate complex membrane and the effects on adhesion and activation of endothelial cells. **Applied Surface Science**, v. 255, p. 422-425, 2008.
- SHIGEMASA, Y.; MINAMI, S. Applications of chitin and chitosan for biomaterials. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 13, p. 383-420, 1995.
- SIENKIEWICZ, M. et al. Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. **Int Rev Allergol Clin Immunol**, v. 17, p. 40-44, 2011.
- SILVA, D. A.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. Synthesis and characterization of cashew gum/acrylic acid nanoparticles. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 2, p. 437-441, 2009.
- SILVA E SILVA, A. E.; ALMEIDA, S. S. M. S. Análise fitoquímica das cascas do cajueiro (*Anacardium occidentale* L. – Anacardiaceae). **Estação científica (UNIFAP)**, v. 3, n. 2, p. 81-88, 2013.
- SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Quím. Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.
- SILVA, J. G.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. Em amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.
- SILVA, M. G.; SILVA, S. B.; SILVA, J.; SANTIN, C. K.; SOUZA, D.; FROTA JR, M. Caracterização de filmes à base de quitosana. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Campinas, 2015. **Anais...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2015.

- SILVA, R. A. **Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.:** Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie. 2012. 153 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia, São Luiz, MA, 2012.
- SILVA, R. C. L.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MEIRELES, I. B. **Feridas:** Fundamentos e Atualizações em enfermagem. 2.ed. São Caetano do Sul: Yendis Editora, 2007.
- SILVEIRA, L. M. S.; OLEA, R. S. G.; GONÇALVES, L. H. B.; SANTOS, P. F. Atividade antibacteriana de amostras de fruto do noni (*Morinda citrifolia* L. – *Rubiaceae*) vendidas em feiras livres de São Luís, Maranhão. **Revista Saúde & Ciência**, v. 2, n. 1, p. 31-37, 2011.
- SILVER, F. H.; FREEMAN, J. W.; DEVORE, D. Viscoelastic properties of human skin and processed dermis. **Skin. Res. Technol.**, v. 1, n. 7, p. 18-23, 2001.
- SIMÕES, R. P.; GROppo, F. C.; SARTORATO, A.; DEL FIOl, F. S.; MATTOS FILHO, T. R.; RAMACCIATO, J. C. & RODRIGUES, M. V. N. Efeito do óleo de melaleuca sobre a infecção estafilocócica. **Revista Lecta**, v. 20, n. 2, p. 144-145, 2002.
- SINGLA, A. K.; CHAWLA, M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects na update. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 1047-1067, 2001.
- SIVAGURUNATHAN, P.; SIVASANKARI, S.; MUTHUKKARUPPAN, S. M. Characterisation of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) fruits collected from Ariyalur District. **Journal Bioscience Research**, v. 1, n. 2, p. 101-107, 2010.
- SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia**, v. 8, n. 1, p. 60-67, 1999.
- SORLIER, P.; DENUZIÉRE, A.; VITON, C.; DOMARD, A. Relation between the degree of acetylation and the electrostatic properties of chitin and chitosan. **Biomacromolecules**, v. 2, p. 765-772, 2001.
- SORLIER, P.; VITON, C.; DOMARD, A. Relation between solution properties and degree of acetylation of chitosan: role of aging. **Biomacromolecules**, v.3, p. 1336-1342, 2002.
- SOUZA, R. F. B. **Membranas de quitosana complexada com alginato e xantana:** comportamento na presença de diferentes proporções de água e incorporação de eritromicina. 2014. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2014.
- SUDARSHAN, N. R., HOOVER, D. G., KNORR, D. Antibacterial action of chitosan. **Food Biotechnol**, v. 6, p. 257–272, 1992.
- SUNG, J. H.; HWANG, M-R; KIM, J. O.; LEE, J. H.; KIM, Y. I.; KIM, J. H.; CHANG, S. W.; JIN, S. G.; KIM, J. A.; LYOO, W. S.; HAN, S. S.; KU, S. K.; YONG, C. S.; CHOI, H-G. Gel characterisation and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 392, n. 1–2, p. 232–240, 2010.
- SPERANDIO, F. F. 2009. 138 f. **Avaliação da resposta tecidual em excisões realizadas no dorso de ratos submetida à terapia fotodinâmica com a utilização de corante azul de metileno** Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCATONIO-JÚNIOR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e

odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37, n. 2, p. 155-161, 2008.

