

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

NICOLY DONATI

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE GELATINA E CLINOPTILOLITA-AG
PARA POTENCIAL USO COMO CURATIVOS**

Porto Alegre - RS

2018

NICOLY DONATI

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE GELATINA E CLINOPTILOLITA-AG
PARA POTENCIAL USO COMO CURATIVOS**

Relatório final, apresentado a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadores: Prof^a. Dr^a Isabel Cristina Tessaro

MSc. Patricia Hubner

Co-orientador: Prof. Dr. Nilson Romeu Marcílio

Porto Alegre - RS

2018

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Loreni e Danilo e meus irmãos, Maurício e Danielle, eu dedico essa conquista, pois representam tudo o que eu sou hoje. Agradeço por fazerem de mim uma pessoa melhor, por me apoiarem em todas as minhas escolhas, por acreditarem em mim e me amarem incondicionalmente.

À minha prima, Júlia, por ser a melhor colega de apartamento, por me ajudar de todas as maneiras possíveis e me acompanhar diariamente nesse final do curso, aliviando minhas angustias com toda sua simpatia.

Aos meus amigos, por todo apoio e carinho ao longo dos anos, por toda cerveja no Mister X compartilhada nos momentos necessários e, mais do que tudo, por serem meu porto seguro e minha segunda família.

Às minhas orientadoras, Isabel e Patrícia, por toda ajuda e incentivo ao longo desse trabalho, por me manterem motivada mesmo quando eu quis desistir, por me ajudarem a crescer não apenas como pesquisadora, mas como ser humano e, o mais importante, agradeço pela amizade que esse trabalho juntas nos trouxe.

Ao meu co-orientador, Nilson, por todo apoio ao longo do projeto, por nunca me deixar sem bolsa de iniciação científica e por ser uma das melhores pessoas que eu já conheci.

Aos colegas do LPR, LASEM e LATEM, pelo suporte e ajuda tanto no trabalho aqui descrito quanto ao longo de bolsas de IC e estágio e por nunca deixarem que faltasse café no laboratório.

Ao CNPq, CAPES e FAPERGS pelo apoio financeiro.

RESUMO

Os compostos de prata são utilizados desde a antiguidade em tratamentos para lesões dérmicas, como queimaduras, visto que a prata apresenta boas propriedades para proteger essas lesões de infecções microbianas. Porém, nesses compostos, há pouco ou nenhum controle da quantidade de prata liberada. Para que essa liberação ocorra de maneira controlada e constante, os íons prata podem ser incorporados a estruturas porosas, como zeólitas, e, estas, serem dispostas em matrizes poliméricas, como a gelatina, para utilização como curativos. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de filmes de gelatina e zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata visando o potencial uso como curativos para lesões dérmicas. A zeólita foi impregnada com íons prata pelo método de troca iônica, com variações no tempo e na massa de zeólita. Os filmes foram desenvolvidos com 10 % (m/v) de gelatina, 25 % (v/v) de glicerol e 0,5 % de zeólita clinoptilolita-Ag. O comportamento da dispersão da zeólita no filme foi analisado em relação à adição de novos componentes ao filme e a alterações na metodologia de formação de filmes. Os filmes de gelatina foram caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), fluxo de permeação de vapor de água (FPVA), capacidade de absorção de água (CAA) e composição química através da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. Também foi realizada uma avaliação da cinética de liberação dos íons prata. Os resultados da impregnação mostraram que a quantidade de prata adsorvida por grama de zeólita é maior quando a massa de zeólita é menor. Quanto à dispersão da zeólita, o peneiramento das partículas de zeólita foi favorável à homogeneidade da dispersão. As análises das propriedades mecânicas resultaram em valores de tensão de ruptura de 0,23 MPa, alongação de 90 % e módulo de Young de 0,26 MPa. O valor de PVA obtido foi de $0,39 \text{ g m h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$, o de FPVA foi de $143 \text{ g h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, e obteve-se uma CAA de 105 % após 60 min de análise. Apesar de os valores obtidos para a alongação máxima e a CAA estarem abaixo do esperado, eles foram considerados aceitáveis para curativos. A análise de FTIR mostrou que a estrutura da zeólita não foi modificada pela impregnação com prata. E os resultados obtidos para a liberação dos íons prata mostraram que os íons foram liberados ao longo do tempo de análise. Portanto, foi possível concluir que os filmes produzidos apresentam grande potencial para uso no desenvolvimento de curativos com liberação controlada do agente antimicrobiano.

Palavras-chave: curativos, filmes de gelatina, zeólita clinoptilolita, íons prata.

ABSTRACT

The silver compounds have been used since ancient times in wound treatment, such as burns, since silver has great properties to protect wounds from microbial infections. However, in these compounds, there is little or none control of silver release. In order to make this release controlled and constant, silver ions may be incorporated into porous structures, such as zeolites, and these ones may be arranged in a polymer matrix, such as gelatin, for use as a dressing. Thus, this work has as objective the development of gelatin-based films with clinoptilolite zeolite impregnated with silver ions aiming the potential use as wound dressing. The zeolite was impregnated with silver ions by ion-exchange method, varying time and zeolite mass. The films were developed with 10 % (w/v) gelatin, 25 % (v/v) glycerol and 0.5 % (w/v) Ag-clinoptilolite zeolite. The zeolite dispersion behavior in the film was analyzed to the incorporation of new film components and variations on film formation methodology. The gelatin-based film was characterized as to its mechanical properties, water vapor permeation (WVP), water vapor permeation flux (WVPF), water absorption capability (WAC) and chemical composition by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). An evaluation of release kinetics of silver ions was also carried out. The impregnation results showed that the amount of silver adsorbed per gram of zeolite is higher when the zeolite mass is lower. Regarding to zeolite dispersion, the sieving of zeolite particles was favorable to the dispersion homogeneity. The mechanical properties analysis resulted in values of tensile strength of 0.23 MPa, elongation of 90 % and Young's modulus of 0.26 MPa. The value obtained for WVP was $0.39 \text{ g m h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ Pa}^{-1}$, for WVPF was $143 \text{ g h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, and, the WAC obtained was 105 % after 60 minutes of analysis. Besides the values of maximum elongation and WAC obtained were below the expected, they can be considered acceptable for dressings. The FTIR analysis showed that the zeolite structure was not modified by silver impregnation. And, finally, the results for silver release revealed that the ions were released over the analysis time. Therefore, it was possible to conclude that the produced films present great potential to be used on development of dressings with antimicrobial agent controlled release.

Keywords: dressing, gelatin-based films, clinoptilolite zeolite, silver ions.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. CURATIVOS PARA LESÕES DÉRMICAS.....	12
2.2. CURATIVOS A PARTIR DE BIOPOLÍMEROS	15
2.2.1. Gelatina	15
2.2.2. Filmes de gelatina	16
2.3. ADITIVOS EM FILMES DE GELATINA.....	17
2.3.1. Plastificantes	17
2.3.2. Agentes antimicrobianos.....	18
2.4. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	19
2.4.1. Zeólitas	20
2.4.2. Zeólitas modificadas.....	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. MATERIAIS	23
3.2. CARACTERIZAÇÃO DA ZEÓLITA	23
3.3. IMPREGNAÇÃO DA ZEÓLITA	24
3.4. FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITA.....	24
3.5. HOMOGENEIZAÇÃO DA DISPERSÃO DA ZEÓLITA	25
3.5.1. Adição de gomas estabilizantes nos filmes de gelatina (filmes 1 a 4) .	
.....	25
3.5.2. Utilização de Ultra Turrax® (filme 5).....	27
3.5.3. Utilização de ultrassom (filme 6)	28
3.5.4. Peneiramento da zeólita (filme 7).....	28
3.5.5. Alteração da temperatura de trabalho (filmes 8).....	28
3.5.6. Alteração da ordem de adição dos componentes da mistura (filmes	
9)	29
3.6. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	29
3.6.1. Propriedades mecânicas	29

3.6.2. Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água	30
3.6.3. Capacidade de absorção de água	30
3.6.4. Microscopia óptica	31
3.6.5. Caracterização química por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier - FTIR	31
3.7. LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ÍONS PRATA.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. CARACTERIZAÇÃO DA ZEÓLITA	33
4.2. IMPREGNAÇÃO DA ZEÓLITA	34
4.3. FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITA.....	35
4.4. HOMOGENEIZAÇÃO DA DISPERSÃO DA ZEÓLITA	36
4.4.1. Adição de gomas estabilizantes nos filmes de gelatina (filmes 1 a 4)	36
4.4.2. Utilização de Ultra Turrax® (filme 5).....	38
4.4.3. Utilização de ultrassom (filme 6)	38
4.4.4. Peneiramento da zeólita (filme 7).....	38
4.4.5. Alteração da temperatura de moldagem (filmes 8)	39
4.4.6. Alteração da ordem de adição dos componentes (filmes 9).....	39
4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	40
4.5.1. Propriedades mecânicas	41
4.5.1. Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água	41
4.5.2. Capacidade de absorção de água (CAA)	42
4.5.3. FTIR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.....	43
4.6. LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ÍONS PRATA.....	44
5. CONCLUSÕES.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas químicas de (A) aminoácidos mais importantes (glicina, prolina e hidroxiprolina) e (B) gelatina (THAKUR, 2013).	16
Figura 2. Comparação entre sistema de liberação convencional e controlada (PEREIRA, 2017).	20
Figura 3. (A) Representação de arranjos tetraédricos de Si e de Al interligados por um átomo de oxigênio. (B) Representação bidimensional da estrutura da zeólita. Me ⁺ são cátions externos (Flanigen et al., 1971).	21
Figura 4. Processo de produção de filmes de gelatina, glicerol e zeólita	25
Figura 5. Processo de produção dos filmes 1 e 2	26
Figura 6. Processo de preparação filme 3	27
Figura 7. Processo de preparação do filme 4	27
Figura 8. Processo de preparação do filme 5	28
Figura 9. Processo de preparação do filme 7	28
Figura 10. Processo de preparação do filme 9-a	29
Figura 11. Espectro de Infravermelho por transformada de Fourier da zeólita clinoptilolita e zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata.	33
Figura 12. Concentração de íons prata remanescente na solução após impregnação em função do tempo para diferentes massas de zeólita	35
Figura 13. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes da superfície de filme de gelatina, glicerol e zeólita. Aglomerados de zeólita estão circulos de vermelho e as partículas insolúveis de gelatina estão indicadas com setas pretas.	36
Figura 14. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 1.	36
Figura 15. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 2.	37
Figura 16. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 3. Aglomerado de gelatina circulado de azul.	37
Figura 17. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 4.	37

Figura 18. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 6.	38
Figura 19. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 7.	38
Figura 20. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 8-a, emplacado a 50 °C.	39
Figura 21. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 8-b, emplacado a 40 °C.	39
Figura 22. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 8-c, emplacado a 30 °C.	39
Figura 23. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 9-a, no qual a zeólita foi adicionada à solução formadora de filme no início do processo.	40
Figura 24. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 9-d, no qual a zeólita foi adicionada à solução formadora de filme no final do processo.	40
Figura 25. Espectros de infravermelho por transformada de Fourier do filme desenvolvido, do glicerol puro e da gelatina pura.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fórmulas químicas das principais zeólitas naturais (LUZ, 1995).....	21
Tabela 2. Concentração iônica do plasma sanguíneo humano (NEZAFATI, 2012).....	32
Tabela 3. Concentração de Ag^+ remanescente na solução, quantidade de Ag^+ adsorvida e percentual de Ag^+ adsorvido na zeólita, utilizando diferentes massas de zeólita e tempos de contato.	34
Tabela 4. Propriedades mecânicas médias dos filmes produzidos.....	41
Tabela 5. Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e fluxo de permeação de vapor de água (FPVA) médios dos filmes produzidos.....	41
Tabela 6. Capacidade de absorção de água (CAA) média dos filmes produzidos, na temperatura de 25 °C e nos tempos de contato de 1, 15, 30, 45 e 60 minutos.	42
Tabela 7. Concentração de íons prata em solução simulante de exsudato após 1, 12 e 24 h em contato com filme de gelatina. SD = desvio padrão; SDR = desvio padrão relativo.	44

1. INTRODUÇÃO

O uso de compostos de prata para o tratamento de lesões dérmicas vem sendo notório ao longo da história da humanidade. A baixa toxicidade, o baixo risco de danos duráveis e a eficácia da prata contra diversas espécies de micro-organismos é o que torna seu uso tão interessante.

No tratamento de ferimentos com compostos de prata podem ser utilizadas soluções de nitrato de prata para assepsia, pomadas de sulfadiazina de prata para tratamento tópico de queimaduras e, também, curativos contendo prata na forma de nanopartículas, iônica ou metálica. Porém, esses produtos possuem pouco ou nenhum controle da quantidade de prata que é liberada no leito da ferida, podendo causar problemas nos pacientes. A exposição excessiva pode ocasionar manchas escuras na pele, absorção e deposição da prata em órgãos internos ou, em casos extremos, argirose, que é a descoloração irreversível da pele.

Sendo assim, é fundamental que exista um controle na liberação da prata sobre a pele do paciente para evitar desconfortos durante o processo de cicatrização. Esse controle pode ser feito pela incorporação da prata em matrizes poliméricas e/ou em estruturas porosas. Dentre esses se destacam as zeólitas e os filmes de biopolímeros biodegradáveis, como a gelatina. O potencial das zeólitas nesse tipo de aplicação ocorre devido a sua capacidade de troca iônica e as suas propriedades de alta porosidade, elevada área superficial e estabilidade térmica e química.

Os curativos desenvolvidos a partir de filmes de gelatina adicionados de zeólitas impregnadas com íons prata possuem grande potencial no tratamento de lesões dérmicas. O filme de gelatina funciona como uma cobertura para a ferida, protegendo contra choques e absorvendo excesso de exsudatos. Já a zeólita adicionada ao filme auxilia no controle da liberação do agente antimicrobiano, garantindo a proteção do leito da ferida contra infecções microbianas.

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo principal unir as funcionalidades dos filmes de gelatina com as partículas de zeólita para, assim, desenvolver filmes de gelatina e zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata com potencial para uso como curativos.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- estudar a influência da massa de zeólita e do tempo de contato utilizados na etapa de impregnação;
- avaliar metodologias para tornar os filmes mais homogêneos (adição de agentes estabilizantes e diferentes formas de dispersão da zeólita na matriz polimérica);
- produzir filmes à base de gelatina e glicerol adicionados de zeólita e caracterizá-los quanto às propriedades químicas, físicas e mecânicas;
- avaliar a liberação de prata nos filmes produzidos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na revisão bibliográfica são apresentadas informações da literatura sobre o que já foi pesquisado a respeito de curativos para lesões dérmicas, biopolímeros, filmes de gelatina, plastificantes naturais, agentes antimicrobianos e zeólitas como plataformas de adsorção de íons prata, para que o entendimento do trabalho não necessite de materiais adicionais.

