Brazilian Journal of health Review

Caracterização físico-química de biocurativos dérmo-epidérmicos de *Quitosana, Xantana* e *Beta-Glucana*

Physical and chemical characterization of dermal-epidermal biocuratives of Chitosan, Xantan and *Beta-Glucan*

DOI:10.34119/bjhrv3n3-132

Recebimento dos originais:01/05/2020
Aceitação para publicação:03/06/2020

Luiz Octávio Amarins Cianca
Aluno do curso de Medicina
Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI
E-mail:luiz.cianca@fai.com.br

Thalita Souza Lima Nakasse
Aluno do curso de Medicina
Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI
E-mail:nakasse.thalita@fai.com.br

Yuri Wicher Damasceno
Aluno do curso de Medicina
Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI
E-mail:yuri.damasceno@fai.com.br

Tais Gonçalves Querino da Silva
Aluno do curso de Medicina
Universidade do Oeste Paulista - UNOEST
E-mail:ta_querino@hotmail.com

Luiz Fernando Gorup
Doutor em Química
Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD
E-mail:lfgorup@gmail.com

Valter Dias da Silva
Mestre em Ciências Farmacêuticas
Docente do curso de Medicina
Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI
E-mail:vrdiass@fai.com.br

Liliana Martos Nicoletti Toffoli
Doutor em Biomedicina
Docente do curso de Medicina
Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI
E-mail:liliana@fai.com.br

Brazilian Journal of health Review

Márcia Zilioli Bellini
Doutor em Desenvolvimento de Bioprocessos e Biomateriais
Docente do curso de Medicina
Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI
Endereço:Rua Nove de Julho, 730 - Centro - CEP 17800-000 Adamantina SP
E-mail:mzbellini@fai.com.br

RESUMO
Dispositivos à base de quitosana, xantana e beta-Glucana foram caracterizados físico-quimicamente para a comprovação de sua utilização na aplicação no tratamento de lesões de pele. Trabalho desenvolvido anteriormente demonstrou a viabilidade da produção de um biomaterial polimérico composto por quitosana (Q), xantana (X) e beta-Glucana (G), com a escolha de três formulações para a sequência nesta etapa, as formulações com as proporções poliméricas Q:X:G em 1:1:0; 1:0,9:0,1; 1:0,85:0,15, chamadas respectivamente de 1A, 1B e 1C. Os resultados dos testes de caracterização físico-química das formulações escolhidas para darmos sequência ao projeto de pesquisa indicam que a adição de beta-Glucana na composição química do material interfere de maneira significativa nas propriedades dos materiais obtidos. As formulações com beta-Glucana são mais finas, absorvem menos água e solução salina e apresentam menor resistência à tração. Entretanto, as alterações nestas características não impossibilitam a utilização do biomaterial como curativo dermo-epidérmico, ao contrário, algumas mudanças características foram até interessantes para a função. As formulações com beta-Glucana mostraram-se transparentes e finas (0,05 mm de espessura em média), apresentaram adequada capacidade de drenagem e ótima absorção de Fluido Corpóreo Simulado - FCS (0,4g FCS/g do biomaterial seco, em média) e excelente alongamento quando úmida (de 15 a 20% de elasticidade). Todas as formulações testadas tiveram eficiência de incorporação de Bacitracina acima de 87% e liberação controlada do fármaco em 96 horas.

Palavras-Chaves: Quitosana; Xantana; Beta-Glucana; curativos; lesões de pele; caracterização físico-química.

ABSTRACT
Devices based on chitosan, xanthan and beta-Glucan have been characterized physically-chemically to prove their use in the treatment of skin lesions. Previously developed work demonstrated the viability of producing a polymeric biomaterial composed of chitosan (Q), xanthan (X) and beta-Glucan (G), with the choice of three formulations for the sequence in this step, the formulations with the polymeric proportions Q : X: G in 1: 1: 0; 1: 0.9: 0.1; 1: 0.85: 0.15, respectively called 1A, 1B and 1C. The results of the physical-chemical characterization tests of the formulations chosen to proceed with the research project indicate that the addition of beta-Glucan in the chemical composition of the material interferes significantly with the properties of the materials obtained. Beta-Glucan formulations are thinner, absorb less water and saline and have less tensile strength. However, changes in these characteristics do not preclude the use of biomaterial as a dermo-epidermal dressing, on the contrary, some characteristic changes were even interesting for the function. Beta-Glucan formulations were clear and thin (0.05 mm thick on average), showed adequate drainage capacity and excellent absorption of Simulated Body Fluid - FCS (0.4g FCS / g of dry biomaterial, on average) and excellent elongation when wet (15 to 20% elasticity). All tested

Brazilian Journal of health Review

formulations had an efficiency of Bacitracin incorporation above 87% and controlled release of the drug in 96 hours.

Keywords: Chitosan; Xanthan; beta-Glucan; dressings; skin lesions; physical-chemical characterization.

1 INTRODUÇÃO

Para que um material polimérico possa ser destinado para processos de regeneração de pele bem como para uso como suportes de crescimento celular com aplicação na área de engenharia de tecidos, este deve apresentar características que atendam os requisitos descritos anteriormente.

Os ensaios de caracterização de membranas com potencial aplicação em processos de reparo tecidual são, de acordo com diversos autores: determinação da espessura; determinação do grau de hidratação ou intumescimento das membranas quando da imersão em água, solução tampão ou outras soluções fisiológicas; avaliação da permeabilidade das membranas ao vapor d'água e ao oxigênio; análise da morfologia da superfície e da secção transversal; exame da porosidade e distribuição quanto aos tamanho dos poros; determinação da resistência à tração e do alongamento na ruptura; estabilidade física e mecânica, dentre outros liberação. Quando as membranas são formuladas com agentes ativos incorporados, faz-se também necessária a determinação da eficiência de incorporação e do perfil de sua liberação (BELLINI *et al*., 2012; BELLINI *et al*., 2015a; BELLINI *et al*., 2015b).

Diversos efeitos benéficos têm sido relacionados à beta-Glucana. Dentre eles podem-se citar sua atividade imunomodulatória, anti-inflamatória, antitumoral e antimutagênica, sendo este composto considerado hipocolesterolêmico e hipoglicêmico, além de exercer efeito protetor contra infecções (DE OLIVA-NETO *et al*., 2016).

