

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA  
CONTENDO EXTRATO BRUTO DE *Arrabidaea chica* (Humb&Bonpl.) B. Verlot  
(BIGNONIACEAE)**

**TECHNOLOGICAL DEVELOPMENT OF CHITOSAN MEMBRANES CONTAINING  
GROSS EXTRACT OF *Arrabiadaea chica* (Humb & bonpl.) B. Verlot  
(BIGNONIACEAE)**

**Carla Luiza Scnell de Andrade; Helóise de Fáima Andrade<sup>1</sup>; Amanda Martinez;  
Lyra<sup>2</sup>; Vanessa Barbosa<sup>2\*</sup>**

**1 – Acadêmicas do Curso de Farmácia do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais  
2 – Farmacêuticas Orientadoras**

**RESUMO:**

Polímeros biodegradáveis têm sido amplamente estudados devido a sua versatilidade de aplicação. A quitosana é um polímero natural muito utilizado no desenvolvimento de curativos por apresentar atividades cicatrizante e antimicrobiana. A incorporação de extratos vegetais com propriedades anti-inflamatórias e cicatrizante à membrana pode auxiliar no tratamento de feridas, como por exemplo, a planta *Arrabidaea chica*. O objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar membranas de quitosana com viscosidade de 74 e 199,5 cps contendo extrato bruto de *A. chica*. Foram realizadas reações de caracterização da planta, desenvolvimento e caracterização das membranas, avaliando a morfologia de superfície e fratura, teste de ruptura, taxa de transmissão de vapor d'água, porosidade e atividade antimicrobiana. As reações fitoquímicas evidenciaram presença de taninos, flavonoides e antraquinonas. As membranas inertes mostraram-se levemente amarelada, já as com extrato, marrom esverdeada. As membranas com extrato de ambas as quitosanas apresentaram elevados valores de deformação, o que indica a boa flexibilidade. Morfológicamente as membranas de 74 cps apresentaram superfícies lisas, homogêneas e com presença de poros nas eletromicrografias (FEG). As membranas de 199,5 cps mostraram superfícies rugosas, com formação de grumos visíveis e poucos poros. A taxa de transmissão de vapor d'água e taxa de porosidade para as membranas de quitosana foram, respectivamente, 149,87 mL/m<sup>2</sup>/dia e 25,9% (74 cps); 154,49 mL/m<sup>2</sup>/dia e 13,4% (199,5 cps). Os resultados obtidos sugerem que as membranas de 74 cps apresentaram as melhores características, contudo nenhuma membrana apresentou halo de inibição de crescimento para os microrganismos testados. Porém, são necessários maiores estudos da formulação para possível utilização em feridas cutâneas.

**Palavras – chave:** quitosana; curativos; *Arrabidaea chica*.

**ABSTRACT:**

Biodegradable polymers have been widely studied because of their versatility of application. Chitosan is a natural polymer very used in the development of dressings because it has healing and antimicrobial activities. The incorporation of plant extracts with anti-inflammatory properties and healing to the membrane can aid in the treatment of wounds, as for example, the plant *Arrabidaea chica*. The objective of this work was to prepare and characterize chitosan membranes with viscosity of 74 and 199.5 cps containing crude extract of *A. chica*. Plant characterization reactions, membrane development and

characterization were performed, evaluating surface and fracture morphology, rupture test, water vapor transmission rate, porosity and antimicrobial activity. The phytochemical reactions evidenced the presence of tannins, flavonoids and anthraquinones. The inert membranes were slightly yellowish, and the extracts were greenish-brown. The membranes with extract of both chitosan showed high values of deformation, indicating good flexibility. Morphologically the membranes of 74 cps presented smooth, homogeneous surfaces with presence of pores in the electromicrographs (FEG). The 199,5 cps membranes showed rough surfaces, with formation of visible lumps and few pores. The water vapor transmission rate and porosity rate for the chitosan membranes were, respectively, 149.87 mL/m<sup>2</sup>/day and 25.9% (74 cps); 154.49 mL/m<sup>2</sup>/ day and 13.4% (199.5 cps). The results obtained suggest that the membranes of 74 cps presented the best characteristics, however no membrane presented growth inhibition halo for the tested microorganisms. However, further studies of the formulation are necessary for possible use in cutaneous wounds.