2.1. CURATIVOS PARA LESÕES DÉRMICAS

Ao longo da história da humanidade as técnicas para o tratamento de lesões dérmicas sofreram alterações expressivas. Durante certo período, acreditou-se que o melhor tratamento consistia em cobrir o ferimento com um material que proporcionasse o dessecamento da ferida (MIR et al., 2018; MANDELBAUM et al., 2003). Porém, na década de 60, Winter e Roove (1962) demonstraram que a taxa de epitelização era 50 % mais rápida em uma atmosfera úmida em comparação a uma seca. A vantagem da atmosfera úmida está no fato dela evitar problemas de desidratação do tecido, que podem causar a morte celular, e proporcionar uma redução da dor, já que o meio úmido fornece proteção contra o ressecamento e a exposição das terminações nervosas (BLANES, 2004). Essa constatação ocasionou uma revolução no tratamento de feridas e foi a responsável pelo crescimento do interesse no desenvolvimento, produção e comercialização de curativos para o tratamento de lesões dérmicas (MANDELBAUM et al., 2003).

O melhor tratamento para feridas é aquele em que se obtém a cura no menor tempo possível, com um mínimo de dor e de desconforto do paciente, evitando o surgimento de cicatrizes (BLANES, 2004). Contudo, para que seja possível determinar a metodologia desse tratamento ideal, é necessário conhecer o que é uma ferida e quais os fatores que influenciam no seu processo de cicatrização.

Uma ferida pode ser descrita como um dano ou interrupção da funcionalidade ou estrutura anatômica normal, ocasionado por algum tipo de trauma físico, químico, mecânico ou por alguma enfermidade clínica (VELNAR; BAILEY; SMROLJ, 2009).

O corpo humano inicia, automaticamente, um processo natural de cicatrização da ferida no instante em que ela ocorre. Essa cicatrização é constituída por uma série de eventos coordenados que incluem sangramento, coagulação, resposta inflamatória aguda, regeneração de tecidos conectivos, epitelização, contração da ferida e remodelagem (BLANES, 2004). Por mais que esse processo ocorra de modo contínuo, ele pode levar anos para se completar, prejudicando a qualidade de vida do paciente. Portanto, é interessante conhecer os fatores que influenciam no tempo de cura de uma ferida para aprimorar a reparação dos tecidos lesionados.

Os principais fatores que interferem no tempo que uma ferida leva para total cicatrização são: a saúde do paciente, a localização anatômica da ferida, a presença de oxigênio, infecções e tecidos mortos, no leito da ferida. Sendo assim, para acelerar o processo de cicatrização de feridas, as interferências ao processo natural de cicatrização devem se concentrar em remover os tecidos necróticos e corpos estranhos, identificar e eliminar processos infecciosos, manter a umidade e a oxigenação adequada do leito da ferida e proteger a ferida contra traumas e invasões de micro-organismos patogênicos (BLANES, 2004; MANDELBAUM et al., 2003; MIR et al., 2018).

No mercado, os produtos existentes para o tratamento de feridas podem ser divididos entre agentes tópicos e curativos. Os agentes tópicos são compostos colocados diretamente sobre o leito da ferida, que objetivam a limpeza e a proteção da área lesionada (MANDELBAUM et al., 2003). Curativos, também chamados por alguns autores de coberturas, são dispositivos que cobrem o ferimento, com o objetivo de proteger contra agressões externas e de contribuir com o processo de reepitelização, mantendo o ambiente estéril, úmido e preservando a integridade da região periférica (MANDELBAUM et al., 2003).

Os curativos tradicionais são constituídos de algodão e folhas de gazes, porém essa formulação não evita o crescimento microbiano sobre o ferimento e não absorve os exsudatos da ferida de modo eficiente. Curativos de gaze prejudicam a cicatrização, pois lesionam a pele recém-formada quando são retirados para troca e, também, provocam rápida desidratação do meio da lesão. O principal motivo da popularização desse tipo de curativo é o baixo custo (YUDANOVA e RESHETOV, 2006). Entretanto, na literatura, encontram-se outros tipos de curativos, com melhores características em relação aos curativos tradicionais, tais como filmes de poliuretano, espumas, hidrocoloides, hidrogéis, coberturas de carvão ativado, curativos de alginato, dentre outros (BLANES, 2004).

Por exemplo, os filmes do tipo hidrocoloides são coberturas compostas, normalmente, por uma camada externa permeável ao vapor de água e uma camada interna que pode ser feita de partículas de ágar, alginato, carboximetilcelulose, carragenina, gelatina e/ou pectina. Os hidrocoloides interagem com os exsudatos da ferida formando um gel, que mantém a superfície da ferida úmida e absorve os exsudatos liberados por ela. O meio úmido proporcionado pelo gel nesse tipo de curativo ajuda a manter um nível adequado de umidade e reduz a sensação de dor ao manter as terminações nervosas úmidas. Essa classe de curativo é indicada para qualquer tipo de lesão dérmica, até mesmo em feridas altamente infectadas. Na formulação dos hidrocoloides, podem ser adicionados agentes antimicrobianos, como a prata, conferindo características antimicrobianas ao curativo (DOWSETT, 2004; BLANES, 2004; MIR et al., 2018).

Nesse contexto, novos curativos vêm sendo desenvolvidos com materiais tecnológicos, visando reduzir o tempo de cicatrização, aumentar o

conforto do paciente. Esses curativos modernos são produzidos com as características e funcionalidades desejadas, tais como: boa cobertura da superfície afetada, ambiente úmido da ferida, baixa aderência, proteção contra traumas, manutenção simples, absorção do excesso de exsudatos e de sangue, proteção contra infecções microbianas e trocas gasosas adequadas (YUDANOVA e RESHETOV, 2006).

Apesar do avanço nas pesquisas ter desvendado muito sobre cicatrização e desenvolvimento de curativos para lesões dérmicas, essa é uma área de pesquisa que continua em expansão. Os pesquisadores estão sempre em busca de tecnologias e materiais novos que sejam mais simples e baratos e, conseqüentemente, acessíveis a um número maior de pessoas.

Os curativos para feridas podem ser classificados de forma geral e abrangente como passivos, interativos ou ativos, com base na sua natureza de ação. Os curativos tradicionais são produtos passivos utilizados para absorção de exsudato das feridas e recobrimento da ferida, não auxiliando no seu processo de cicatrização. Os curativos interativos, que compreendem, sobretudo, os filmes poliméricos, funcionam como barreira contra microorganismos e, ao mesmo tempo, são permeáveis ao oxigênio e ao vapor de água. E os curativos ativos liberam substâncias ativas, como antibióticos, anti-inflamatórios, agentes antimicrobianos no leito da ferida, podendo auxiliar no processo de cicatrização do ferimento (PAUL; SHARMA, 2004; ROMANO et al., 2015).

Desta forma, a indústria farmacêutica utiliza materiais ativos no desenvolvimento de curativos que, além de servirem como coberturas para os ferimentos, interagem com a ferida de modo a intervir no seu processo natural de cicatrização. O uso de curativos ativos traz diversas vantagens em relação aos curativos tradicionais, pois podem evitar a proliferação de microorganismos no leito da ferida. O surgimento de infecções microbianas sobre o ferimento é um dos grandes fatores impeditivos da cicatrização efetiva de lesões cutâneas. Essas infecções podem aumentar a destruição de tecidos, retardar a cura e aumentar a formação de tecido cicatricial, podendo comprometer tanto a função quanto a estética do tecido (ARMBRUSTER, 2001; CHOI et al., 2008).

Além do interesse em curativos que participem ativamente do processo de cicatrização da ferida, também existe um grande interesse no desenvolvimento de novos materiais que, além de apresentarem um bom desempenho na função de curativo, também possuam alta biodegradabilidade, sendo assim, menos danosos ao meio ambiente (YUDANOVA e RESHETOV, 2006).

2.2. CURATIVOS A PARTIR DE BIOPOLÍMEROS

Os biomateriais podem ser definidos como qualquer substância ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que pode ser usada como o todo ou parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo (ARAMWIT, 2016).

O interesse no uso de biopolímeros no desenvolvimento de biomateriais, tais como os curativos, é expressivo, já que estes apresentam biocompatibilidade e biodegradabilidade. Ou seja, são materiais que apresentam características adequadas ao tratamento de feridas e são ecologicamente sustentáveis (BLANES, 2004; YUDANOVA e RESHETOV, 2006).

Os biopolímeros naturais são aqueles derivados de fontes naturais como animais, plantas ou micro-organismos. Sua aplicação é bastante interessante, pois apresentam estruturas semelhantes às do corpo humano. Dentro da classe dos biopolímeros naturais, os que são mais frequentemente utilizados no desenvolvimento de curativos são aqueles à base de colágeno e de derivados de colágeno como a gelatina (ARAMWIT, 2016).

2.2.1. Gelatina

A gelatina é um biopolímero obtido a partir da hidrólise do colágeno. Este é uma proteína animal proveniente de partes como pele, ossos e cartilagens de suínos, bovinos e ictíaco. A gelatina foi um dos primeiros materiais a ser utilizado na formulação de biomateriais e, ainda hoje, seu uso é de grande interesse, pois é um material produzido em praticamente todo o mundo e tem custo relativamente baixo. Além disso, apresenta boa biocompatibilidade e biodegradabilidade, fazendo com que seu uso seja conveniente em diversas aplicações, como na produção de alimentos, no desenvolvimento de embalagens e de curativos, ou, até mesmo, na medicina, como esponja absorvente para hemóstase (ARAMWIT, 2016; THOMAZINE et al., 2006; LIU et al., 2015).

A gelatina é extraída, principalmente, do colágeno de tipo I, que possui uma estrutura tripla hélice. Essa proteína é uma mistura heterogênea de peptídeos composta, basicamente, por três aminoácidos (glicina, prolina e hidroxiprolina; Figura 1A) e tem estrutura similar com o tropocolágeno (Figura 1B). Gelatinas com alto teor de prolina e hidroxiprolina resultam em géis mais fortes com temperaturas de gelatinização maiores (THAKUR, 2013).

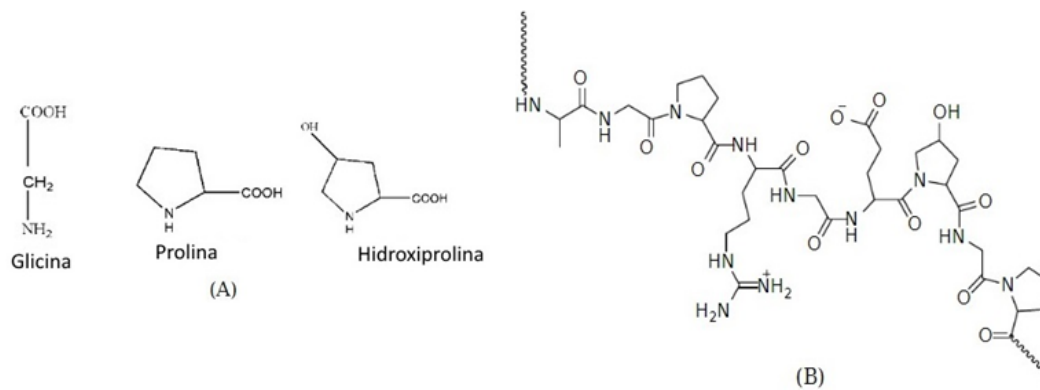


Figura 1. Estruturas químicas de (A) aminoácidos mais importantes (glicina, prolina e hidroxi prolina) e (B) gelatina (THAKUR, 2013).

A utilização de gelatina na fabricação de curativos é bastante pesquisada, pois esse material apresenta vantagens como disponibilidade, baixo custo e capacidade de formar filmes. Além disso, biopolímeros como a gelatina podem ser utilizados como matriz polimérica para carregar componentes bioativos e proteger o ferimento e absorver excesso de exsudato (HANANI, 2016; THAKUR, 2013).

2.2.2. Filmes de gelatina

Filmes de gelatina são estáveis, apresentam boa durabilidade e reprodutibilidade, alta permeabilidade a água, são de fácil manuseio e agem como uma barreira contra bactérias, por isso, seu uso no desenvolvimento de curativos é bastante atrativo (QUINN et al., 1985).

A formação de filmes de gelatina é baseada na dissolução da gelatina em água aquecida, seguida pela disposição da mistura em placas ou bandejas e, por fim, a secagem para formação dos filmes. Muitos estudos investigaram as propriedades mecânicas, de barreira e de afinidade pela água desses filmes desenvolvidos apenas com gelatina e de combinações de gelatina com agentes plastificantes. As propriedades mais importantes observadas nos filmes são absorção e perda de água em função do tempo, propriedades mecânicas, como a resistência e a relação da resistência com a elevação da temperatura e propriedades de barreira quanto ao vapor de água, oxigênio e outros gases (SHUBHRA, 2013; ARAMWIT, 2016; HASSAN e NORZIAH, 2012; LIU et al., 2015; MIR et al., 2018).

O uso de plastificantes hidrofílicos combinados com gelatina melhora a flexibilidade e torna os filmes menos quebradiços. As propriedades térmicas e mecânicas dos filmes podem ser aprimoradas com o uso da reticulação química com aldeídos, como formaldeídos e glutaraldeídos, porém o uso desses compostos não é indicado por serem considerados tóxicos. (LIU et al., 2015).

Sendo assim, a melhor estratégia para obter filmes com a resistência desejada é modificar a natureza hidrofílica da gelatina utilizando plastificantes ou reticulação química. Além disso, existem processos como a laminação e a formação de filmes multicamadas, que também podem promover um aumento da resistência mecânica (LIU et al., 2015).

2.3. ADITIVOS EM FILMES DE GELATINA

A adição de compostos nos filmes de gelatina tem como objetivo melhorar as propriedades dos filmes de acordo com a aplicação desejada. Os compostos mais utilizados são plastificantes e agentes antimicrobianos.

2.3.1. Plastificantes

Plastificantes são definidos, pela IUPAC, como substâncias incorporadas a outro material (normalmente um plástico ou elastômero) para aumentar sua flexibilidade, processabilidade ou capacidade de alongamento. A interação do plastificante com o material modifica suas propriedades através da redução das interações intermoleculares entre as cadeias adjacentes. A diminuição da força dessas interações provoca um aumento da mobilidade das cadeias, o que, por consequência, reduz a tensão de deformação, a dureza, a densidade, a viscosidade, a fragilidade e aumenta a flexibilidade dos filmes. (BERGO e SOBRAL, 2007; SOBRAL et al., 2005; VIEIRA et al., 2011)

A demanda por plastificantes cresceu juntamente com a expansão da indústria de plásticos. De forma análoga, a preocupação ambiental e a busca por alternativas sustentáveis impactaram tanto na indústria de plásticos quanto na de plastificantes. Hoje, existe um grande interesse por compostos que sejam biodegradáveis, derivem de fontes renováveis e tenham baixa toxicidade (VIEIRA et al., 2011).

Glicerol e sorbitol são os plastificantes naturais mais utilizados na produção de filmes de gelatina (THOMAZINE, 2006). Ambos apresentam boas propriedades plastificantes, mas, segundo o trabalho realizado por Vanin et al. (2005), o glicerol é mais compatível com a gelatina e apresenta maior efeito plastificante nas propriedades mecânicas do filme quando comparado com o sorbitol.