SRIAMORNSAK, P.; THIRAWONG, N.; YOSSANUN, W.; NUNTHANIND, J.; SUNGTHONGJEEN, S. Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 211-219, 2007.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Patologia**. São Paulo: Manole, 1996. 72 p.

STRODTBECK, F. Physiology of wound healing. **Newborn and Infant Nursing Reviews**, v. 1, n. 1, p. 43-52, 2001.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N. A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 2, p. 145-171, 2003.

SYSTAGENIX. Ficha técnica do FIBRACOL* PLUS. Disponível em: <<https://cdn.awsli.com.br/397/397589/arquivos/FT-FIBRACOL-PLUS.pdf>>. Acesso em: 10 fev. 2018.

TAN, H., MA, R., LIN, C., LIU, Z., TANG, T. Quaternized chitosan as an antimicrobial agent: antimicrobial activity, mechanism of action and biomedical applications in orthopedics. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 14, p. 1854–1869, 2013.

TAVARIA, F. K.; FERNANDES, J.; SANTOS SILVA, A.; SILVA, S. B.; SARMENTO, B.; PINTADO, M. Biological activities of chitin, chitosan and respective oligomers. New York: Nova Science Publishers, 2011. In: **Focus on chitosan research**, 2011. Cap. 14, p. 1-27.

THARANATHAN R. N.; KITTUR F. S. Chitin – The undisputed biomolecule of great potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 61–87, 2003.

THATTE, M. R. **Synthesis and antibacterial assessment of water-soluble hydrophobic chitosan derivatives bearing quaternary ammonium functionality**. 2004. 107 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Louisiana State University, Louisiana, 2004.

THEIN-HAN, W. W.; KITTYANANT, Y. Chitosan scaffolds for in vitro buffalo embryonic stem-like cell culture: An approach to tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 80, n. 1, p. 92-101, 2007.

THOMAS, C. L. **Dicionário Médico Enciclopédico-Taber**. 17 ed. São Paulo: Manole, 2000, 2279 p.

TOLAIMATE, A.; DESBRIERES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A.; VINCENDON, M.; VOTTERO, P. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. **Polymer**, v. 41, n. 7, p. 2463-2469, 2000.

TOMIDA, H.; FUJII, T.; FURUTANI, N.; MICHIHARA, A.; YASUFUKU, T.; AKASAKI, K.; MARUYAMA, T.; OTAGIRI, M.; GEBICKI, J. M.; ANKARU, M. Antioxidant properties of some different molecular weight chitosans. **Carbohydrate Research**, v. 344, n. 13, p. 1690-1696, 2009.

TONELI, J. T. C. L. **Processos de separação física e secagem de inulina obtida a partir de raízes de chicória (*Cichorium intybus* L.)**. 2006. 177 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n.3, p. 411-418, 2008.

TONON, R. V. **Secagem por atomização do suco de açai: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto**. 2000. 242 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas -SP, 2009.

TÔRRES, A. R. **Determinação da acidez total de vinhos tintos empregando titulações baseadas em imagens digitais**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

TRINCA, R. B.; WESTIN, C. B.; DA SILVA, J. A. F.; MORAES, A. M. Electrospun multilayer chitosan scaffolds as potential wound dressings for skin lesions. **European Polymer Journal**, v. 88, p. 161–170, 2017.

TSAI, H. S.; WANG, Y. Z. Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agents. **Polymer Bulletin**, v. 60, p. 103-113, 2008.

UENO, H.; YAMADA, H.; TANAKA, I.; KABA, N.; MATSUURA, M. OKUMURA, M. KADOSAWA, T.; FUJINAGA, T. Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. **Biomaterials**, v. 20, n. 15, p. 1407-1414, 1999.

UENO, H.; MORI, T.; FUJINAGA, T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 52, p. 105 –115, 2001.