Este projeto de pesquisa tem com principal objetivo contribuir para os estudos no ramo de obtenção de materiais com potencial para utilização na regeneração de lesões de pele. Como objetivos específicos, nesta etapa propõem-se a caracterização físico-química das membranas poliméricas de quitosana, xantana e β-glucana.

2 METODOLOGIA

Dos biomateriais produzidos foram escolhidas as melhores formulações para a caracterização físico-química de acordo com os resultados obtidos na primeira etapa da pesquisa (NAKASSE *et al*., 2020). Nesta etapa, as formulações 1A, 1B e 1C foram avaliadas quanto ao aspecto e morfologia da superfície e da secção transversal, à espessura, à

capacidade de absorção, a estabilidade durante exposição a soluções aquosas diversas, à resistência mecânica, à eficiência de incorporação e à cinética de liberação do fármaco conforme descrito a seguir.

2.1 PH DA ÁGUA E DA SOLUÇÃO TAMPONADA DE LAVAGEM

Após a secagem dos biocurativos fez-se necessário lavagens sucessivas em água e tampão com o objetivo de neutralização dos mesmos, visto que para o fim proposto estes não poderiam apresentar ácido acético residual. O pH da água residual das lavagens foi medido com o auxílio de fitas indicadoras de pH, de acordo com as instruções do fabricante.

2.2 ASPECTO E MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE E DA SECÇÃO TRANSVERSAL POR MEV

A morfologia do filme foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Utilizou-se um microscópio Zeiss Supra 35VP com canhão de emissão de elétrons por efeito de campo (FEG-SEM), trabalhando a 3 a 5 keV e spot 3. Para preparar as amostras, adicionou-se pequenos fragmentos do filme fixados sobre fita carbono adesiva posicionando as amostras em ângulos de 180, 90 e 45º , por último, as amostras foram secadas em estufa a 40ºC por 12 horas. Este procedimento permitiu que a amostras estivesse livre de umidade. As amostras foram recobertas por uma fina camada de ouro utilizando o equipamento Balzers Sputter Coater SCD 004 por 90 segundos. Essa película de ouro auxilia na condução dos elétrons que chegam até a superfície do material, contribuindo para uma imagem sem interferência e de melhor qualidade e resolução.

2.3 ESPESSURA

A espessura média dos suportes foi obtida utilizando um micrômetro (Digimess), realizando-se sete medidas perto da borda da membrana e em ângulos de 90º. Os resultados foram expressos como médias.

2.4 CAPACIDADE DE ABSORÇÃO E ESTABILIDADE A SOLUÇÕES AQUOSAS

A capacidade das membranas absorverem água e soluções salinas, sendo elas solução aquosa de NaCl a 0,9% (SS) e fluido corpóreo simulado (FCS), foi determinada utilizando corpos de provas de 6 cm x 1 cm, em triplicata, com massa seca inicial (M_s) determinada em balança analítica. As amostras foram hidratadas em 7 mL das soluções previamente

mencionadas, e nelas mantidas por 24 horas em estufa a 37ºC. Após este período, as amostras foram novamente pesadas para a determinação das massas úmidas finais (M_u) e a capacidade de absorção (C_i) de cada solução (descrita pelo índice i) foi calculada através da Equação 1:

$$C_i = \frac{(M_u - M_s)}{M_s} \quad \text{(Equação 1)}$$

A estabilidade das membranas foi avaliada pela variação da massa de amostras expostas aos mesmos fluidos por 24 h, após sua secagem (até que atingissem massa constante, por cerca de 10 h), em estufa com circulação de ar a 37ºC, obtendo-se, assim, suas massas secas finais (M_f). A variação de massa (V_m), após exposição a cada solução, foi calculada através da Equação 2:

$$V_m = \frac{[M_f - (M_s + M_{ss})]}{M_s} \times 100 \quad \text{(Equação 2)}$$

onde M_{ss} refere-se à massa estimada de sólidos da solução incorporados pelas amostras, considerando-se que as concentrações de sólidos de partida nas soluções SS e FCS eram de 9,00 g/L e 15,32g/L, respectivamente.

2.5 PERMEAÇÃO DE FLUIDOS

A capacidade de drenagem de soluções aquosas dos biocurativos foi analisada seguindo o método descrito por (VEIGA & MORAES, 2012) no qual amostras circulares de aproximadamente 2 cm de diâmetro foram hidratadas nos respectivos fluidos por 30 minutos e, dispostas no interior de tampas plásticas com vão circular; foram acopladas a tubos plásticos contendo 7 mL de água Milli-Q, Solução Salina 0,9% e Fluido Corpóreo Simulado. Com os tubos invertidos em um suporte incubou-se as amostras em estufa, dentro de dessecador contendo sílica gel ativada, por 24 horas a 37ºC. Pesaram-se os tubos antes e depois do procedimento, avaliando-se a quantidade de fluido drenado pelos biocurativos.

2.6 TENSÃO E ALONGAMENTO NA RUPTURA

Os ensaios mecânicos foram realizados em modo de tração usando um analisador de perfil de textura (TA-XT Express, Stable Micro Systems Ltd., Reino Unido) à temperatura ambiente com as amostras úmidas contendo, em média, 10 g de água por grama de membrana seca. O comprimento inicial de separação das garras de fixação das amostras foi de 15 mm, a

Brazilian Journal of health Review

velocidade de teste de 0.1 mm/s e a força de disparo de 0,1 g. A espessura e largura das membranas foram medidas utilizando um micrômetro digital (Mitutoya, modelo MDC-25S, Japão) e paquímetro (Digimess), respectivamente. A tensão (T) e o alongamento (A) na ruptura foram calculados através das Equações 03 e 04, respectivamente.

$$T_{(MPa)} = \frac{F_m}{A_S} \quad \text{(Equação 3)}$$

$$A = \frac{d_{final}}{d_{initial}} \quad \text{(Equação 4)}$$

Onde, F_m é a força máxima no rompimento em N, A_S é a área da seção transversal da amostra do filme em mm^2 (espessura x largura), e d é a distância de separação das garras.

2.7 INCORPORAÇÃO E CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACOS

A incorporação da bacitracina se deu por difusão do fármaco nas membranas. As membranas foram cortadas em corpos de prova circulares de 2 cm de diâmetro, colocados em frascos âmbar e, hidratados em solução de bacitracina por 24 h a 37°C. Duas diferentes concentrações de bacitracina serão avaliadas, sendo elas 1,5 e 3,5 mg de bacitracina/mL de solvente.