O glicerol (1,2,3-propanotriol) é um líquido incolor, inodoro e viscoso derivado tanto de fontes naturais quanto de petroquímicos. É completamente solúvel em água e álcoois, parcialmente solúvel na maioria dos solventes comuns como éter e dioxano, mas é insolúvel em hidrocarbonetos (PAGLIARO e ROSSI, 2008).

A produção de glicerol aumentou consideravelmente nos últimos anos com o incentivo à produção de biodiesel, já que esse é um subproduto da

produção do biocombustível. A cada 100 kg de biodiesel processados, são produzidos 10 kg de glicerol. A falta de demanda para todo esse glicerol produzido, gerou um excesso do produto no mercado e, conseqüentemente, uma queda brusca no seu valor de venda. Por isso, existe um grande incentivo a pesquisas que busquem novas aplicações para o glicerol para evitar um problema ambiental que pode vir a acontecer pelo descarte inadequado dos estoques desse produto (LEONETI et al., 2012; PAGLIARO e ROSSI, 2008).

2.3.2. Agentes antimicrobianos

Agentes antimicrobianos são substâncias que inibem o crescimento de micro-organismos e impedem o surgimento de infecções. Existem diversos tipos de compostos que apresentam essa característica, tais como, etanol, dióxido de carbono, dióxido de cloro, antibióticos, íons metálicos (Ag^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$, Cd^{2+} , Pd^{2+}), ácidos orgânicos e óleos essenciais, entre outros (COPCIA, 2011; PRASAD et al., 2014).

Dentre os íons metálicos, os íons prata são os que possuem maior atividade antimicrobiana. Eles funcionam como biocidas em longo prazo, apresentam baixa toxicidade para células eucarióticas e baixa frequência de desenvolvimento de resistência (FERNANDEZ, 2010; COPCIA, 2011; CENCETTI et al., 2012). A prata inibe as atividades microbianas através da sua absorção pela parede celular, causando uma desativação nas enzimas celulares, perturbação na permeabilidade da membrana e, por fim, lise e morte celular (CHOI et al., 2008; MOSER, 2013; EGGER et al., 2009).

A eficácia da prata na inibição de infecções de uma grande variedade de bactérias, vírus e fungos faz com que o interesse no uso de compostos de prata para o tratamento de feridas mantenha-se constante ao longo dos anos (DOWSETT, 2004; BARILLO, et al., 2014; RODGERS, 1997). Os primeiros relatos do uso desses compostos datam de civilizações antigas que colocavam moedas de prata em jarras para conservação de líquidos e utilizavam soluções de nitrato de prata e folhas de prata no tratamento de feridas (BARILLO et al., 2014).

O tratamento de lesões dérmicas utilizando compostos de prata continua aumentando e com isso, surge a preocupação do desenvolvimento de resistência à prata por parte dos micro-organismos. Porém, diferentemente do que aconteceu com os antibióticos, a resistência a biocidas como a prata é rara e esporádica (RAI, 2009). Os biocidas conseguem atingir múltiplos locais das células bacterianas de maneira rápida e eficiente e possuem um amplo espectro de atividade (CHOPRA, 2007; PERCIVAL, 2005; RAI, 2009). Também é importante destacar que compostos de prata já eram utilizados desde a antiguidade e não há registros evidentes do desenvolvimento de resistência, diferente da resistência a antibióticos que surgiu em torno de 60 anos de uso desses compostos.

A medicina evoluiu e novas formas de utilizar a prata na prevenção de infecções microbianas surgiram. No tratamento de queimaduras, por exemplo, é comum a utilização de pomadas de sulfadiazina de prata para uso tópico, que são bastante eficientes na prevenção de infecções bacterianas sobre o leito da ferida. No entanto, seu uso pode provocar desconforto nos pacientes, como: manchas na pele, absorção da prata pelo sistema circulatório, necessidade de raspagem e de frequente reaplicação da pomada (CENCETTI et al., 2012; BARILLO et al., 2014; MOSER, 2013).

A exposição excessiva à prata pode causar mais do que desconforto aos indivíduos. Por exemplo, a ingestão de grandes doses de nitrato de prata pode provocar danos no trato gastrointestinal, irritação respiratória, dor abdominal, diarreia, vômitos, convulsões e até a morte (U.S. EPA, 1985). A ingestão, inalação ou absorção crônica de prata, mesmo que em doses baixas, pode causar argirose (FAUST, 1992; RATTE, 1999), que é a descoloração permanente da pele e das membranas mucosas. Esse tipo de condição não é considerado um efeito tóxico em si, mas sim, desfiguração estética.

Além da exposição direta à prata, também existe uma preocupação com a disposição de altas concentrações de compostos de prata no meio ambiente e como isso afeta os ecossistemas (RODGERS et al., 1997). Ratte (1999), em estudo a respeito da toxicidade dos compostos de prata nos organismos, mostrou que a biomagnificação da prata é muito baixa, não chegando até os indivíduos do topo da cadeia alimentar. Além disso, em condições normais, a disposição de íons de prata no meio ambiente não traz grandes preocupações, pois os íons prata são rapidamente transferidos para compostos não biologicamente reativos.

Devido aos problemas causados pelo excesso de exposição à prata tanto pelos pacientes, quanto pelos ecossistemas, muitas pesquisas têm se concentrado em desenvolver curativos com prata que tenham um sistema de liberação controlada, evitando ou minimizando, assim, esses problemas.

2.4. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Sistemas de liberação controlada são dispositivos capazes de incorporar e liberar certa quantidade de uma substância ativa, almejando efeitos terapêuticos eficientes. Isso é possível através do controle da razão de liberação, do tempo de liberação e, também, do local de ação. O objetivo principal desses sistemas é manter uma concentração constante do componente, que deve estar entre a mínima concentração efetiva e a mínima concentração tóxica, por certo período de tempo (Figura 2) (ROGOBETE et al., 2016).

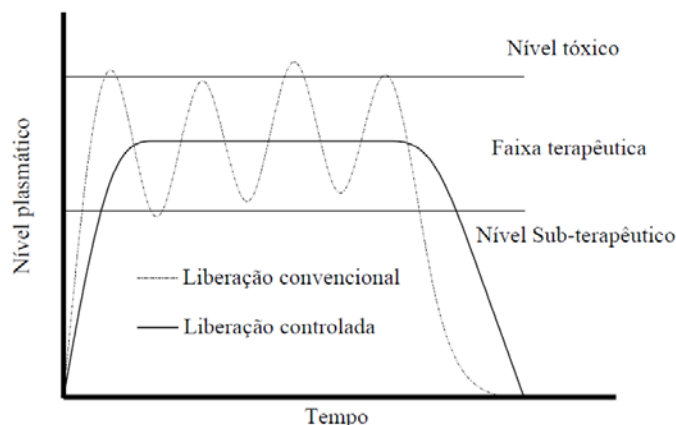


Figura 2. Comparação entre sistema de liberação convencional e controlada (PEREIRA, 2017).

O controle da liberação pode ocorrer através de fenômenos como a difusão, osmose, dissolução em um solvente, troca iônica ou através de reações químicas. O tipo de mecanismo utilizado para a liberação da substância bioativa depende das suas propriedades físicas, químicas e biológicas (ROGOBETE et al., 2016, LEE e YEO, 2014).

Quando o agente antimicrobiano de interesse não é volátil e a sua bioatividade depende da migração desse composto para o meio, o uso de zeólitas trocadas com cátions metálicos é bastante interessante. Nesse caso, a liberação vai ser controlada pela troca iônica realizada entre os íons da zeólita e os íons do meio (MATSUMURA et al., 2003; COMA, 2008).

2.4.1. Zeólitas

Zeólitas são sólidos cristalinos compostos, principalmente, por íons de silício (Si^{+4}) e de alumínio (Al^{+3}) cercados por átomos de oxigênio, formando arranjos tetraédricos tridimensionais, interligados entre si, como ilustrado na Figura 3A (AKGÜL et al., 2006). Como um átomo de alumínio está fazendo uma ligação a mais do que o previsto pela Regra do Octeto, surge uma carga negativa sobre seu átomo e é necessário um íon positivo para manter o balanço de cargas (MOSHOESHOE et al., 2017; LUZ, 1995).

A rede cristalina, formada pelos tetraedros tridimensionais interligados, faz com que a zeólita seja naturalmente porosa, com cavidades interconectadas por toda estrutura. Dentro dessas cavidades estão contidos moléculas de água e cátions metálicos (geralmente de metais alcalinos e alcalinos terrosos), que são atraídos pela carga negativa sobre o átomo de alumínio (Figura 3B) (AKGÜL et al., 2006; MOSHOESHOE et al., 2017).

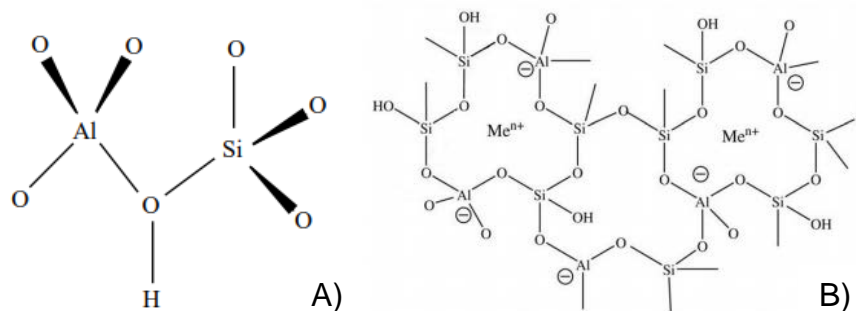


Figura 3. (A) Representação de arranjos tetraédricos de Si e de Al interligados por um átomo de oxigênio. (B) Representação bidimensional da estrutura da zeólita. Me⁺ são cátions externos (Flanigen et al., 1971).

A formação de zeólitas pode ocorrer de maneira natural, ao longo de milhares de anos, através da reação entre lava ou cinzas vulcânicas e água, ou elas podem ser sintetizadas artificialmente, a partir de cinzas volantes de carvão, por exemplo (MOSHOESHOE et al., 2017; ROCHA JUNIOR, 2012). O tipo de zeólita natural formada depende de diversos fatores, como a forma de material vulcânico (lava ou cinzas), o tipo de água envolvida no processo (marinha, lagos salinos, etc.), a alcalinidade e a concentração de íons (MOSHOESHOE et al., 2017).

Existem cerca de 40 espécies de zeólitas naturais conhecidas, sendo que as mais utilizadas são a mordenita, a clinoptilolita, a heulandita, a phillipsita, a erionita e a chabazita (LUZ, 1995). As características de cada zeólita estão diretamente relacionadas com a sua composição química. Na Tabela 1 está apresentada a fórmula química das principais zeólitas naturais, sendo possível comparar a sua composição.

Tabela 1. Fórmulas químicas das principais zeólitas naturais (LUZ, 1995)

Zeólitas	Fórmula Química
laumontita	Ca Al ₂ Si ₄ O ₁₂ · 4 H ₂ O
clinoptilolita	(Na,K,Ca) ₂₋₃ Al ₃ (Al,Si) ₂ Si ₁₃ O ₃₆ · 12 H ₂ O
stilbita	Na Ca ₂ Al ₅ Si ₁₃ O ₃₆ · 14 H ₂ O
phillipsita	(K,Na,Ca) ₁₋₂ (Si,Al) ₈ · O ₁₆ · 6 H ₂ O
erionita	(K ₂ ,Ca,Na ₂) ₂ Al ₄ Si ₁₄ O ₃₆ · 15 H ₂ O
offretita	(K ₂ ,Ca) ₅ Al ₁₀ Si ₂₆ O ₇₂ · 30.H ₂ O
faujazitita	(Na ₂ Ca) Al ₂ Si ₄ O ₁₂ · 8 H ₂ O
chabasita	Ca Al ₂ Si ₄ O ₁₂ · 6 H ₂ O
natrolita	Na ₂ Al ₂ Si ₃ O ₁₀ · 2 H ₂ O
thomsonita	Na Ca ₂ Al ₅ Si ₅ O ₂₀ · 6 H ₂ O
mordenita	(Ca,Na ₂ ,K ₂)Al ₂ Si ₁₀ O ₂₄ · 7 H ₂ O
epistilbita	Ca Al ₂ Si ₆ O ₁₆ · 5 H ₂ O
analcima	Na, Al Si ₂ O ₆ · H ₂ O
heulandita	(Na,Ca) ₂₋₃ Al ₃ (Al,Si) ₂ Si ₁₃ O ₃₆ · 12 H ₂ O

Zeólitas podem ser aplicadas em diversos processos da indústria devido a alta porosidade e capacidade de modificar sua composição química original através de processos como a troca iônica. A partir da troca iônica é possível modificar as zeólitas substituindo o cátion metálico presente nas cavidades

internas da zeólita por outro cátion metálico, dependendo do tipo de aplicação que se deseja dar para o material (MOSHOESHOE et al., 2017; PEREIRA, 2017; AKGÜL et al., 2006).

A zeólita mais abundante na natureza é a clinoptilolita, que é encontrada, principalmente, em rochas sedimentares de origem vulcânica. A clinoptilolita é, entre as zeólitas naturais, a que possui mais pesquisas referentes ao uso como suporte para íons prata e para atividade antimicrobiana, devido às suas propriedades favoráveis. Esse tipo de zeólita possui alta eficiência de adsorção, devido à grande superfície interna, aproximadamente $300 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e às cavidades internas espaçosas. Além disso, possui excelente capacidade de troca iônica, alta resistência em temperaturas extremas e estrutura quimicamente neutra, fazendo com que seja aplicável a diversos processos (ARMBRUSTER, 2001).

2.4.2. Zeólitas modificadas

A modificação de zeólitas pode ser feita com diferentes cátions metálicos, adequando a composição da zeólita à aplicação de interesse. A utilização de zeólitas engloba várias áreas da indústria, como, por exemplo, tratamento de efluentes líquidos, para a remoção de metais pesados, descontaminação de efluentes radioativos, para a remoção de átomos radioisótopos, liberação controlada de fertilizantes na agricultura, refinamento de petróleo, na preparação de catalisadores, separação de gases, absorção de odores, agente antimicrobiano em embalagens e curativos ativos, dentre outros (MOSHOESHOE et al., 2017; PEREIRA, 2017; ARMBRUSTER, 2001).

Zeólitas modificadas pela impregnação de íons prata são bastante utilizadas quando se objetiva tornar a zeólita um agente antimicrobiano (EGGER, et al. 2009; CHOI et al., 2008). A adsorção dos íons prata ocorre com facilidade por causa da elevada polaridade dos íons (MATSUMURA et al., 2003). A prata adsorvida à zeólita possui como vantagem, frente à prata livre, a liberação controlada dos íons através do processo de troca iônica (PEREIRA, 2017; SOUZA, 2012; MOSHOESHOE et al., 2017). Matsumura et al. (2003) concluíram em seu estudo que as zeólitas impregnadas com prata só liberam os íons quando em contato com as células bacterianas ou com os íons presentes no exsudato da ferida, não sendo liberados íons de prata em água pura, o que evita que esse metal seja liberado em quantidades excessivas.