**Keywords:** chitosan, healing, *Arrabidaea chica*

## 1 – INTRODUÇÃO

Segundo o Ministério da Saúde (2011) as feridas possuem diversas etiologias e formam uma condição complexa multifatorial ainda pouco conhecida, sendo muitos estágios influenciados pela oxigenação do tecido. As feridas crônicas e agudas afetam no mínimo 1% da população. São classificadas como crônicas quando as feridas não completam a cicatrização no tempo esperado, habitualmente até 30 dias.

A cicatrização é definida como um conjunto de processos complexos que ocorrem em diferentes etapas visando o reparo tecidual. O processo de reparação tecidual é dividido em quatro fases: hemostasia, onde ocorre a liberação de substâncias vasoativas responsáveis pela vasoconstrição local, diminuindo assim a perda de sangue para o meio extracelular; inflamatória, onde ocorre a liberação de mediadores químicos e células envolvidas no processo inflamatório; proliferativa, onde a área lesionada é reparada por tecido conjuntivo e epitelial; e remodelamento ocorrendo formação do tecido cicatricial composto por colágeno e com pouca vascularização (OLIVEIRA; DIAS, 2012; SZWED; SANTOS, 2015).

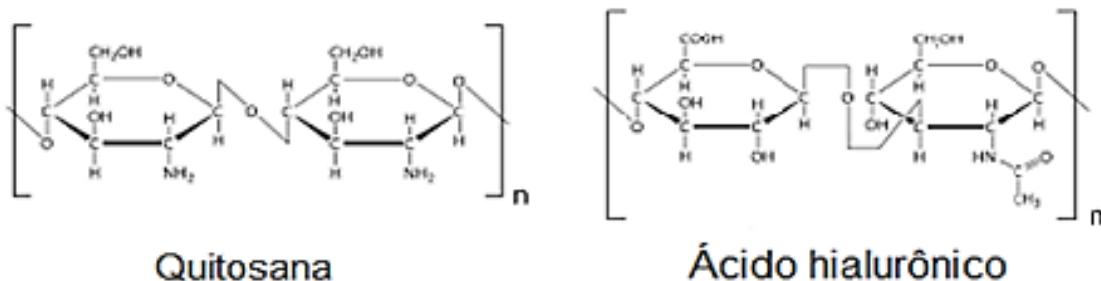
Os principais requisitos para um curativo ideal são: oferecer proteção mecânica, ser livre de substâncias tóxicas e irritantes, proteger contra entrada de microrganismos, criar um ambiente úmido para cicatrização, permitir trocas gasosas com o ambiente, não incomodar o paciente, proteger a pele de exsudação e excesso de umidade, não provocar dor quando aplicado ou removido, ser de baixo custo, moldar-se a região da ferida, funcionar efetivamente sob compressão, não necessitar de trocas frequentes, manter a ferida em pH ótimos e ser resistente à água e facilmente removível (BUENO, 2015).

Dentre os polímeros utilizados para o preparo de curativos destaca-se a quitosana, empregada na forma de filmes ou membranas para serem utilizadas em feridas e queimaduras, também como modelo para enxerto de pele, agente homeostático e material para sutura cirúrgica.

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da desacetilação da quitina, encontrada abundantemente no exoesqueleto de crustáceos como caranguejo e camarão (ABREU et al., 2013).

A estrutura química desse polímero é parecida com a estrutura do ácido hialurônico (Figura 1), sendo indicado como agente cicatrizante, é capaz de aumentar as funções das células inflamatórias como macrófagos e leucócitos polimorfonucleares organizando as células e reparando as feridas, como agente antimicrobiano é eficaz contra bactérias Gram-positivas e negativas (CORDEIRO et al., 2015).

**Figura 1** – Comparação entre as estruturas da quitosana e do ácido hialurônico



Fonte: Kong et al. (2010)

O grau de desacetilação da quitosana influência nas propriedades físico-químicas e biológicas da membrana, como a pureza e viscosidade, variando nas diferentes condições de processamento, em consequência disso pode ocorrer a formação de filmes com características próprias (ROLIM et al., 2018; SANTOS, 2006).

Desta maneira, membranas a base de quitosana atuariam como curativos semi-occlusivos, possibilitando uma cicatrização rápida e efetiva, permitindo trocas gasosas, impedindo a permeação de microrganismos, mantendo assim as condições fisiológicas da matriz extracelular que viabilizam a organização e proliferação das células do paciente (BUENO, 2015).

A utilização de espécies vegetais com propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes tem sido aplicada as membranas como uma forma alternativa para o tratamento de feridas cutâneas (KOGA, 2017; LEMES, 2016; MEDINA, 2014).