A quantidade de bacitracina incorporada na membrana foi determinada através da diferença entre a quantidade de fármaco inicial e a quantidade de fármaco na solução de equilíbrio (após a retirada da membrana). As concentrações do fármaco nas soluções foram avaliadas em espectrofotômetro UV-visível a 253 nm.

Para a determinação da cinética de liberação da bacitracina, os corpos de prova contendo o fármaco serão imersos em 10 mL de solução tampão PBS (pH 7,4) por até 96 horas a 37ºC. A cada 12 horas as amostras serão centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos, sendo o fármaco liberado no sobrenadante determinado em espectrofotômetro UV-visível a 253 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na etapa anterior foram produzidas diferentes formulações de membranas seguindo o protocolo estabelecido por (BELLINI *et al.*, 2012). Das quatro formulações testadas três foram escolhidas para a realização dos testes de caracterização físico-química.

Brazilian Journal of health Review

Nesta etapa foram caracterizadas as formulações com as proporções poliméricas Q:X:G em 1:1:0; 1:0,9:0,1; 1:0,85:0,15, chamadas respectivamente de 1A, 1B e 1C.

3.1 PH DA ÁGUA E DA SOLUÇÃO TAMPONADA DE LAVAGEM

A medição do pH da água e tampão de lavagem é extremamente importante para a averiguação da potencialidade deste biomaterial como curativo dermo-epidérmico ou como scaffolds, estrutura base para crescimento de células animais, em especial as células mesenquimais multipotentes. Os valores do pH da água obtidos após a lavagem dos biocurativos e os desvios padrão das medições são apresentados na **Tabela 01**.

Tabela 01 - Valores de pH das águas de lavagem dos biocurativos.

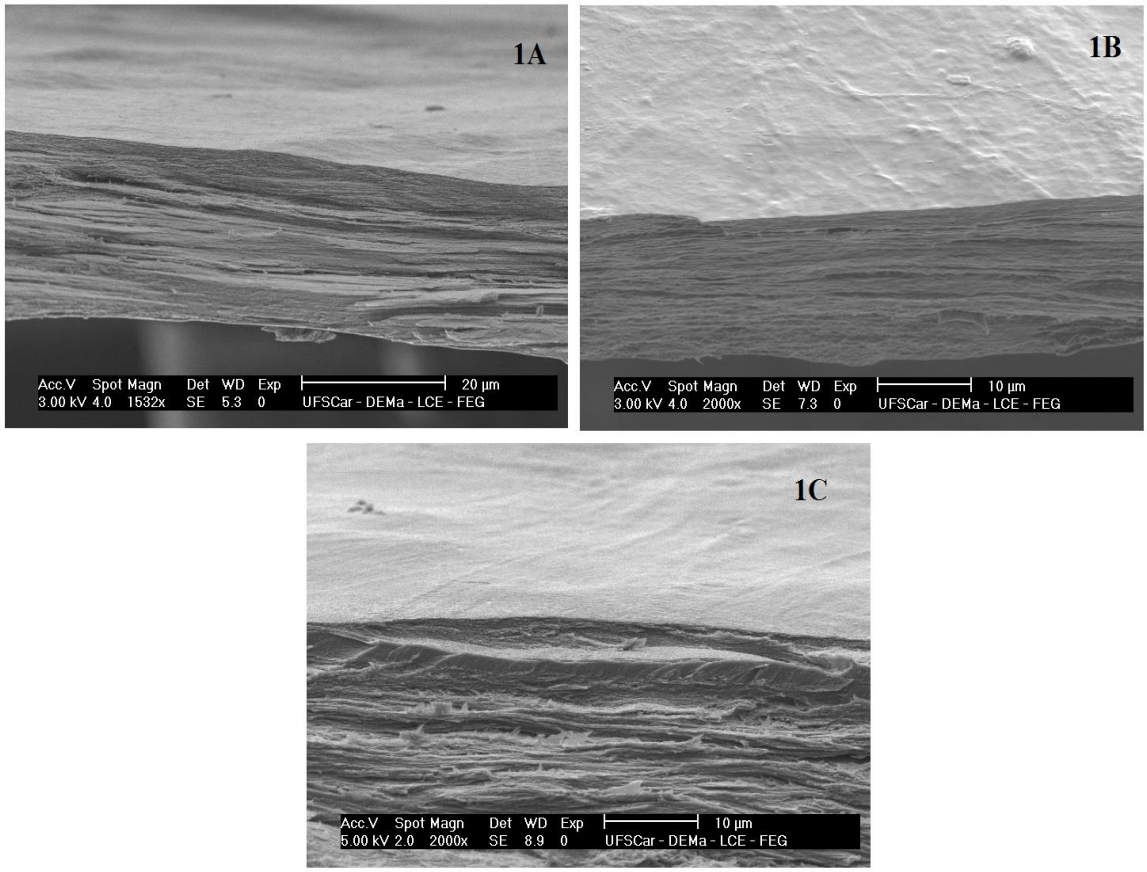
Formulação	Proporção X:Q:G (g/g)	pH da água 1ª Lavagem	pH da água 2ª Lavagem	pH da água 3ª Lavagem	pH tampão 4ª Lavagem	pH da água 5ª Lavagem
1A	1:1:0	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0
1B	1:0,9:0,1	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0
1C	1:0,85:0,15	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0

3.2 ASPECTO E MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE E DA SECÇÃO TRANSVERSAL

No que tange ao aspecto da superfície das membranas, a transparência do material é uma característica de grande relevância considerando-se a aplicação como curativo dérmico, uma vez que permitiria a eficaz observação do leito da ferida durante a recuperação da pele. A morfologia da superfície e da secção transversal das membranas foi analisada por MEV e os resultados típicos são mostrados na **Figura 01**

Brazilian Journal of health Review

Figura 01. Morfologia da superfície e da secção transversal dos biocurativos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).



Por meio das micrografias observou-se que as membranas apresentam superfície íntegra, com estruturas fibrilares distribuídas de forma bastante homogênea e sem poros superficiais aparentes. Os cortes transversais revelaram estruturas lamelares, com diferenças na compactação polimérica ao longo da espessura das membranas, em conformidade com o descrito na literatura para membranas de quitosana/alginato (RODRIGUES *et al.*, 2008; WANG *et al*., 2002) e de quitosana/xantana (BELLINI *et al.*, 2012). Membranas de proporção polimérica X:Q:G igual a 1:0,85:0,15, mostraram-se menos densas, com lâminas aparentemente mais espaçadas.