Os íons prata, quando liberados, podem reagir com compostos de enxofre e outros componentes ativos, formando substâncias inertes. Assim, apenas uma parcela dos íons prata que são liberados no meio atuam como agentes antimicrobianos. Sendo assim, segundo Brody et al. (2001), quanto maior for a quantidade de íons prata impregnados, maior a eficiência da zeólita na destruição dos micro-organismos.

Considerações Finais da Revisão Bibliográfica

A partir da revisão da bibliografia, é possível perceber a importância do desenvolvimento de novos curativos que sejam mais tecnológicos e ecologicamente sustentáveis. Curativos ativos produzidos com biopolímeros biodegradáveis como a gelatina são interessantes devido ao baixo custo desse material e às boas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes produzidos. As propriedades mecânicas podem ser melhoradas com a adição de plastificantes como o glicerol, material que apresenta baixo custo e que também não é danoso ao meio-ambiente. As propriedades antimicrobianas do filme podem ser fornecidas pela inserção de um agente antimicrobiano como a prata iônica adsorvida na estrutura da zeólita comercial clinoptilolita para que a liberação do agente no leito da ferida ocorra de maneira controlada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Nessa seção serão apresentados os materiais utilizados e os métodos empregados para caracterização da zeólita, impregnação da zeólita com íons prata, produção dos filmes, dispersão da zeólita nos filmes, caracterização dos filmes e liberação controlada do agente antimicrobiano.

3.1. MATERIAIS

No desenvolvimento deste trabalho utilizou-se gelatina em pó (Merck Millipore, DE) e glicerol (Synth, BR) na formação dos filmes; solução de nitrato de prata (Plat Lab, BR) na impregnação da zeólita clinoptilolita Zeocel 0325 (Celta Brasil, BR) com prata; gomas guar (Êxodo Científica, BR) e xantana (Hexus Food Ingredients, BR) nos estudos de homogeneização da dispersão; e solução com cloreto de sódio (Química Moderna, BR) e cloreto de cálcio (Nuclear, BR) para produção de solução simulante de exsudato. Os reagentes foram fornecidos pelo Laboratório de Processamento de Resíduos (LPR), Laboratório de Processos de Separação por Membranas (LASEM) e Laboratório de Tecnologia em Embalagens e Desenvolvimento de Membranas (LATEM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.2. CARACTERIZAÇÃO DA ZEÓLITA

A zeólita sem e com impregnação de íons prata foi caracterizada individualmente em relação à composição química por ensaio de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* – FTIR). O método de análise utilizado foi

reflexão (UATR), com espectros coletados no modo transmitância, com varredura de 32 scans e resolução de 4 cm^{-1} . Esses espectros foram obtidos em espectrofotômetro de absorção molecular na região do infravermelho próximo e médio (Frontier, Perkin Elmer) da Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS.

3.3. IMPREGNAÇÃO DA ZEÓLITA

A impregnação da zeólita foi feita utilizando o método de troca iônica. Inicialmente, preparou-se 500 mL de solução de nitrato de prata (AgNO_3) com uma concentração de 2000 mg L^{-1} . Essa concentração foi escolhida baseando-se nos resultados de estudos anteriores realizados por Hubner (2017).

O pH da solução foi ajustado para um valor de 4 utilizando uma solução de ácido nítrico $0,1\text{ mol L}^{-1}$ e com o auxílio de um pHmetro Kasvi K39-2014B (Kasvi, BR) (AKGÜL et al., 2006; ARMBRUSTER, 2001).

As quantidades de zeólita utilizadas no experimento foram de 2, 3 e 4 g. Primeiramente, as massas selecionadas de zeólita foram pesadas e dispostas em erlenmeyers devidamente identificados e, então, 50 mL de solução de AgNO_3 foram adicionados aos frascos. Os erlenmeyers foram levados a um agitador do tipo shaker CT-712 RN (Cientec, BR), onde foram mantidos sob agitação de 175 rpm, numa temperatura constante de $25\text{ }^\circ\text{C}$ durante 10, 20 e 30 min (AKGÜL et al., 2006).

Após esse período, as suspensões passaram por uma filtração a vácuo em papel filtro qualitativo (Unifil, DE) para que houvesse a separação entre a zeólita e a solução. O filtro contendo a zeólita retida foi seco em estufa DeLeo DL-SE-X (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, BR) por um tempo de 24 h com temperatura de $80\text{ }^\circ\text{C}$ para posterior armazenamento da zeólita impregnada com íons prata. O líquido filtrado foi enviado para o Laboratório de Espectrometria Atômica do Instituto de Química da UFRGS onde foi realizado ensaio de espectrometria de absorção atômica com chama (*Flame Atomic Absorption Spectroscopy* – FAAS) em espectrômetro PerkinElmer AAnalyst 200 (Perkin Elmer, US).

Os resultados obtidos foram comparados por análise estatística de variância (ANOVA) no software Statistica 7.0 (Statsoft Inc., US), combinada com Teste de Tukey, com um nível de confiança de 95 %.

3.4. FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITA

A primeira parte do trabalho consistiu em preparar filmes de gelatina, glicerol e zeólita seguindo a metodologia adotada por Hubner (2017) que está ilustrada na Figura 4.

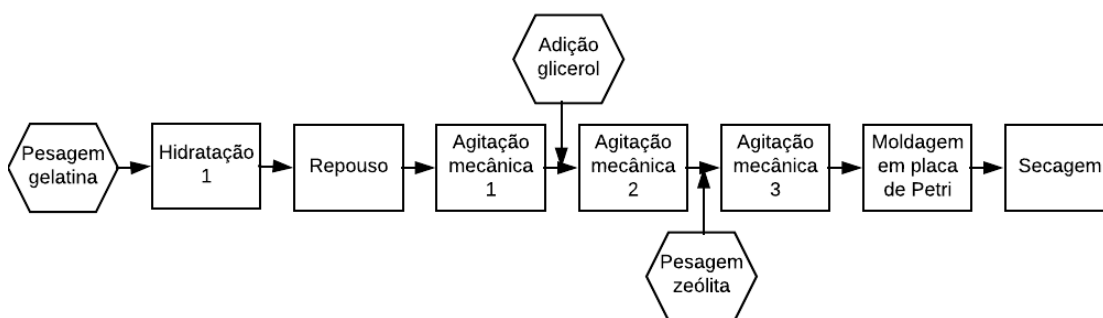


Figura 4. Processo de produção de filmes de gelatina, glicerol e zeólita

Neste processo 10 g de gelatina seca foram hidratados com 75 mL de água destilada em um béquer que foi deixado em repouso, em temperatura ambiente, por 15 min. Após o período de repouso, a mistura permaneceu sob agitação de 200 rpm, em agitador magnético (Kasvi, BR), e a temperatura foi mantida constante em 50 °C, por 30 min. Em seguida, adicionou-se 25 mL de glicerol e a mistura permaneceu sob agitação por mais 15 min. Após a etapa de plastificação, 0,5 g de zeólita foram adicionados à mistura, que permaneceu sob agitação por cerca de 2 minutos.

Após a etapa de preparação, a suspensão foi disposta em placas de Petri, mantendo uma massa constante de 20 g. Essas placas foram colocadas em estufa com circulação forçada de ar DeLeo A3-DL-SED (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, BR) para secagem, na temperatura de 35 °C por 24 h. Após a secagem, as placas foram acondicionadas em uma câmara contendo solução saturada de nitrato de magnésio ($Mg(NO_3)_2$), para se obter uma umidade de aproximadamente 53 % a 25 °C.

3.5. HOMOGENEIZAÇÃO DA DISPERSÃO DA ZEÓLITA

A segunda parte do trabalho consistiu no estudo de diferentes formas de homogeneização da zeólita na matriz polimérica, a fim de proporcionar uma melhor dispersão da zeólita nos filmes de gelatina.

Os testes realizados concentraram-se na utilização de gomas estabilizantes, de homogeneizadores, tais como ultrassom e Ultra Turrax[®], na alteração da temperatura, no peneiramento da zeólita e na modificação da ordem de adição dos componentes da mistura. Os filmes foram comparados através de imagens de microscopia óptica (Bioptika, serie B100, BR).

3.5.1. Adição de gomas estabilizantes nos filmes de gelatina (filmes 1 a 4)

Procedimento para preparação dos filmes 1 e 2:

O procedimento de preparação dos filmes 1 e 2 diferiu apenas em relação à goma utilizada, enquanto no filme 1 foi utilizada goma guar, no filme 2

utilizou-se goma xantana. A metodologia de preparação do filme 1 e do filme 2 está ilustrada na Figura 5.

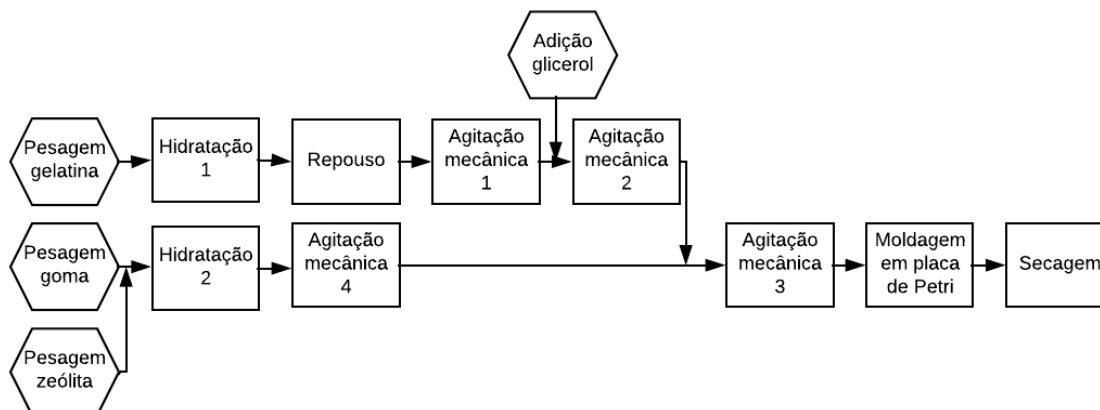


Figura 5. Processo de produção dos filmes 1 e 2

Para a produção dos filmes 1 e 2, 10 g de gelatina seca foram hidratados com 65 mL de água destilada em um béquer que foi mantido em repouso em temperatura ambiente (25 °C) durante 15 min. Passado o tempo do repouso, o béquer foi agitado a 200 rpm em agitador magnético (Kasvi, BR), a temperatura constante de 60 °C, por 30 minutos. Depois, adicionou-se o plastificante glicerol (25 mL) e a solução foi agitada, nas mesmas condições, por mais 15 min.

Em um segundo béquer misturou-se 0,5 g de zeólita clinoptilolita com 0,1 g de goma estabilizante e essa mistura foi hidratada com 10 mL de água destilada. Esse béquer foi disposto sobre um agitador magnético (Kasvi, BR), onde a agitação foi mantida a 200 rpm e a temperatura da mistura foi elevada a 80 °C (ZHANG et al., 2014).

O conteúdo do primeiro béquer foi adicionado ao segundo béquer e a mistura de gelatina, glicerol, zeólita e goma permaneceu sob agitação por mais 30 minutos. Após a etapa de preparação, a suspensão foi disposta em placas de Petri, seguindo o mesmo procedimento descrito em 3.4.

Procedimento para preparação dos filmes 3 e 4:

O processo de preparação dos filmes 3 e 4 diferiu pela adição de uma etapa de agitação manual no filme 4. As metodologias utilizadas na produção dos filmes 3 e 4 estão ilustradas na Figura 6 e na Figura 7, respectivamente.

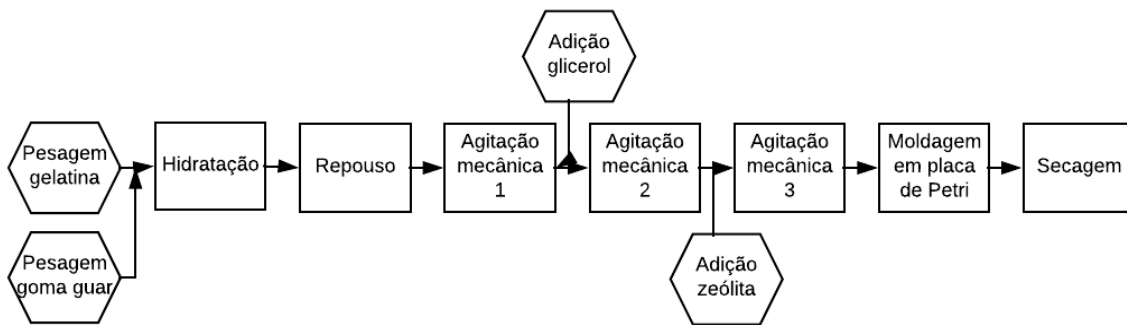


Figura 6. Processo de preparação filme 3

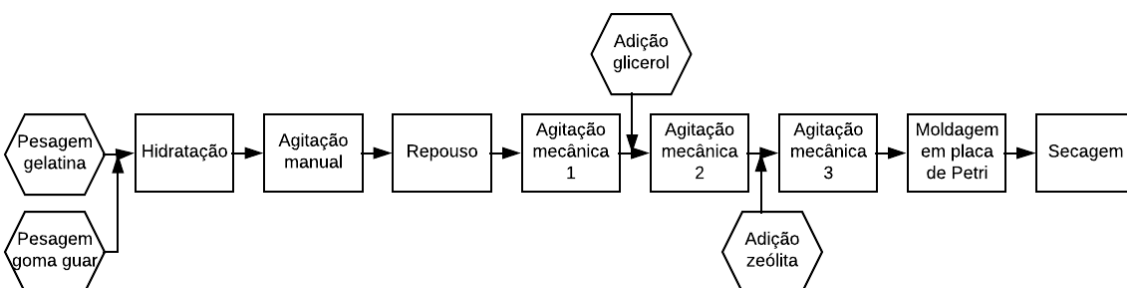


Figura 7. Processo de preparação do filme 4

Nesses procedimentos, 10 g de gelatina seca foram misturados com 0,1 g de goma guar em um béquer. A mistura foi hidratada com 75 mL de água destilada e deixada em repouso, em temperatura ambiente (25 °C) por 15 min. No filme 4, a mistura passou por uma etapa de agitação manual antes do tempo de repouso. Passado o tempo do repouso, o béquer foi agitado a 200 rpm em agitador magnético (Kasvi, BR), à temperatura constante de 50 °C, por 30 minutos. Depois, adicionou-se 25 mL do plastificante glicerol e a solução foi agitada por mais 15 min. Por fim, foram adicionados 0,5 g de zeólita e a suspensão permaneceu sob agitação por mais 30 minutos. Após a etapa de preparação, a suspensão foi disposta em placas de Petri, seguindo o mesmo procedimento descrito em 3.4.