UENO, H.; MURAKAMI, M.; OKUMURA, M.; KADOSAWA, T.; UEDE, T.; FUJINAGA, T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. **Biomaterials**, v. 22, p. 1667-1673, 2001.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. 162 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai, Erechim, 2014.

VANDERLINDE, F. A.; LANDIM, H. F.; COSTA, E. A.; GALDINO, P. M.; MACIEL, M. A. M.; ANJOS, G. C. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. **Braz J Pharmac Sci**, v. 45, n.3, 2009.

VASCONCELOS, M. A. S.; MELO FILHO, A. B. **Técnico em alimentos: conservação de alimentos**. Escola Técnica Aberta do Brasil (e-Tec Brasil). UFRPE/UFRN/CODAI, 2010.

VASCONCELOS, M. S. **Atividades antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante do caju (*Anacardium occidentale* L.)**. 2011. 77f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2011.

VASCONCELOS, R. S.; MIRANDA, F. R.; SOUZA, J. A. Desenvolvimento vegetativo do noni (*Morinda citrifolia* L.) sob diferentes sistemas e lâminas de irrigação. **Rev. Bras. PI. Med.**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 388-397, 2014.

VASQUES, C. T. **Preparação e caracterização de filmes poliméricos a base de amido de milho e polipirrol para aplicação como biomaterial**. 2007. 124 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

VEIGA, I. G. **Uso de xantana em substituição ao alginato em membranas coacervadas de quitosana projetadas para a cicatrização de lesões de pele**. 2009. 111 f. Dissertação

(Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2009.

VINSOVA, J.; VAVRIKOVA, E. Recent advances in drugs and prodrugs design of chitosan. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, p. 1311-1326, 2008.

VON RECUM, A. F.; LABERGE, M. Educational goals for biomaterials science and engineering:perspective view. **J. Appl. Biomater.**, v.6, p.137-144, 1995.

WALDRON, D. R; ZIMMERMAN-POPE, N. Ferimentos cutâneos superficiais. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ed. São Paulo: Manole, 2007, v.1, cap.21, p. 259-327.

WALTER, R. H. **Polysaccharide association structures in food**. New York: Marcel Dekker, 1998.

WANG, M. Y., SU, C. Cancer preventive effect of Morinda citrifolia (Noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 952, p. 161-168, 2001.

WANG, M. Y.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; NOWICKI, D.; CHEN, SU.; PALU, A. K.; ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica.**, v. 23, n. 12, p. 1127– 1141, 2002. Review.

WELTI, J.; VERGARA, F. Atividade de água / Conceito y aplicación em alimentos com alto contenido de humedad. In: AGUILERA, J.M. **Temas em Tecnologia de Alimentos**. Santiago de Chile: Universidad de Santiago de Chile, p.11-26, 1997

WIEGAND, C.; HIPLER, U. Polymer-based Biomaterials as Dressings for Chronic Stagnating Wounds. **Macromolecular Symposia**, v. 294, n. 2, p. 1-13, 2010.

WILLIAMS, K. R.; BLAYNEY, A. W. Tissue response of several polymeric materials implanted in the rat middle ear. **Biomaterials**, v. 8, p. 254-258, 1987.

WOO, M. W.; Controlling food powder deposition in spray dryers: wall surface energy manipulation as na alternative. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 192-198, 2009.

YASSUE-CORDEIRO, P. H.; ZANDONAI, C. H.; SILVA, C. F.; FERNADES-MACHADO, N. R. C. Desenvolvimento e caracterização de filmes compósitos de quitosana e zeólitas com prata. **Polímeros**, v. 25, n. 5, p. 492-502, 2015.