A integridade da camada superficial é de fundamental importância em materiais destinados ao uso como curativos dérmicos, uma vez que os mesmos poderiam atuar como barreira contra a entrada de microrganismos causadores de infecções em lesões de pele.

3.3 ESPESSURA

A análise da espessura de um biomaterial é de extrema importância, principalmente quando levado em consideração, seu papel como curativo bioativo. A espessura é levada em

consideração pois, atividades como absorção de soluções aquosas, capacidade de impregnação e liberação de fármacos, bem como a capacidade de trocas gasosas - qualidades essenciais em um curativo ideal - são diretamente influenciáveis pela espessura da membrana.

Os valores correspondentes à espessura média dos biocurativos secos são apresentados na **Tabela 02**. As espessuras variaram de 0,046 a 0,104 mm. Biomateriais com aplicação como substitutos dérmicos devem ser idealmente mais finos que a derme humana, cuja espessura varia entre 0,5 e 2 mm, dependendo da idade, sexo, bem como, da região do corpo (WAN *et al.*, 2007).

Tabela 02 - Média das espessuras dos biocurativos.

Formulação	Proporção mássica Q:X:G	Média das espessuras (mm)
1A	1:1:0	0,104 ± 0,027
1B	1:0,9:0,1	0,051 ± 0,008
1C	1:0,85:0,15	0,046 ± 0,008

Dentre os biomateriais observados as amostras 1B e 1C, que continham a presença de beta-Glucana na formulação, apresentaram uma menor espessura, 0,051 e 0,046, respectivamente, podendo relacionar o aumento da proporção de beta-Glucana com a diminuição da espessura do biomaterial. Este comportamento pode ser atribuído, provavelmente, à diminuição do número de ligações eletrostáticas entre os grupos amino da quitosana e os grupos carboxil da xantana, uma vez que os grupos pertencentes ao polímero xantana estão em menor proporção nestas amostras.

Membranas à base de quitosana e poli(álcool vinílico) alinhado ao uso de cascas de banana madura apresentam espessuras semelhantes variando de 0,024 mm a 0, 043 (ATAÍDE, 2018). Já LOCILENTO (2018) reportou em seus estudos biomateriais mais finos, matrizes de nanofibras eletrofiadas poliméricas contendo proantocianidinas, a partir do uso de polímeros como o poli(ácido lático), poli(óxido de etileno), juntamente com a incorporação de extrato de semente de uva e extrato de aloe vera, apresentaram espessuras de matrizes de 130 nm (0,00013 mm) para as composições com poli(ácido lático)/Extrato seco de semente de uva 10 %, e 306 nm (0,000306 mm) para as formulações contendo poli(ácido lático)/Extrato seco de Aloe Vera/Extrato seco de semente de uva 20%.

Brazilian Journal of health Review

3.4 PERMEAÇÃO DE FLUIDOS

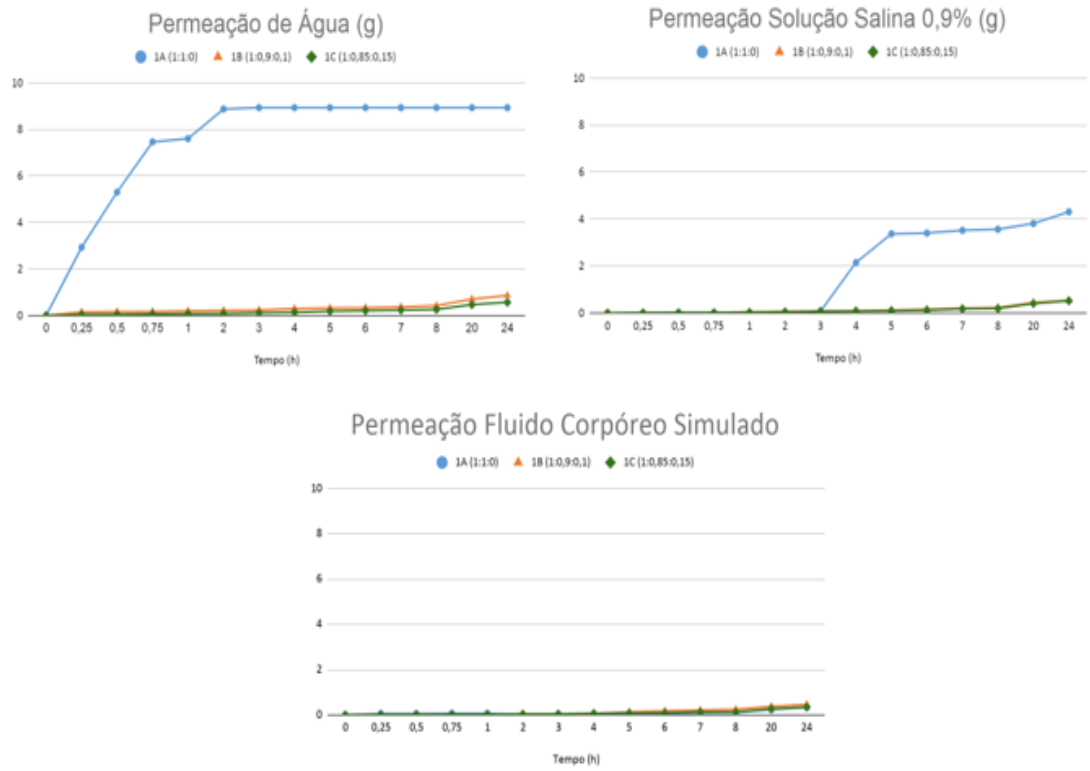
A taxa de drenagem de soluções é um importante fator a ser considerado no desenvolvimento de curativos, pois estes devem ser capazes de impedir o acúmulo de exsudatos e a desidratação excessiva da lesão. A **Figura 02** representa a capacidade de drenagem de soluções aquosas dos biocurativos e a **Figura 03** mostra o comportamento de cada biomaterial com relação a sua permeação para cada tipo de fluido diferente.

No que se refere à permeação de água, temos que, em um período de 24 horas, a membrana de formulação 1Q:1X:0G (1A) apresentou uma permeação de 8,93g de água. Já a formulação 1Q: 0,9X:0,1G (1B), apresentou uma permeação de 0,865g de água. Por sua vez, a formulação 1Q:0,85X:0,15G (1C) apresentou a capacidade de permear 0,566g de água, em um espaço de 24 horas. Logo, observou-se que a formulação 1A, livre de beta-Glucana, apresentou melhor capacidade permeativa, quando comparadas com as outras formulações.