3.5.2. Utilização de Ultra Turrax® (filme 5)

A produção do filme 5 difere da metodologia inicial (Figura 4) pela adição da etapa de agitação manual e utilização do Ultra Turrax®. Essa metodologia pode ser observada na Figura 8. Nesse teste a mistura de gelatina, glicerol e zeólita foi submetida à agitação de 10.000 rpm, em temperatura ambiente (25 °C), por 5 min em um Ultra Turrax® (T18 basic, IKA, Alemanha).

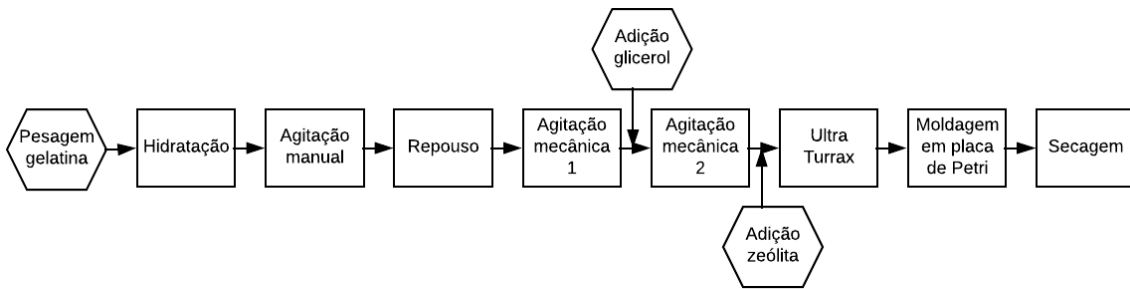


Figura 8. Processo de preparação do filme 5

3.5.3. Utilização de ultrassom (filme 6)

O procedimento de produção do filme 6 foi o mesmo do filme 5 apenas diferindo na utilização de Ultrassom em vez do Ultra Turrax[®]. Neste teste as misturas foram sonicadas em sonda de ultrassom (Sonics & Materials, Inc., modelo VC750, Newtown, Estados Unidos) utilizando 50 % da frequência máxima (20 kHz) do equipamento, em temperatura ambiente (25 °C), durante 5 min.

3.5.4. Peneiramento da zeólita (filme 7)

O procedimento de produção do filme 7 difere da metodologia original pela utilização da zeólita peneirada em peneira de 65 mesh e pela adição da etapa de agitação manual. Essa metodologia pode ser observada na Figura 9.

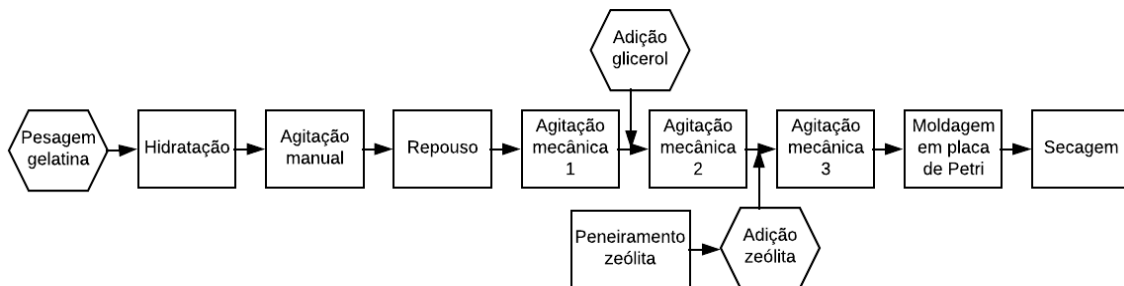


Figura 9. Processo de preparação do filme 7

3.5.5. Alteração da temperatura de trabalho (filmes 8)

A metodologia utilizada para a produção dos filmes 8 foi a mesma metodologia de produção do filme 7, diferindo apenas na zeólita utilizada que no filme 8 já estava impregnada. Nesse teste, a temperatura da mistura aquosa de gelatina, glicerol e zeólita foi reduzida na tentativa de melhorar a dispersão através do aumento da viscosidade da mistura na etapa de moldagem. Foram testadas as temperaturas de 50 , 40 e 30 °C. Em temperaturas mais baixas, a alta viscosidade da mistura impossibilitou a disposição nas placas de Petri.

3.5.6. Alteração da ordem de adição dos componentes da mistura (filmes 9)

Neste teste, a zeólita impregnada foi adicionada em dois momentos diferentes da produção dos filmes: antes da hidratação da gelatina (filme 9-a) e depois da adição de glicerol (filme 9-d). A metodologia utilizada na produção do filme 9-d difere da metodologia do filme 7 apenas pela utilização de zeólita impregnada em vez de zeólita não impregnada. O processo de produção do filme 9-a pode ser observado na Figura 10.

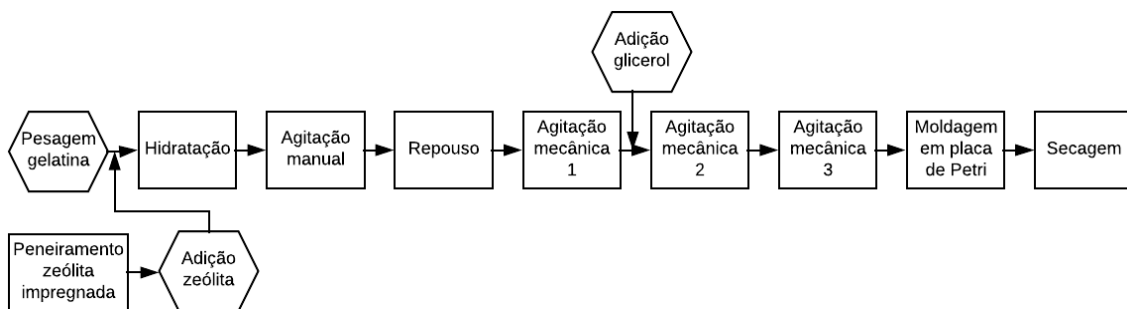


Figura 10. Processo de preparação do filme 9-a

3.6. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes produzidos foram caracterizados em relação às suas propriedades mecânicas e de superfície, permeabilidade ao vapor de água e capacidade de absorção de água. Estas são propriedades importantes quando se deseja produzir filmes com potencial para serem utilizados como curativos. Já os componentes do filme foram caracterizados quanto às suas composições químicas.

3.6.1. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram avaliadas através de um texturômetro Stable Micro Systems TA XT Plus (Stable Micro Systems Ltd., GB), do Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos (ICTA-UFRGS), conforme método ASTM D882:2002 (ASTM, 2002). As amostras, com dimensões de 25 x 50 mm, foram acondicionadas em câmara contendo solução salina saturada de nitrato de magnésio, que mantém a umidade relativa em torno de 53 % à temperatura de 25 °C, por 7 dias antes de serem submetidas ao ensaio. As propriedades analisadas foram resistência máxima à tração, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade (módulo de Young).

3.6.2. Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi avaliada através do método gravimétrico conforme norma ASTM E96-10 (2010), com algumas modificações. O procedimento consistiu em fixar as amostras em células de permeação, com diâmetro interno de 63 mm e altura de 22 mm, preenchidas com sílica gel (UR = 0 %). Essas cápsulas foram pesadas e então dispostas em câmara contendo solução saturada de nitrato de magnésio (umidade relativa de 53 % à temperatura de 25 °C), por 48 horas. Após, as cápsulas foram novamente pesadas e, assim, se obteve o ganho de massa referente à umidade permeada no filme.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada a partir da Equação 1:

$$PVA = \frac{\omega \times e}{t \times A \times \Delta p} \quad (1)$$

onde PVA é a permeabilidade ao vapor de água ($\text{g}\cdot\text{m}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{Pa}^{-1}$), ω é a massa de água que permeou através do filme (g), e é a espessura do filme (m), t é o tempo de permeação (h), A é a área de permeação (m^2) e Δp é a diferença de pressão de vapor de água entre os dois lados do filme (Pa).

Com os valores de PVA obtidos foi possível calcular o fluxo de permeação de vapor de água dos filmes ($\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$), através da Equação 2:

$$FPVA = \frac{PVA P_0 (UR_1 - UR_2)}{e} \quad (2)$$

onde PVA é a permeabilidade ao vapor de água do filme ($\text{g}\cdot\text{m}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{Pa}^{-1}$), P_0 é a pressão de vapor da água pura a 25 °C (Pa), e é a espessura do filme (m), $(UR_1 - UR_2)$ é o gradiente de umidade relativa do ar durante o experimento.

3.6.3. Capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água (CAA) foi avaliada utilizando-se o método ASTM D570-98 (2018) com modificações. Os ensaios foram realizados com amostras de filme com dimensões de 20 x 20 mm que foram acondicionadas em câmara de umidade controlada por 7 dias antes de serem submetidas ao ensaio. Essas amostras foram pesadas em balança analítica (Gibertini, IT) antes do início da análise e, então, submersas em 50 mL de água destiladas a 25 °C por 1, 15, 30, 45 e 60 minutos. Após as amostras serem retiradas da água, o excesso de água foi removido com papel filtro e elas foram

novamente pesadas em balança analítica (Gibertini, Π). A capacidade de absorção de água pode então ser calculada a partir da Equação 3:

$$CAA = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (3)$$

onde CAA é a capacidade de absorção de água (%), m_i é a massa inicial da amostra (g), m_f é a massa final após remoção do excesso de água (g).

Os resultados obtidos foram comparados por análise estatística de variância (ANOVA) no software Statistica 7.0 (Statsoft Inc., US), combinada com Teste de Tukey, com um nível de confiança de 95 %.

3.6.4. Microscopia óptica

A superfície dos filmes de gelatina foi analisada através de microscopia óptica em Microscópio Óptico (Bioptika, serie B100, BR) no Laboratório de Tecnologia em Embalagens e Desenvolvimento de Membranas (LATEM - UFRGS). As análises foram feitas com o equipamento operando no modo transmitância, com aumento máximo de 20 vezes.

3.6.5. Caracterização química por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier - FTIR

Os filmes de gelatina, bem como seus componentes, ou seja, gelatina e glicerol, foram caracterizados individualmente a respeito de sua composição química através do ensaio de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* – FTIR). A metodologia utilizada para este teste é a mesma utilizada na caracterização da zeólita e está descrita no item 3.2.

3.7. LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ÍONS PRATA

O controle da liberação do agente antimicrobiano ou fármaco é um dos pontos cruciais no desenvolvimento de curativos, já que é necessário manter uma quantidade ideal da substância sobre o ferimento. Conforme descrito anteriormente, íons prata foram impregnados à estrutura da zeólita clinoptilolita, a qual foi incorporada na formulação de filmes de gelatina. Dos filmes desenvolvidos, os filmes 9-d foram escolhidos para a realização de um estudo da cinética de liberação dos íons prata em soluções simulantes de exsudato da ferida.

A cinética de liberação dos íons prata dos filmes desenvolvidos foi analisada a partir de solução simulante de exsudato da ferida, composta por íons sódio e cálcio com concentrações similares ao plasma sanguíneo como ilustrado na Tabela 2 (THOMAS e YOUNG, 2008; THOMAS, 2001; YASSUE-CORDEIRO, 2015).

Tabela 2. Concentração iônica do plasma sanguíneo humano (NEZAFATI, 2012)

Íon	Plasma (mmol L⁻¹)
Na⁺	142,0
K⁺	5,0
Mg⁺²	1,5
Ca⁺²	2,5
Cl⁻	103,0
HCO₃⁻²	27,0
HPO₄⁻²	1,0
SO₄⁻²	0,5

Amostras dos filmes de gelatina com 4 cm de diâmetro foram adicionadas a 100 mL de solução simulante de exsudato. Os erlenmeyers contendo a mistura foram levados a um agitador do tipo shaker CT-712 RN (Cientec, BR), onde foram mantidos sob agitação de 100 rpm, numa temperatura constante de 25 °C por períodos de 1, 12 e 24 h (YASUUE-CORDEIRO, 2015). Após cada tempo de ensaio, as soluções foram filtradas e o líquido remanescente foi enviado para o Laboratório de Espectrometria Atômica do Instituto de Química da UFRGS onde foi realizado ensaio de espectrometria de absorção atômica com chama (Flame Atomic Absorption Spectroscopy – FAAS) em espectrômetro PerkinElmer AAnalyst 200 (Perkin Elmer, US), para determinação da quantidade de íons para presentes na solução.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados das análises desenvolvidas ao longo do trabalho bem como uma discussão sobre cada um dos resultados obtidos referente à zeólita (caracterização e impregnação com íons prata) e aos filmes (testes de homogeneização da dispersão, caracterização e cinética de liberação do agente antimicrobiano).

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA ZEÓLITA

A zeólita clinoptilolita foi caracterizada em relação à sua composição química por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) antes e depois de passar pela etapa de impregnação com íons prata.

Na Figura 11, são apresentados os espectros referentes à análise de FTIR da zeólita clinoptilolita e da zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata, onde é possível identificar os picos característicos da estrutura desta zeólita.

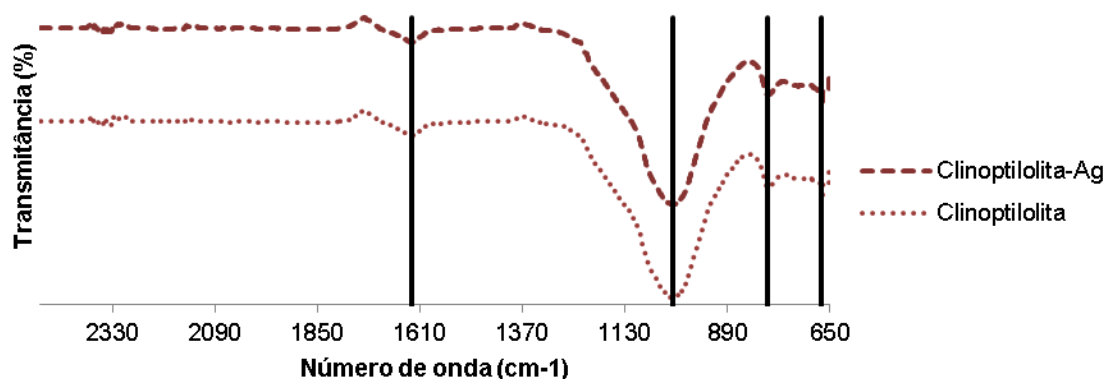


Figura 11. Espectro de Infravermelho por transformada de Fourier da zeólita clinoptilolita e zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata.

De acordo com Mozgawa (2000), o espectro de FTIR da zeólita clinoptilolita pode ser dividido em quatro bandas características:

1. banda relacionada às vibrações das ligações internas Si-O e Si-O(Al) em pontes de tetraedros ou alumínio e silício-oxigênio ($1200 - 400 \text{ cm}^{-1}$);
2. banda devido à presença de água na zeólita ($3700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$);
3. banda relacionada às vibrações de pseudo-rede das unidades estruturais ($700 - 500 \text{ cm}^{-1}$);
4. banda referente às vibrações de rede (abaixo de 400 cm^{-1}).