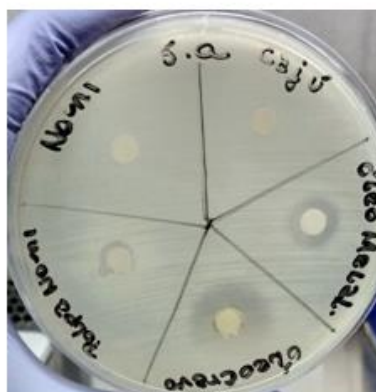
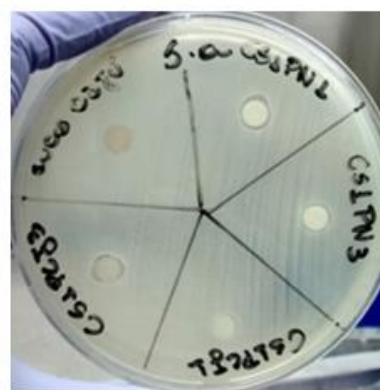
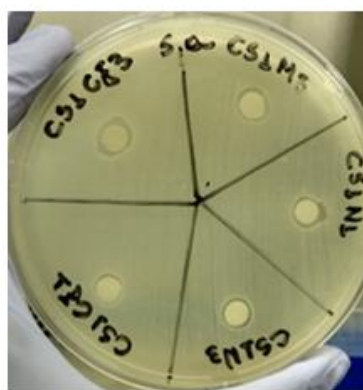
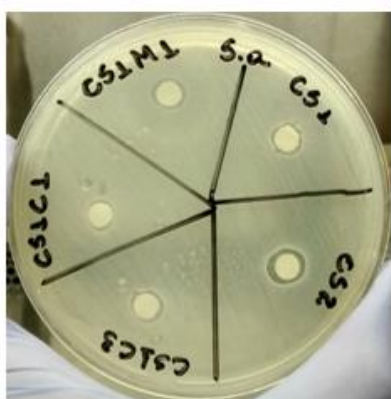
ZHANG, Y.; HUANG, X.; DUAN, B.; WU, L.; LI, S.; YUAN, X. Preparation of electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) membranes. **Colloid Polym. Sci.**, v. 285, p. 855-863, 2007.

ZHENG, Z.; WEI, Y.; WANG, G.; WANG, A.; AO, Q; GONG, Y.; ZHANG, X. Surface properties of chitosan films modified with polycations and their effects on the behavior of PC12 cells. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 24, p. 63-82, 2009.

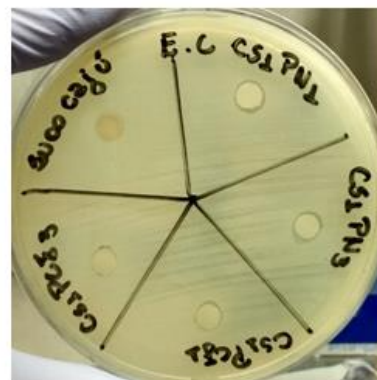
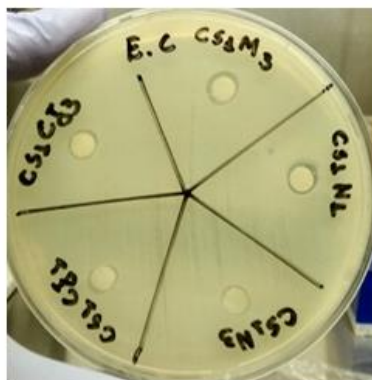
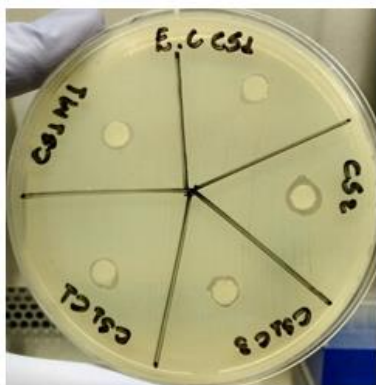
ANEXO 1

Imagens dos halos de inibição observados para os bioativos naturais: óleo de cravo, óleo de melaleuca, suco e pó de caju, polpa e pó de noni e para asemulsões poliméricas CS1, CS1C1, CS1C3, CS1M1, CS1M3, CS1SCJ1, CS1CJ3, CS1PCJ1, CS1PCJ3, CS1N1, CS1N3, CS1PN1 e CS1PN3 frente às cepas:

❖ *Staphylococcus aureus*



❖ *Echerichia coli*



❖ *Candida albicans*