Quando se trata da permeação de solução salina, observou-se que em um período de 24 horas, a membrana de formulação 1Q:1X:0G (1A) apresentou uma permeação de 4,305g de água. Já a formulação 1Q: 0,9X:0,1G (1B), apresentou uma permeação de 0,5355g de água. Por sua vez, a formulação 1Q:0,85X:0,15G (1C) apresentou a capacidade de permear 0,52g de água, em um espaço de 24 horas. Diferentemente da permeação de água, a formulação livre de beta-Glucana (1A) não apresentou valores tão distintos de permeação no que tange às soluções salinas. Testes estatísticos poderão mostrar se houveram diferenças significativas ou não.

Brazilian Journal of health Review

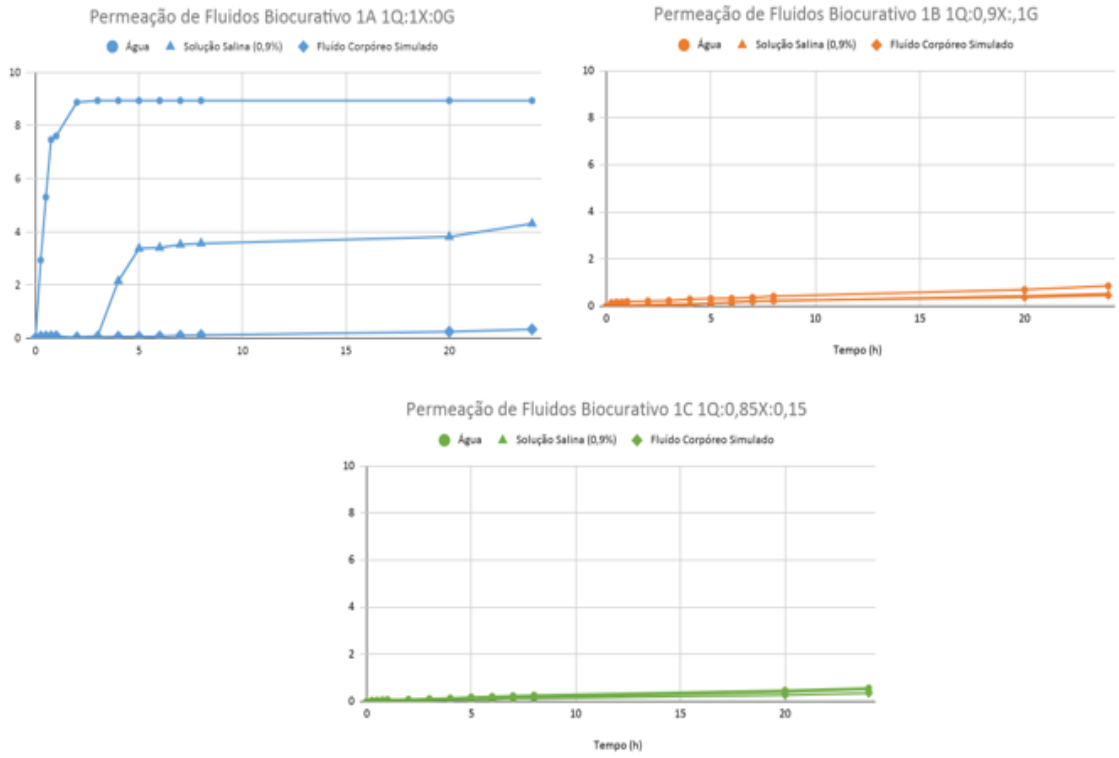
Figura 02. Permeação em Água, Solução Salina 0,9% e Fluido Corpóreo Simulado dos biocurativos 1A, 1B e 1C.



Com relação à permeação de fluído corpóreo simulado, temos que a formulação 1Q:1X:0G (1A) apresentou a capacidade máxima de permeação de 0,33g de fluido corpóreo simulado em um período de 24 horas. A formulação 1Q:0,9X:0,1G (1B) apresentou a capacidade de permear 0,46g de fluido corpóreo simulado em um período de 24 horas e a formulação 1Q:0,85X:0,15G (1C), apresentou a capacidade de permear 0,35g desta solução. Assim, os dados brutos nos permitiriam inferir que a formulação 1B apresenta a melhor capacidade de permeação de fluido corpóreo simulado, quando comparada com as formulações 1A, livre de beta-Glucana, e 1C, que conta com adição maior desse polímero em sua composição; no entanto, a análise estatística poderá clarear mais a discussão desses resultados. Ressalta-se, porém, que tal diferença de capacidade premiativa entre as formulações parece ser pequena, de forma a indicar capacidade satisfatória, de todas as formulações, de absorção dos exsudatos liberados pelo organismo.

Brazilian Journal of health Review

Figura 03. Comportamento da capacidade de drenagem dos fluidos: Água, Solução Salina 0,9% e Fluido Corpóreo Simulado nos Biocurativos 1A, 1B e 1C.



Comparando-se os valores obtidos, nota-se que, de forma geral, o fluido melhor permeado pelas membranas em 24 horas foi a água, com uma variação de 0,52 a 4,305 g/g, seguido da solução salina, e do fluído corpóreo simulado. A maior permeação de água verificada nos biomateriais, e em especial na formulação livre de beta-Glucana, pode ser explicada devido a uma ligação sub-ótima entre os polímeros, causada pelo excesso relativo de grupos amino da quitosana em relação às carboxilas da xantana, resultando em redes poliméricas mais soltas, capazes de absorver mais água. Isto também foi verificado por BELLINI e colaboradores (2012), ao adicionaram tensoativos nas composições de Q:X 1:1 estas absorveram menor quantidade de água quando comparadas às que continham somente polissacarídeos em sua formulação.

Em seu desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata (GIRATA, 2011) observou que a capacidade de drenagem das membranas de quitosana e alginato incorporando AlphaSan® reduziu conforme a adição do composto na mistura inicial. Isso se deve, possivelmente, ao aumento da espessura das membranas devido à presença das partículas do agente antimicrobiano localizadas entre as fibras de quitosana e alginato, dificultando assim a permeação da água.