Neste trabalho os espectros obtidos para ambas as configurações da zeólita clinoptilolita apresentam praticamente os mesmos picos característicos, mostrando que a impregnação da zeólita com prata não causou modificações bruscas na sua estrutura. Esse mesmo comportamento foi observado nos estudos realizados por Yassue-Cordeiro (2014) e por Mozgawa (2000).

Nos dois espectros é possível observar um pico relacionado ao estiramento simétrico das ligações internas da zeólita em 668 cm^{-1} e ao estiramento assimétrico das ligações externas da zeólita em 794 cm^{-1} . No número de onda de, aproximadamente, 1023 cm^{-1} , se identifica um pico referente ao estiramento assimétrico dos tetraedros internos zeolíticos, representados por ligações do tipo T-O (T = Al ou Si). E, por fim, observa-se, também, uma banda no número de onda de 1630 cm^{-1} devido à presença de água na estrutura da zeólita (YASSUE-CORDEIRO, 2014; PECHAR e RYKL, 1981; MOZGAWA, 2000).

4.2. IMPREGNAÇÃO DA ZEÓLITA

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos nos ensaios de impregnação da zeólita.

Tabela 3. Concentração de Ag^+ remanescente na solução, quantidade de Ag^+ adsorvida e percentual de Ag^+ adsorvido na zeólita, utilizando diferentes massas de zeólita e tempos de contato.

Massa zeólita (g)	Tempo (min)	Ag^+ adsorvido ($\text{mg}_{\text{Ag}^+}/\text{g}_{\text{zeólita}}$)
2,0035 ± 0,0004	10	16,0 ± 0,5 ^a
2,0023 ± 0,0002	20	16,9 ± 0,7 ^a
2,0029 ± 0,0001	30	17,4 ± 0,7 ^a
3,0028 ± 0,0006	10	13,0 ± 0,4 ^{bc}
3,0012 ± 0,0012	20	13,1 ± 0,5 ^{bc}
3,0019 ± 0,0012	30	13,2 ± 0,4 ^b
4,0019 ± 0,0002	10	10,4 ± 0,4 ^c
4,0016 ± 0,0014	20	10,4 ± 0,2 ^c
4,0021 ± 0,0006	30	10,5 ± 0,3 ^{bc}

Na Figura 12 é apresentado um diagrama de concentração de Ag^+ remanescente em solução para diferentes massas de zeólita em relação ao tempo de contato.

A partir dos resultados, percebe-se que a impregnação da prata pela estrutura da zeólita ocorre majoritariamente nos primeiros 10 minutos de ensaio. Além disso, quando se utiliza uma massa menor de zeólita, a relação entre quantidade de prata por grama de zeólita é maior. Como a zeólita possui

uma estrutura quimicamente neutra, é provável que a quantidade de íons prata impregnada na zeólita tenha relação direta com o equilíbrio de cargas dentro e fora da zeólita. Sendo assim, quando se faz a impregnação com uma massa menor de zeólita, mantendo a mesma concentração da solução doadora de íons, o gradiente de cátions entre a solução e o interior da zeólita é maior e a troca iônica é favorecida. Com base nesses resultados, é possível perceber que a zeólita clinoptilolita apresenta potencial como plataforma de adsorção de íons prata.

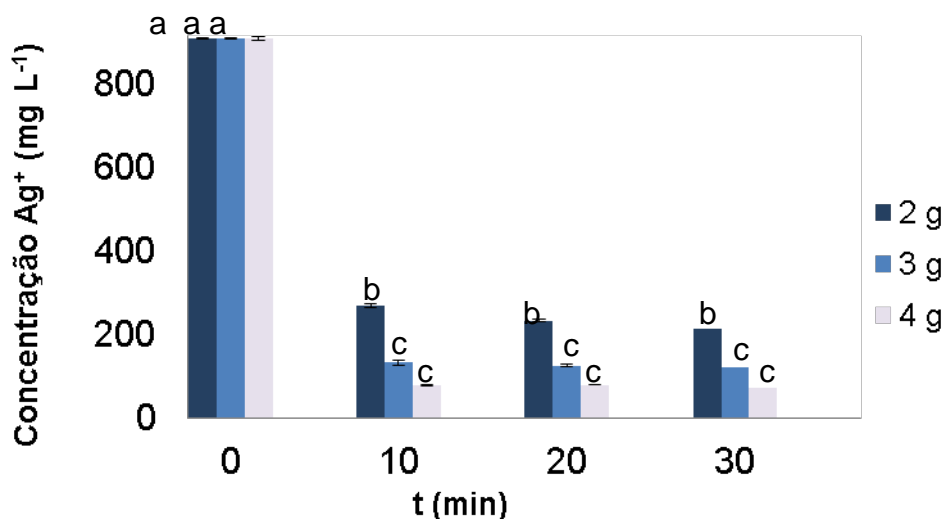


Figura 12. Concentração de íons prata remanescente na solução após impregnação em função do tempo para diferentes massas de zeólita

Adicionalmente, considerando que a atividade antimicrobiana só é garantida com a presença de íons prata, optou-se por continuar o trabalho com a zeólita contendo maior concentração de íons prata por grama de zeólita, ou seja, a zeólita impregnada usando 2 g de zeólita para 50 mL de solução doadora de íons prata.

4.3. FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITA

Na Figura 13 é apresentada a fotografia microscópica com um aumento de 5 vezes, do filme de gelatina, glicerol e zeólita na sua composição original. Pode-se perceber que a dispersão da zeólita não ocorre de maneira homogênea, já que aglomerados são identificados ao longo do filme. Na imagem também é possível identificar partículas transparentes que, provavelmente, representam a parte insolúvel da mistura heterogênea de gelatina e água. Essas partículas, que não são vistas a olho nu, estão presentes em todos os filmes, já que são próprias de misturas heterogêneas do tipo coloide, como gelatina e água.

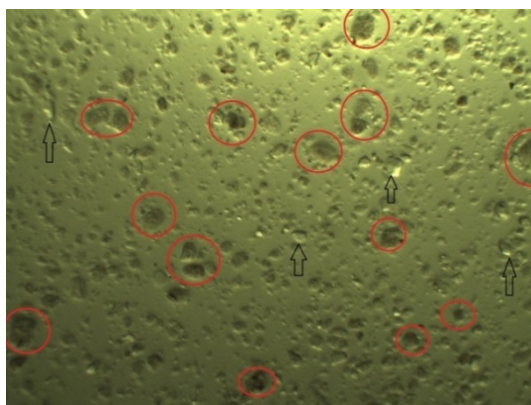


Figura 13. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes da superfície de filme de gelatina, glicerol e zeólita. Aglomerados de zeólita estão circulos de vermelho e as partículas insolúveis de gelatina estão indicadas com setas pretas.

4.4. HOMOGENEIZAÇÃO DA DISPERSÃO DA ZEÓLITA

Neste item são apresentados os resultados de microscopia óptica dos testes de aprimoramento da dispersão da zeólita no filme de gelatina, glicerol e zeólita. O comportamento da zeólita no filme foi analisado por microscopia, utilizando aumentos de 5, 10 e 20 vezes, em amostras de filme com dimensões de 10 x 20 mm.

4.4.1. Adição de gomas estabilizantes nos filmes de gelatina (filmes 1 a 4)

A composição do filme foi modificada através da adição de 0,1 g de goma guar no filme 1 e de 0,1 g de goma xantana no filme 2, a fim de melhorar a estabilização dos componentes da mistura. Tanto na Figura 14, quanto na Figura 15, é possível observar que a adição da goma nas condições descritas no item 3.5.1 não foi favorável à dispersão da zeólita no filme, já que aglomerados maiores do que os observados no filme original (Figura 13) foram formados.

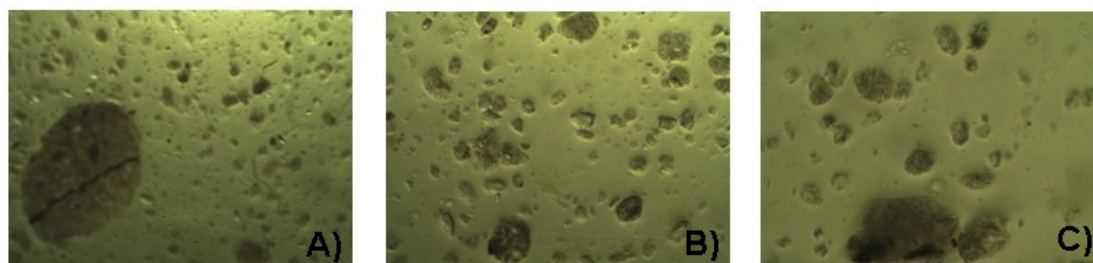


Figura 14. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 1.



Figura 15. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 2.

Na Figura 16, são apresentados os resultados do filme 3, que também contém goma guar e cujo procedimento de produção está descrito no item 3.5.1. A partir da análise da imagem se observa que, além do surgimento de aglomerados de zeólita ao longo do filme, também surgem aglomerados de gelatina (Figura 16.A) que não foram bem dispersos na solução aquosa. Nesse caso, tanto a dispersão da zeólita, quanto da gelatina foram prejudicadas.

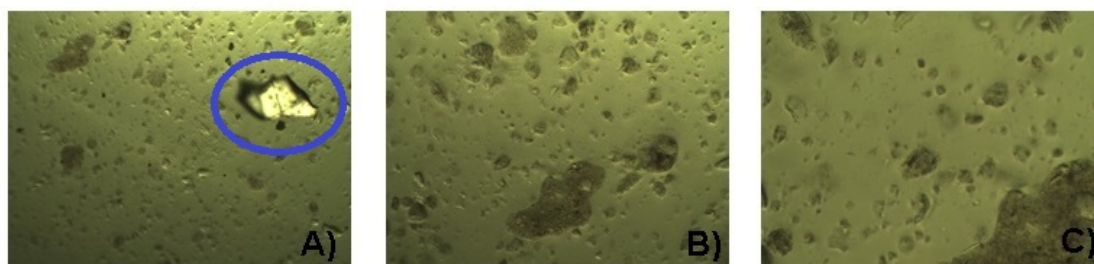


Figura 16. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 3. Aglomerado de gelatina circulado de azul.

Na Figura 17, são observados os resultados referentes ao filme 4. Neste caso, o comportamento da zeólita no filme aproxima-se daquele observado no filme original. Porém, como a diferença entre as duas imagens não é expressiva, não é possível afirmar que a mudança da formulação do filme original em relação ao filme 4 tornou a dispersão, de fato, mais homogênea.

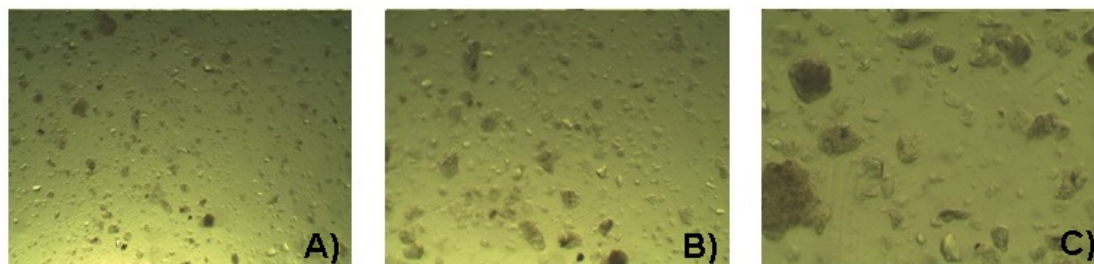


Figura 17. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 4.

4.4.2. Utilização de Ultra Turrax® (filme 5)

A utilização do homogeneizador tipo Ultra Turrax® formou uma grande quantidade de microbolhas na suspensão líquida, fazendo com que se tornasse inviável a formação de filmes. A etapa de moldagem não foi realizada.

4.4.3. Utilização de ultrassom (filme 6)

As imagens de microscopia do filme obtido após a utilização da sonda de ultrassom para dispersão da zeólita na solução formadora de filmes por 5 minutos são apresentadas na Figura 18. Apesar do uso do homogeneizador, o filme continuou apresentando aglomerados ao longo da superfície do filme.

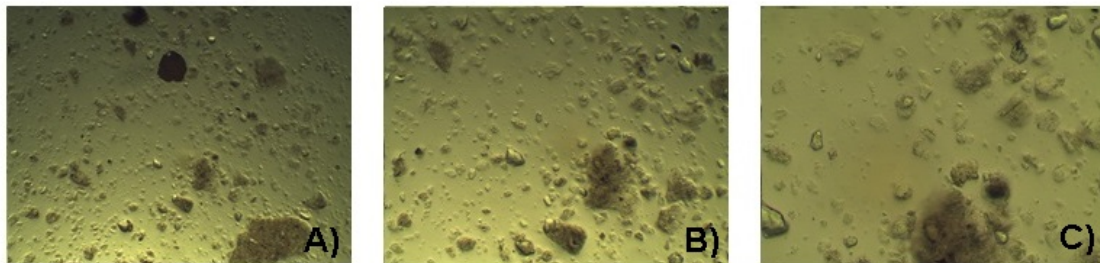


Figura 18. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 6.

4.4.4. Peneiramento da zeólita (filme 7)

A produção de filmes utilizando a zeólita peneirada em 65 mesh foi favorável à homogeneização da dispersão da zeólita no filme de gelatina, conforme pode ser observado na Figura 19. Ao comparar as imagens microscópicas de cada um dos testes de dispersão, percebe-se que, apesar de ainda ocorrer a formação de aglomerados neste filme, eles são de tamanho menor do que os presentes nos filmes anteriores. Por isso, o peneiramento da zeólita foi mantido para a produção dos filmes posteriores.

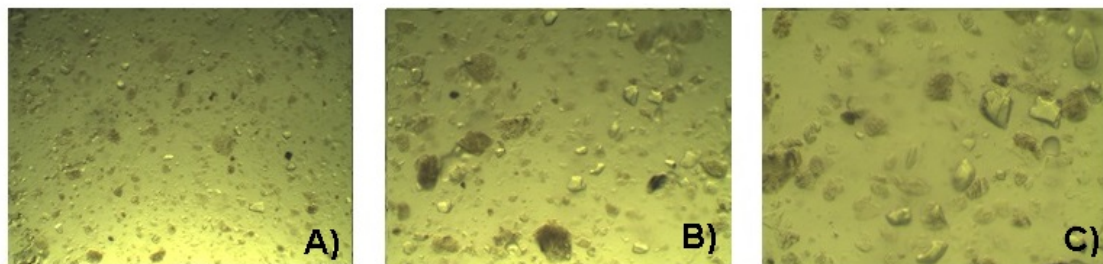


Figura 19. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 7.

4.4.5. Alteração da temperatura de moldagem (filmes 8)

Nas Figuras 20 a 22, são mostradas as microscopias dos filmes formados utilizando temperaturas de moldagem de 50 °C, 40 °C e 30 °C, respectivamente. Através da análise das imagens, percebe-se que o aumento da viscosidade na etapa de moldagem, causado pela diminuição da temperatura, não trouxe melhorias perceptíveis na dispersão da zeólita nos filmes.

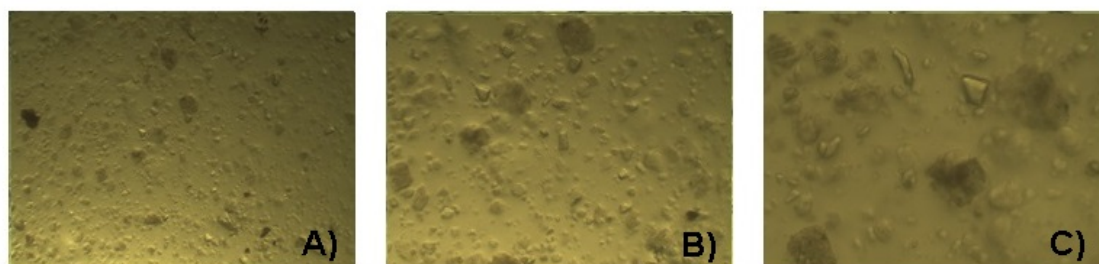


Figura 20. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 8-a, emplacado a 50 °C.

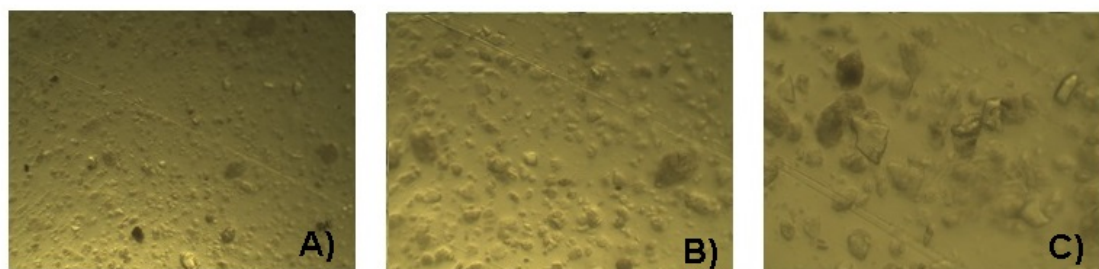


Figura 21. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 8-b, emplacado a 40 °C.

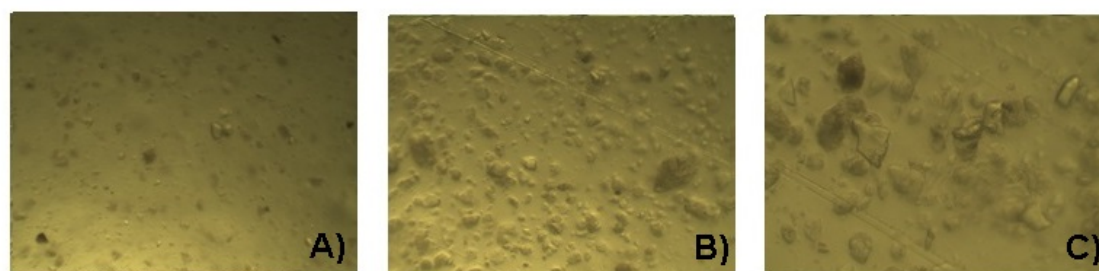


Figura 22. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 8-c, emplacado a 30 °C.

4.4.6. Alteração da ordem de adição dos componentes (filmes 9)

Na Figura 23 são apresentadas imagens do filme 9, em que a zeólita foi adicionada no início do processo e na Figura 24, as imagens fazem referência aos filmes em que a zeólita foi adicionada no final do processo. Pela análise das imagens nota-se que não há diferença, para a dispersão da zeólita, o

momento em que ela é adicionada. Nesse filme optou-se por utilizar a zeólita clinoptilolita-Ag, e por isso, nas imagens é possível identificar pontos mais escuros do que nos outros filmes, representando a prata iônica que agora está presente na estrutura.

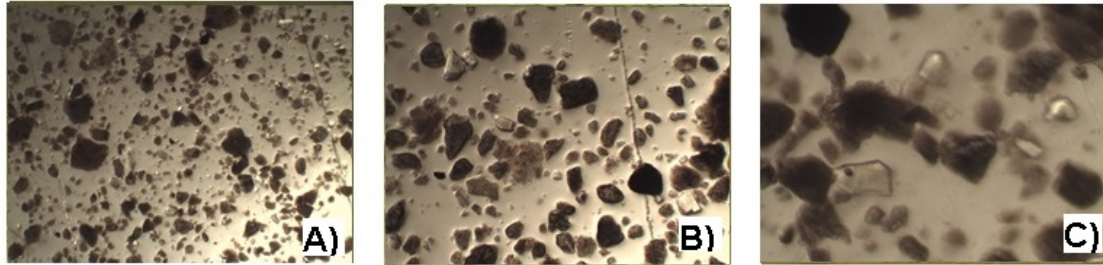


Figura 23. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 9-a, no qual a zeólita foi adicionada à solução formadora de filme no início do processo.

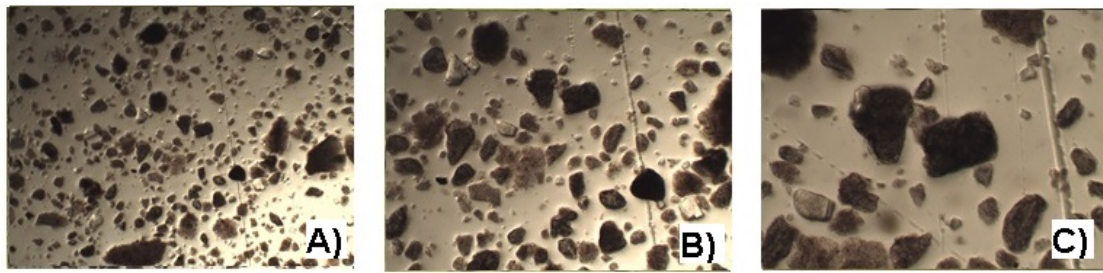


Figura 24. Imagem obtida através de microscopia óptica com aproximação de 5 vezes (A), 10 vezes (B) e 20 vezes (C) da superfície do filme 9-d, no qual a zeólita foi adicionada à solução formadora de filme no final do processo.

Com base nos resultados obtidos na etapa de homogeneização da dispersão da zeólita na matriz polimérica, para a continuidade do trabalho, caracterizações e análise da liberação de íons prata, os filmes foram fabricados seguindo as seguintes configurações:

- a) sem adição de gomas estabilizantes;
- b) sem uso de homogeneizadores;
- c) adicionando a etapa de agitação manual na hidratação da gelatina;
- d) temperatura de moldagem a 50 °C
- e) zeólita peneirada em 65 mesh adicionada ao final do processo.

4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os resultados referentes às caracterizações realizadas para o filme e para cada um dos seus componentes são apresentados neste item.

4.5.1. Propriedades mecânicas

A partir do teste de tração realizado foi possível obter o valor de tensão máxima de ruptura do filme, da elongação máxima na ruptura e do módulo de Young (módulo de elasticidade). Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Propriedades mecânicas médias dos filmes produzidos.

	TCC	Literatura
Tensão máxima de ruptura (MPa)	0,23 ± 0,03	0,1 – 0,25 (Lee et al., 2016)
Elongação máxima (%)	90,94 ± 0,08	180 – 370 (Lee et al., 2016)
Módulo de Young (MPa)	0,26 ± 0,02	

O valor encontrado para a tensão máxima de ruptura está de acordo com o exigido, comparando com curativos de poliuretano já existentes no mercado,

Apesar de o valor de elongação máxima estar abaixo do que fora documentado por Lee et al. (2016), outros autores que realizaram estudos sobre filmes de quitosana e de albumina com potencial para uso em curativos também encontraram valores consideravelmente mais baixos do que 180 % para a elongação (GIRATA, 2011; SHOJAE, 2015; YASSUE-CORDEIRO et al., 2015).

4.5.1. Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água e o fluxo de permeação de vapor de água foram calculados e os resultados obtidos nessas análises estão apresentados na Tabela 5

Tabela 5. Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e fluxo de permeação de vapor de água (FPVA) médios dos filmes produzidos.

	TCC	Literatura
PVA x 10⁵ (g·m·h⁻¹·m⁻²·Pa⁻¹)	0,39 ± 0,03	
FPVA (g·h⁻¹·m⁻²)	143 ± 9	104,2 (Wu et al. 1995)

Observa-se que o valor encontrado está próximo do que é esperado e, além disso, muitos curativos disponíveis comercialmente apresentam valores mais baixos variando entre 5,667 e 19,833 g m⁻² h⁻¹ para os curativos Comfeel[®], Dermiflex[®], Granuflex E[®], IntraSite[®], Restore Cx[®], Tegisorb[®] e Bioclusive[®] (WU et al., 1995). Portanto, pode-se afirmar que o valor encontrado está dentro do aceitável para curativos.

4.5.2. Capacidade de absorção de água (CAA)

Os resultados dos ensaios de capacidade de absorção de água dos filmes à base de gelatina nos tempos de 1 a 60 min podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6. Capacidade de absorção de água (CAA) média dos filmes produzidos, na temperatura de 25 °C e nos tempos de contato de 1, 15, 30, 45 e 60 minutos.

Tempo (min)	CAA médio (%)
1	21 ± 5 ^d
15	56 ± 7 ^c
30	88 ± 3 ^b
45	104 ± 3 ^{ab}
60	106 ± 9 ^a

A partir da análise dos dados obtidos observa-se que a capacidade de absorção de água tende a aumentar com o aumento do tempo de contato do filme com a água. Além disso, a partir dos 45 min o aumento da CAA com o tempo se tornou menos acentuado, podendo indicar uma tendência à estabilização do valor da CAA do filme de gelatina.

Os valores da capacidade de absorção de água encontrados estão abaixo de 200 %, valor que, segundo Shojaee (2015), é o mais adequado para curativos. Contudo, outros autores, como Gomes (2013), em pesquisa sobre o desenvolvimento de matrizes biomimétricas de quitosana e gelatina para o tratamento de queimaduras, obteve resultados de absorção de água abaixo de 25 % após 5 dias de imersão.

Em teste realizado com filmes de gelatina com formulação semelhante à utilizada nesse trabalho, Hubner (2017) obteve valores quase duas vezes maior do que os obtidos nesse trabalho. A causa mais provável para esse resultado é o aumento do tempo em que os filmes ficaram armazenados na câmara com umidade controlada antes da realização do teste, que pode ter provocado um empacotamento da estrutura do polímero, dificultando a absorção de água (Girata, 2011). Além disso, Ninan et al. (2013), mostraram que a presença de zeólita no filme o torna menos higroscópico, diminuindo a capacidade de absorção de água. Nesse caso, como a dispersão da zeólita ao longo do filme está mais homogênea, esse efeito pode ter sido acentuado.

Segundo Thomas e Young (2008), a taxa de liberação de exsudato varia no decorrer do processo da cicatrização começando com uma alta taxa até se extinguir quando a cura está completa. Portanto, no tratamento de um ferimento, pode-se utilizar um curativo com alta capacidade de absorção de água no início do tratamento e outros com menor capacidade no restante do tratamento. Sendo assim, uma capacidade de absorção de água menor do que o esperado não exclui o potencial de uso do filme como curativo.

4.5.3. FTIR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A partir dos espectros de infravermelho por transformada de Fourier foi possível obter informações sobre os tipos de espécies químicas presentes e a organização da estrutura da zeólita, da gelatina pura, do glicerol puro e do filme formado por esses componentes.

A análise de FTIR é baseada nas vibrações das ligações internas e externas dos grupos funcionais existentes no composto na região do infravermelho (MAZGAWA, 2000; PECHAR e RYKL, 1981; YASSUE-CORDEIRO, 2014).

Na Figura 25, estão representados os espectros de infravermelho da gelatina pura, do glicerol puro e do filme de gelatina, glicerol.

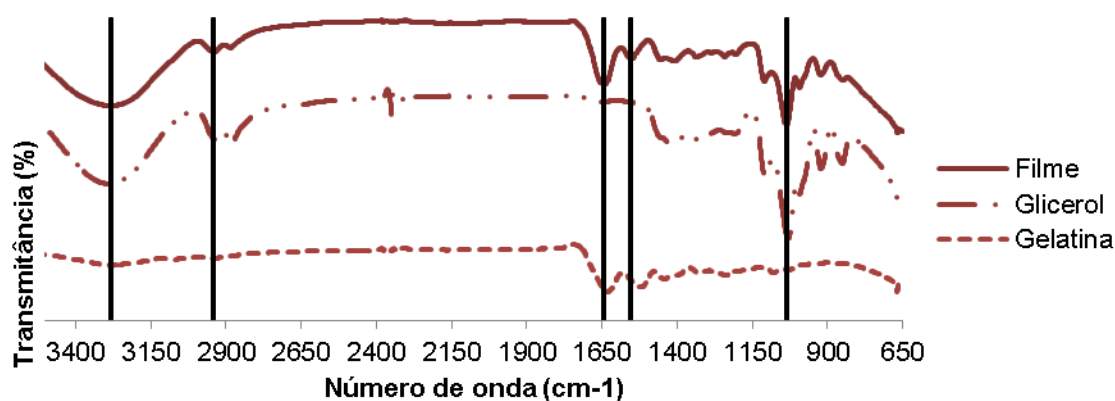


Figura 25. Espectros de infravermelho por transformada de Fourier do filme desenvolvido, do glicerol puro e da gelatina pura.

O espectro de FTIR da gelatina e o do glicerol apresentaram bandas vibracionais características em torno de 3300 cm^{-1} . Na gelatina, observou-se um pico em 3283 cm^{-1} que ilustra as vibrações do grupo amida na sua estrutura. Já no glicerol, encontra-se um pico em 3287 cm^{-1} que representa as vibrações de estiramento das ligações do grupo hidroxila (OH) presente na sua estrutura. No espectro do filme ocorre uma diminuição na intensidade da banda quando comparada com o glicerol puro e uma sobreposição das bandas do grupo amida e do grupo hidroxila. No número de onda de 2940 cm^{-1} , o filme apresenta picos característicos do estiramento da ligação C-H, também presentes na estrutura do glicerol (LIU et al., 2017). As bandas características apresentadas nos números de onda 1630 e 1530 cm^{-1} representam, respectivamente, o grupo carboxila (C=O) e as ligações do tipo N-H, e, desse modo, comprovam a presença do grupo amida na gelatina pura e também no filme. O estiramento das ligações C-O está representado no pico presente nos três espectros, aproximadamente, no número de onda 1100 cm^{-1} (YASSUE-CORDEIRO, 2014; PÉREZ-MATEOS; MONTERO; GUILLÉN, 2009, LIU et al., 2017, SOBRAL et al., 2005).

4.6. LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ÍONS PRATA

Nesta etapa são apresentados os resultados de liberação dos íons prata em função do tempo de contato com solução simulante de exsudato.