Brazilian Journal of health Review

3.5 CAPACIDADE DE ABSORÇÃO E ESTABILIDADE ÀS SOLUÇÕES AQUOSAS

A capacidade de absorção de soluções aquosas figura como característica importante para biomateriais nos quais se incluem os polissacarídeos quando destinados à regeneração de pele, essa relevância se dá em face da formação de exsudato em lesões cutâneas ulceradas que pode ser bastante intensa. Além disso, a capacidade de um curativo bioativo de manter a superfície da lesão hidratada, bem como ser capaz de promover trocas, se encontra intimamente ligada à capacidade em absorver soluções aquosas.

Nesse aspecto, cada formulação foi testada para análise do comportamento em absorção de água e Fluido Corpóreo Simulado. Os valores das médias de absorção, bem como os desvios padrão, em 24 horas são apresentados na **Tabela 03**.

No que se refere à absorção de água, temos que, em um período de 24 horas, a membrana de formulação 1Q:1X:0G (1A) apresentou uma absorção de 20,525g de água. Já a formulação 1Q:0,9X:0,1G (1B), apresentou uma absorção de 9,036g de água. Por sua vez, a formulação 1Q:0,85X:0,15G (1C) apresentou a capacidade de absorver 7,039g de água, em um espaço de 24 horas. Dessa forma, se expressa que a formulação 1A apresentou melhor capacidade absortiva, quando comparadas com as outras formulações.

Tabela 03. Capacidade de Absorção de água e Fluido Corpóreo Simulado (FCS) dos Biocurativos.

Formulação	**Proporção mássica Q:X:G (g/g)**	**$C_{água}$ (g/g)**	**C_{FCS} (g/g)**
1A	1:1:0	20,525± 0,304	8,906 ± 0,326
1B	1:0,9:0,1	9,036 ± 0,993	5,593 ± 0,522
1C	1:0,85:0,15	7,039 ± 0,682	5,005 ± 0,531

Quando se trata da absorção da solução que simula um fluído corpóreo, temos que a formulação 1Q:1X:0G (1A) apresentou a capacidade de absorver 8,906g de fluido corpóreo em um período de 24 horas. Já a formulação 1Q:0,9X:0,1G (1B) apresentou a capacidade de absorver 5,593g de fluido corpóreo simulado em um período de 24 horas. De maneira análoga, a formulação 1Q:0,85X:0,15G (1C), apresentou a capacidade de absorver 5,005g de solução de fluido corpóreo simulado. Assim, esses resultados nos permitem inferir que a formulação 1A, livre de beta-Glucana, apresentou a melhor capacidade de absorção de fluido corpóreo

simulado, quando comparada com as formulações 1B e 1C, que contam com adição desse polímero em suas composições.

Em seu desenvolvimento de membranas produzidas à base de quitosana-alginato (BUENO, 2015) realizou testes de capacidade absortiva e a estabilidade das membranas a partir de diferentes soluções aquosas de modo a simular as suas condições de aplicação, e demonstrou que as membranas produzidas na ausência de acetona apresentaram maior capacidade de absorção de água e solução salina, sendo, portanto, mais adequadas.

Já Pires (2013), no desenvolvimento de filmes flexíveis à base dos polissacarídeos quitosana e alginato, referem absorção entre 12% a 17% de água, independente da adição ou não de tensoativos nas membranas à base de quitosana e alginato.

3.6 TENSÃO E ALONGAMENTO NA RUPTURA

Adequadas propriedades mecânicas, como módulo de elasticidade e resistência à tração, compatíveis com as do tecido lesado, são requisitos importantes e esperados para materiais destinados à regeneração tecidual. Os resultados obtidos para as propriedades mecânicas das membranas úmidas são mostrados na **Tabela 04** e **Figura 05**.

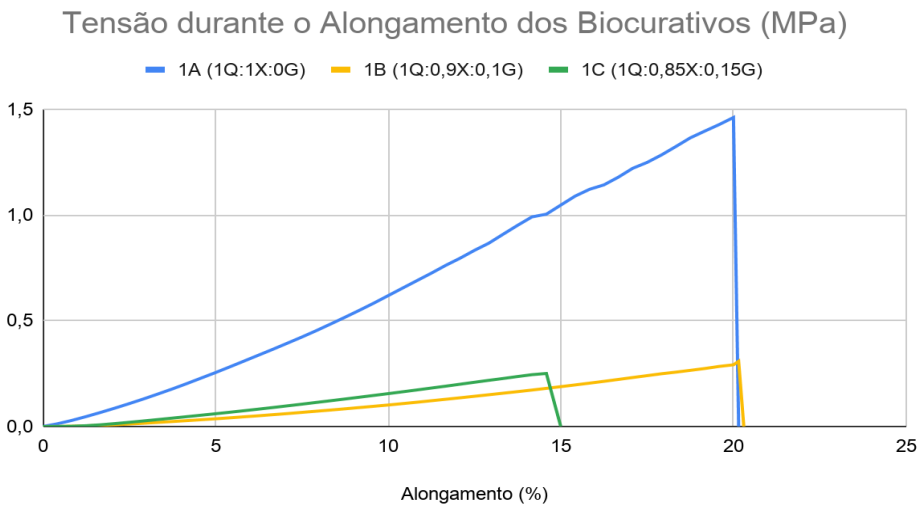
Tabela 04. Propriedades mecânicas dos biomateriais úmidas, contendo em média 10 g de água por grama de membrana seca.

Formulação	Proporção mássica Q:X:G (g/g)	Resistência máxima à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
1A	1:1:0	1,40 ± 0,13	21,56 ± 0,31
1B	1:0,9:0,1	0,25 ± 0,09	20,57 ± 1,89
1C	1:0,85:0,15	0,27 ± 0,02	15,87 ± 1,20

De acordo com os dados observados, todas as membranas apresentaram baixos valores de resistência mecânica no estado úmido, variando de 0,25 a 1,40 MPa. Esses valores são inferiores aos relatados para membranas secas à base de quitosana, que variam entre 6,86 e 31,14 MPa (VEIGA & MORAES, 2012; BELLINI *et al.*, 2012; BUENO & MORAES, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2008). No entanto, estas amostras apresentaram elevados índices de alongamento, 21,56% para membranas sem adição de beta-Glucana e 20,57 e 15,87% para membranas preparadas com proporção mássica de 0,1 e 0,15 de beta-Glucana,

respectivamente. Os valores de tensão na ruptura das membranas úmidas preparadas na presença de diferentes concentrações mássicas de beta-Glucana aparentemente não diferiram entre si, no entanto, a adição deste polímero na formulação dos biocurativos acarretou grande queda na resistência, bem como no alongamento na ruptura.

Figura 05. Tensão (MPa) dos biocurativos durante o teste de alongamento. Amostras úmidas contendo, em média, 10 g de água por grama de membrana seca.



3.7 INCORPORAÇÃO E CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS

A eficiência de incorporação do fármaco nos biocurativos foi calculada por meio das medidas de absorbância a 253 nm das soluções de lavagem das membranas. Verificaram se altos valores de eficiência de incorporação por adição à mistura polimérica, variando de cerca de 90 a 98%, como mostrado na **Tabela 05** e a cinética de liberação do fármaco é apresentada na **Figura 06**.

BUENO, 2015 obteve resultados variáveis de 72 a 86% de eficiência em incorporação de antimicrobiano em suas membranas baseadas em quitosana e alginato, sendo a incorporação não relacionada ao nível de porosidade da membrana, e sim, de acordo com as interações com o polissacarídeo. Em nosso estudo, percebe-se que a formulação intermediária - 1Q:0,9X:0,1G apresentou melhor eficiência na incorporação da bacitracina, tanto na proporção de 1,5 mg/mL, quanto na proporção de 3,5 mg/mL, indicando que a beta-Glucana exerce influência na incorporação do fármaco.

Tal qual a avaliação da impregnação de bacitracina nas membranas, o estudo da cinética de liberação dos fármacos nos permite inferir que a formulação com concentração

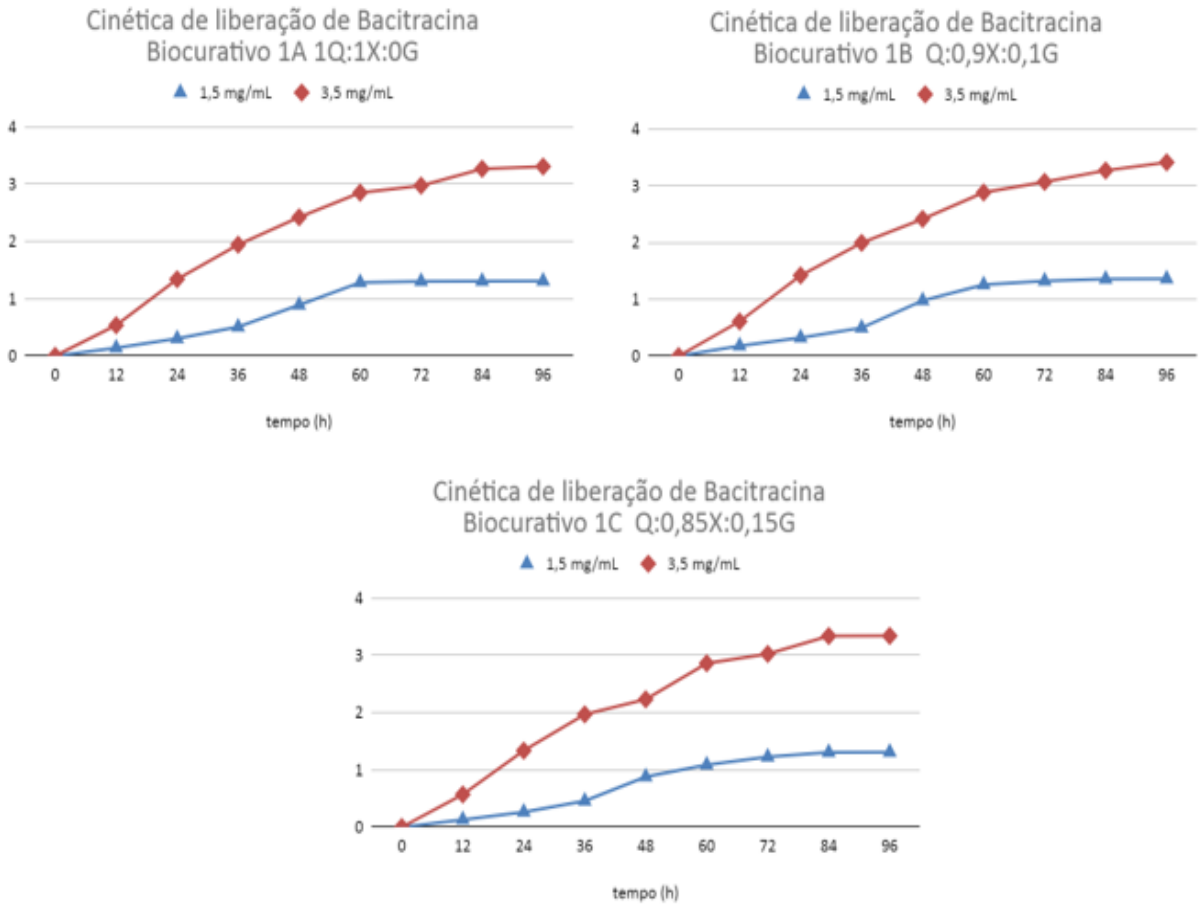
intermediária de beta-Glucana (1Q:0,9X:0,1G) obteve melhores resultados na cinética de liberação de antimicrobiano, 1,36 mg/mL para a concentração de 1,5mg/mL de bacitracina. No entanto, para a concentração de 3,5mg/mL, a formulação que obteve melhores resultados, 3,43 mg/mL, foi a formulação 1C (1Q:0,85X:015G). Além disso, percebe-se que quanto maior a concentração de bacitracina incorporada, maior a cinética de liberação. Tal máxima pode ser observada quando se compara os resultados, de uma mesma formulação, das membranas incorporadas com 1,5mg/mL de bacitracina, com aquelas que apresentam, em sua corporação, 3,5mg/mL de bacitracina em sua composição

Tabela 05. Eficiência de incorporação de Bacitracina por difusão do fármaco nas membranas proporções de 1,5 e 3,5 mg/mL.

Formulação	Proporção mássica Q:X:G (g/g)	Bacitracina adicionada (mg/mL)	Bacitracina incorporada (mg/mL)	Eficiência de incorporação (%)
1A	1:1:0	1,5	1,35 ± 0,02	90,00 ± 1,33
		3,5	3,39 ± 0,006	96,85 ± 0,19
1B	1:0,9:0,1	1,5	1,40 ± 0,01	93,55 ± 1,03
		3,5	3,43 ± 0,02	98,19 ± 0,69
1C	1:0,85:0,15	1,5	1,29 ± 0,03	86,44 ± 2,37
		3,5	3,42 ± 0,02	97,90 ± 0,63

Brazilian Journal of health Review

Figura 06. Cinética de liberação de Bacitracina em PBS, a 37°C, para as formulações 1A, 1B e 1C preparada na presença de diferentes proporções do antimicrobiano: 1,5 mg/mL e 3,5 mg/mL.