Na Tabela 7 são apresentados os valores de concentração de íons prata obtidos pela análise de espectrometria de absorção atômica com chama.

Tabela 7. Concentração de íons prata em solução simulante de exsudato após 1, 12 e 24 h em contato com filme de gelatina. SD = desvio padrão; SDR = desvio padrão relativo.

TEMPO (h)	CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)	SD	SDR (%)
0	0,19	0,0127	6,7
1	0,39	0,0034	0,9
12	0,471	0,003	0,6
24	0,748	0,003	0,4

A partir da análise dos resultados é possível perceber que ocorreu um aumento progressivo na quantidade liberada de íons prata ao longo do tempo de 24 h, o que é um bom indício de que a liberação esteja, de fato, ocorrendo de maneira controlada.

Quanto à quantidade de prata liberada, Yassue-Cordeiro (2014) obteve valores semelhantes aos encontrados neste trabalho. Walker et al. (2006), mostraram que, mesmo em concentrações baixas como 0,001 a 0,06 ppm, a prata iônica é um potente agente antimicrobiano. Porém, os curativos costumam liberar concentrações maiores para garantir que a morte dos microorganismos seja rápida e eficiente, evitando, assim, o desenvolvimento de resistência ao agente antimicrobiano (ATIYEH, 2007; CHOPRA, 2007). Por exemplo, curativos comerciais como Ancticoat[®] e Aquacel-Ag Hydrofiber[®] lixiviam 55 e 1 ppm de Ag⁺, respectivamente (WALKER et al., 2006).

Sendo assim, considerando que os valores obtidos se aproximam da concentração de prata liberada por curativos comerciais, pode-se dizer que os filmes desenvolvidos tem potencial para proteger de maneira eficiente o leito da ferida de contaminações microbianas.

5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram desenvolvidos filmes de gelatina e glicerol adicionados de zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata visando à utilização como curativos para lesões dérmicas.

A zeólita utilizada apresentou resultado bastante positivo na função de plataforma de adsorção e posterior liberação dos íons de prata. Na etapa de adsorção, também foi possível concluir que a impregnação ocorre principalmente nos minutos iniciais e que a massa de zeólita utilizada para impregnação tem relação inversa com a quantidade de prata que é adsorvida por grama de zeólita. Ou seja, com menor massa de zeólita, se obtêm uma quantidade maior de prata adsorvida por grama de zeólita. Na etapa de liberação, percebe-se que os íons prata foram liberados da estrutura para a solução simulante de exsudato em quantidades adequadas e que existe potencial para controlar a liberação ao longo do tempo.

A dispersão da zeólita ao longo do filme foi aprimorada com a adição de uma etapa de peneiramento da zeólita na metodologia de formação de filmes. A inserção de novos componentes, como gomas xantana e guar, na composição dos filmes, bem como o uso de equipamentos homogeneizadores não se mostrou favorável à dispersão da zeólita.

A respeito das propriedades mecânicas dos filmes produzidos, o valor obtido para tensão máxima de ruptura está de acordo com o encontrado em curativos comerciais. O valor da elongação máxima está abaixo do esperado para filmes de gelatina, porém, é satisfatório quando comparado com resultados de curativos produzidos a partir de outros biopolímeros.

O fluxo de permeação ao vapor de água dos filmes desenvolvidos apresentou bons resultados quando comparados aos curativos comerciais. Já os resultados encontrados para a capacidade de absorção de água ficaram abaixo do que era esperado. Porém, como volume de exsudato varia no decorrer do processo de cicatrização, filmes com menor capacidade de absorção podem ser utilizados quando o volume de exsudato liberado for menor, ou seja, quando o processo de cicatrização do ferimento está relativamente avançado.

Por fim, foi possível concluir que os filmes desenvolvidos apresentam grande potencial para a produção de curativos de lesões dérmicas eficientes, inovadores e mais sustentáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKGÜL, M., KARABAKAN, A., ACAR, O., YÜRÜM, Y., Removal of silver (I) from aqueous solutions with clinoptilolite, **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 94, n. 1–3, p. 99–104, 2006.
- ARAMWIT, P., Introduction to biomaterials for wound healing, v 2, p. 23-38, 2016.
- ARMBRUSTER, T. Clinoptiloliteheulandite: applications and basic research. **Studies in Surface Science and Catalysis**, v. 135, p. 13–27, 2001.
- ASTM D570 – 98: Standard Test Method for Water Absorption of Plastics, v. 8, 2018.
- ASTM E96 –10,: Standard test methods for water vapour transmission of materials, 2010.
- ASTM. D 882: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. **Astm**, v. 14, p. 1–10, 2002.
- ATIYEH, B. S. et al. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature. **Burns**, v. 33, n. 2, p. 139–148, 2007.
- BERGO, P., SOBRAL, P.J.A, Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films, **Food Hydrocolloids**, ed 21, p. 1285–1289, 2007.
- BLANES, L., Tratamento de feridas, **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo, 2004.
- BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. L. Active packaging for food application. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 53, p. 222, 2001.
- CENCETTI, C.; BELLINI, D.; PAVESIO, A.; SENIGAGLIA, D.; PASSARIELLO, C.; VIRGA, A.; MATRICARDI, P.; Preparation and characterization of antimicrobial wound dressings based on silver, gellan, PVA and borax, **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 1362-1370, 2012.
- CHOI, O.; DENG, K.K.; KIM, N.J.; ROSS, L.; SURAMPALLI, R.Y.; HU, Z.; The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 3066–3074, 2008.

CHOPRA, I., The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern?, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 4, p. 587–590, 2007.

COMA, V.; Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products, **Meat Science**, v. 78; p. 90–103, 2008.

COPCIA, V.E., LUCHIAN, C., DUNCA, S. et al.; Antibacterial activity of silver-modified natural clinoptilolite. **Journal of Materials Science**, v. 46. 2011.

DOWSETT C., The use of silver-based dressings in wound care, **Nursing Standard**, p. 56-60, 2004.

EGGER, S.; LEHMANN, R.P.; HEIGHT, M.J.; LOESSNER, M.J.; SCHUPPLER, M.; Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material, **Applied Environmental Microbiology**, v. 75, p. 2973-2976, 2009.

FAUST, R. Toxicity summary for silver, **Oak Ridge Reservation Environmental Restoration Program**, 1992.

FERNANDEZ, A.; SORIANO, E.; HERNANDEZ-MUNOZ; P.; GAVA, R., Migration of Antimicrobial Silver from Composites of Polylactide with Silver Zeolites, **Food Engineering and Physical Properties**, 2010.

FLANIGEN, E. M.; KHATAMI, H.; SZYMANSKI, H. A. Infrared structural studies on zeolite frameworks, **Advances in Chemistry Series**, v. 101, p.201–228, 1971.

GIRATA, A. K; Desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata; **Dissertação de Mestrado**, 2011.

GOMES, S. R. R., Desenvolvimento de matrizes biomiméticas como substitutos de pele destinados ao tratamento de queimaduras, **Tese de Doutorado**, 2013.

HASSAN, A.A; NORZIAH, M.H, Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers, **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 108-117, 2012.

HUBNER, P., Desenvolvimento de filmes de gelatina contendo zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata e avaliação das propriedades microbianas, **Dissertação de Mestrado**, 2017.

LEE, J.H. E YEO, Y.; Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers, **Chem. Eng. Sci.** v. 125, p. 75 – 84, 2014.

LEE, S. M.; PARK, I.K.; KIM, Y.S.; KIM, H.J.; MOON, H.; MUELLER, S.; JEONG, Y.I.; Physical, morphological, and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing. **Biomaterials research**, v. 20, p. 15, 2016.

LEONETI, A. B.; ARAGÃO-LEONETI, V.; OLIVEIRA, S. V. W. B. de, Glycerol as a by-product of biodiesel production in Brazil: Alternatives for the use of unrefined glycerol, **Renewable Energy**, v. 45, p. 138-145, 2012.

LIU, D.; NIKOO, M.; BORAN, G.; ZHOU, P.; REGENSTEIN, J.M.; Collagen and Gelatin, **Annual Review of Food Science and Technology**, Vol. 6, p. 527-557, 2015.

LIU, F.; CHIOU, B.S.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; ZHANG, Y.; LI, Y.; MCHUGH, T.H.; ZHONG, F.; Study of combined effects of glycerol and transglutaminase on properties of gelatin films, **Food Hydrocolloids**, p. 1-9, 2017.

LUZ A. B. Zeólitas: propriedades e usos industriais, **Série Tecnologia Mineral**, CETEM, 1995.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S., Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I, **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, p. 393-410, 2003.

MATSUMURA, Y.; YOSHIKATA, K.; KUNISAKI, S.I.; TSUCHIDO, T.; Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 69, p. 4278–4281, 2003.

MIR, M., ALI, M. N., BARAKULLAH, A., GULZAR, A., ARSHAD, M., FATIMA, S., ASAD, M.; Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review, **Progress in biomaterials**, v. 7, p. 1-21, 2018.

MOSHOESHOE, M., NADIYE-TABBIRUKA, M. S., OBUSENG, V., A Review of the Chemistry, Structure, Properties and Applications of Zeolites, **American Journal of Materials Science**, v. 7, n. 5, , p. 196-221, 2017.

MOZGAWA, W. The influence of some heavy metals cations on the FTIR spectra of zeolites. **Journal of Molecular Structure**, v.555, p.299–304, 2000.

NINAN, N; GROHENS, Y.; ELAIN, A.; KALARIKKAL, N.; THOMAS, S.; Synthesis and characterisation of gelatin/zeolite porous scaffold, **European Polymer Journal**, v. 49, p. 2433-2445, 2013.

PAGLIARO, M.; ROSSI, M., Glycerol: Properties and Production, **The Future of Glycerol: New Uses of a Versatile Raw Material**, p. 1-17, 2008.

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

PECHAR, F.; RYKL, D., Infrared spectra of natural zeolites of the stilbite group. Institute of Geology and Geotechnics, **Czechoslovak Academy of Sciences**, v.35, n.2, p.189-202, 1981.

PERCIVAL, S.L., BOWLER, P.G., RUSSEL, D., Bacterial resistance to silver in wound care, **Journal of Hospital Infection**, v. 60, n. 1, p. 1-7, 2005.

PEREIRA, A. K. dos S.; Síntese de nanopartículas de prata suportadas em microesferas e filme de quitosana: Estudo da atividade antibacteriana e aplicação na liberação controlada de ibuprofeno; **Dissertação de Mestrado**; 2017.

PÉREZ-MATEOS, M., MONTERO, P., GÓMEZ-GUILLÉN, M.C., Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends, **Food Hydrocolloids**, p. 53–61, 2009.

PRASAD, P. e KOCHHAR, A., Active Packaging in Food Industry: A Review, **Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 8, p. 01-07, 2014.

QUINN, K.J.; COURTNEY, J.M.; EVANS J.H.; GAYLOR, J.D.S.; Principles of burn dressings. **Biomaterials**, v.6, p. 369-377, 1985.

RAI, M., YADAV, A., GADE, A., Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 76-83, 2009.

RATTE, H.T. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, p. 89 – 108, 1999.

ROCHA JUNIOR, C. A. F.; SANTOS, S. C. A.; SOUZA, C. A. G.; ANGÉLICA, R. S.; NEVES, R. F.; Síntese de zeólitas a partir de cinza volante de caldeiras: caracterização física, química e mineralógica, **Cerâmica**, p. 43-52, 2012.

RODGERS, J. H. JR.; DEEVER, E.; SUEDEL, B. C.; ROGERS, P. L.; Comparative aqueous toxicity of silver compounds: laboratory studies with freshwater species. **Bull Environ Contam Toxicol**, p. 851-858, 1997.

ROGOBETE, A.F.; DRAGOMIRESCU, M.; BEDREAG, O.H.; SANDESC, D.; CRADIGATI, C.A.; SARANDAN, M.; PAPURICA, M.; POPOVICI, S.E.; VERNIC, C.; PREDA, G.; New aspects of controlled release systems for local anaesthetics: A review, **Trends Anaesth. Crit. Care**, n. 10, p. 4–11, 2016.

ROMANO, I.; AYADI, F.; RIZZELLO, L.; SUMMA, M.; BERTORELLI, R.; POMPA, P.P.; BRANDI, F.; BAYER, I.S.; ATHANASSIOU, A., Controlled antiseptic/eosin release from chitosan-based hydrogel modified fibrous substrates. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 306–314, 2015.

SHOJAEI, M.; NAVAEI, F.; JALILI-FIROOZINEZHAD, S.; FATURECHI, R.; MAJIDI, M.; BONAKDAR, S.; Fabrication and characterization of ovalbumin films for wound dressing applications, **Materials Science and Engineering: C**, v. 48, p. 158-164, 2015.

SHUBHRA, Q. T. H. Gelatin film and fiber reinforced gelatin composites. **Gelatin: production, applications and health implications**. p. 87–110, 2013.

SOBRAL, P. J. DO A.; SANTOS, J. S. DOS., GARCIA, F. T., Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia, **Journal of Food Engineering**, p. 93–100, 2005.

SOUZA, Y. C. P. de., Avaliação in vitro de géis dermatológicos e sua associação com enrofloxacino e sais de prata e zinco, **Dissertação de Mestrado**, 2012.

THAKUR, G., ROUSEAU, D., RAFANAN, R., Gelatin-based matrices for drug delivery applications. **Gelatin: Production, Applications and Health Implications**, p. 49-70, 2013.

THOMAS, S. E FRAM, P., The development of a novel technique for predicting the exudate handling properties of modern wound dressings, **Journal of tissue viability**, v. 11, p.145-53, 2001.

THOMAS, S.; YOUNG S. Exudate-handling mechanisms of two foam-film dressings. **Journal of Wound Care**, v.17, n. 7, p.309-315, 2008.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J.A., Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol, **Journal of Food Science**, 2006.

U.S. EPA. Drinking Water Criteria Document for Silver (Final Draft). Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH. ECAO-CIN-026, PB86-118288, 1985.

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

VELNAR, T.; BAILEY, T.; SMROLJ V.; The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms; **The Journal of International Medical Research**, p. 1528 – 1542, 2009.

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

WALKER, M.; COCHRANE, C.A.; BOWLER, P.G.; PARSONS, D.; BRADSHAW, P., Silver deposition and tissue staining associated with wound dressings containing silver. **Ostomy Wound Manage**, v.52, p.222–231, 2006.

WINTER GD. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig, **Nature**, 1962.

WU, P.; FISHER, A.C.; FOO, P.P.; QUEEN, D.; GAYLOR, J.D.S.; In vitro assessment of water vapour transmission of synthetic wound dressings, **Biomaterials**, v. 16, n. 3, p. 171-175, 1995.

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

YASUUE-CORDEIRO, P. H., Incorporação de Ag/zeólitas em filmes de quitosana para o tratamento de queimaduras, **Dissertação de Mestrado**, Paraná, 2014.

c

T. N.; RESHETOV, Modern wound dressings: manufacturing and **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 40, p. 85-92, 2006.