BUENO (2015) no desenvolvimento de biomembranas de quitosana e alginato contendo polihexametileno biguanida (PHMB) observou que as quantidades de antimicrobianos foram baixas em relação à quantidade incorporada, variando de 0,8 a 4,5 mg/g, valores abaixo do considerado irritante para a pele de 5% m/m. A formulações sem tensoativo, bem como as que levam 10% de tensoativo em sua composição, na presença de 10mg/g de antimicrobiano, obteve liberação de 0,8 mg/g, quantidade abaixo do mínimo considerado ativo, de 1mg/g de acordo com ARCH CHEMICALS, 2008.

4 CONCLUSÃO

Os resultados dos testes de caracterização físico-química das formulações escolhidas para darmos sequência ao projeto de pesquisa indicam que a adição de beta-Glucana na composição química do material interfere de maneira significativa nas propriedades dos materiais obtidos. As formulações com beta-Glucana são mais finas, absorvem menos água

e solução salina e apresentam menor resistência à tração. Entretanto, as alterações nestas características não impossibilitam a utilização do biomaterial como curativo dermo-epidérmico, ao contrário, algumas mudanças características foram até interessantes para a função. As formulações com beta-Glucana mostraram-se transparentes e finas (0,05 mm de espessura em média), apresentaram adequada capacidade de drenagem e ótima absorção de Fluido Corpóreo Simulado - FCS (0,4g FCS/g do biomaterial seco, em média) e excelente alongamento quando úmida (de 15 a 20% de elasticidade). Todas as formulações testadas tiveram eficiência de incorporação de Bacitracina acima de 87% e liberação controlada do fármaco em 96 horas. Tais resultados nos estimulam a testar as interações biológicas *in vitro*, para dar continuidade no projeto, buscando assim, a viabilidade para uso desse tipo de material como curativo dermoepidérmico bioativo.

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq Chamada UNIVERSAL 2016

REFERÊNCIAS

ATAÍDE, R. K. F.. Membranas à base de quitosana, poli (álcool vinílico) e casca de banana madura visando aplicação como curativo cutâneo. **Universidade Federal da Paraíba**. João Pessoa. 2018.

ARCH CHEMICALS. Polyhexamethylene Biguanide (PHMB). Product stewardship summary. 2008. Disponível em <http://www.archchemicals.com/Fed/Corporate/Docs/ACC/ACC_PHMB. pdf>. Acesso em Abril/2020.

BELLINI, M. Z., PIRES, A. L. R., VASCONCELOS, M. O., & MORAES, A. M. Comparison of the Properties of Compacted and Porous Lamellar Chitosan–Xanthan Membranes as Dressings and Scaffolds for the Treatment of Skin Lesions. **Journal of Applied Polymer Science**, Vol. 125, E421–E431, 2012.

BELLINI, Márcia Zilioli; OLIVA-NETO, Pedro de; MORAES, Ângela Maria. Properties of films obtained from biopolymers of different origins for skin lesions therapy. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 2, p. 289-299, 2015a.

BELLINI, M. Z., CALIARI-OLIVEIRA, C., MIZUKAMI, A., SWIECH, K., COVAS, D. T., DONADI, E. A. & MORAES, A. M. Combining xanthan and chitosan membranes to multipotent mesenchymal stromal cells as bioactive dressings for dermo-epidermal wounds. **Journal of biomaterials applications**, v. 29, n. 8, p. 1155-1166, 2015b.

BUENO, C.; MORAES, A.M. Development of porous lamellar chitosan-alginate membranes: effect of different surfactants on biomaterial properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, p.624-631, 2011.

BUENO, Cecília Zorzi. Desenvolvimento e análise das propriedades de membranas de quitosana e alginato contendo polihexametileno biguanida para o tratamento de lesões de pele. Tese (doutorado) - **Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química**, Campinas, 2015.

DE OLIVA-NETO, P., OLIVEIRA, S. S., ZILIOLI, E., & BELLINI, M. Z. Yeasts as potential source for prebiotic β-glucan: **Role in human nutrition and health. Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health**. InTech, p. 331-244, 2016.

GIRATA, A. K. "Desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata". Dissertação de mestrado; Faculdade de Engenharia Química – **Universidade Estadual de Campinas***;* Campinas, 2011.

LOCILENTO, D.A. Produção e caracterização de mantas de nanofibras poliméricas eletrofiadas contendo proantocianidinas e sua potencial aplicação no tratamento de lesões cutâneas, Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química; **Universidade Federal de São Carlos**; UFSCAR, 2018.

NAKASSE, T.S.L., CIANCA, L.O.A., DAMASCENO, Y.W., DA SILVA, T.G.Q., DA SILVA, V.D., TOFFOLI, L.M.N., BELLINI, M.Z. Padronização da produção de biocurativos Dérmo-Epidérmicos de Quitosana, Xantana e Beta-Glucana / Standardization of the production of Dermal-Epidermal biocuratives of Chitosan, Xantan and Beta-Glucan. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 3, p. 5496-5506, 2020.

PIRES, A.L.R. ―Desenvolvimento de curativos flexíveis e neutralizados de quitosana e alginato contendo AlphaSan® RC2000‖; Dissertação de mestrado*;* **Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas**; Campinas, 2013.

RODRIGUES, A. P. Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - **Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, 2008.

VEIGA, I. G. e MORAES A.M. Study of the swelling and stability properties of chitosanxanthan membranes. **Journal of Applied Polymer Science***;* v. 124, n. 1, SI, p. 154-160, 2012.

WAN, Y.; WU, Q.; WANG, S.; ZHANG, S.; HU, Z. Mechanical properties of porous polylactide/chitosan blend membranes. Macromolecular Materials and Engineering, v. 292, p. 598-607, 2007.

WANG, L.; KHOR, E.; WEE, A.; LIM, L.Y. Chitosan-alginate PEC membrane as wound dressing: Assessment of incisional wound healing. Journal of Biomedical Materials Research, v. 63, p. 610-618, 2002.