Koga (2017) mostrou o efeito benéfico após a incorporação do gel de babosa ao filme de alginato, através da melhora significativa das lesões cirúrgicas de ratos *Wistar*, evidenciando menor quantidade de células inflamatórias, aumento da angiogênese e elevada produção de fibras de colágeno tipo I.

*Arrabidaea chica*, popularmente conhecida como crajiru tem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes. As folhas são utilizadas no tratamento de feridas cutâneas para auxiliar no processo de cicatrização. A cor avermelhada do extrato da planta deriva das antocianinas e pigmentos flavônicos responsáveis pela atividade antioxidante (CHAGAS, 2016; FERREIRA et al., 2016; MEDINA, 2014).

Esta espécie encontra-se na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), plantas que necessitam de um estudo complementar, pois se tratam de espécies nativas ou exóticas de uso popular, que podem futuramente ser utilizadas como fitoterápicos disponíveis no Sistema Público de Saúde (SUS) (MEDINA, 2014; RENISUS, 2009).

Este trabalho tem como objetivo desenvolver membranas de quitosana (74 e 199,5 centipoise - cps), incorporadas com extrato bruto de *A. chica*.

## **2 MATERIAL E METÓDOS**

### **2.1 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO MATERIAL VEGETAL**

#### **2.1.1 Reações de Caracterização**

As reações de caracterização foram realizadas conforme Costa (2001).

##### **2.1.1.1 Taninos**

Para solução extrativa de taninos, foi pesado aproximadamente 3 g da planta pulverizada em um béquer. Posteriormente foram adicionados 50 mL de água destilada, a qual foi fervida por 2 minutos. A solução foi filtrada em papel filtro e utilizada para as reações de caracterização.

###### **2.1.1.1.1 Reação com cloreto férrico**

Para reação de cloreto férrico foi adicionado 1 mL da solução extrativa em tubo de ensaio e adicionou-se 3 gotas de cloreto férrico 2% (escorrendo pela parede do tubo).

###### **2.1.1.1.2 Reação com acetato de chumbo**

Em um tubo de ensaio foi adicionado 3 mL da solução extrativa e 3 gotas da solução de acetato de chumbo 10%.

###### **2.1.1.1.3 Reação com acetato de chumbo e ácido acético glacial**

Foi utilizado 3 mL da solução extrativa em um tubo de ensaio a qual foi adicionada

2 mL de ácido acético glacial 10% e após, 3 mL de acetato de chumbo 10%.

### **2.2.1.2 Flavonoides**

Para solução extrativa de flavonoides foram utilizados 3 g da planta pulverizada e 15 mL de etanol 70%. A mistura foi fervida por 2 minutos. Filtrada em papel filme e utilizada para as reações.

#### **2.2.1.2.1 Reação de Shinoda**

Em um tubo de ensaio foi adicionado fragmentos de magnésio metálico com 5 mL da solução extrativa. Posteriormente foi acrescentado, lentamente, pela parede do tubo, 1,0 mL de ácido clorídrico concentrado.

#### **2.2.1.2.2 Reação com cloreto férrico**

A solução extrativa (1 mL) foi diluída em 4 mL de água destilada e colocada em tubo de ensaio, adicionando 1 gota de cloreto férrico a 2% (escorrendo pela parede do tubo).

#### **2.2.1.2.3 Reação com hidróxido de sódio**

Foi diluído 1 mL da solução extrativa em 4 mL de água destilada. Transferida para um tudo de ensaio e adicionado 2 gotas de hidróxido de sódio 5 %.

### **2.2.1.3 Saponinas**

Aproximadamente 2 g da droga vegetal e 10 mL de água destilada foram fervidas por 2 minutos. A solução extrativa foi transferida para um tubo de ensaio onde foi tampada e agitada vigorosamente por 20 segundos. A formação da espuma foi marcada com caneta e deixada em repouso, após 10 minutos foi observada.

#### **2.2.1.4 Antraquinonas (antracênicos)**

Técnica empregada para detectar a presença de agliconas antraquinônicas. Foi

pesado 0,5 g da droga vegetal seca pulverizada e colocada em um tubo de ensaio, onde foi adicionado 4mL de éter etílico e agitada suavemente por 2 minutos. A mistura foi filtrada em algodão para um tubo de ensaio e adicionado 1mL de solução de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 10%. Posteriormente foi observada a coloração.

## 2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

O extrato bruto foi obtido por maceração. As partes aéreas secas de *Arrabiadea chica* (50 g) foram trituradas e pesadas, e posteriormente foram deixadas em maceração com etanol absoluto por 7 dias ao abrigo de luz. Decorrido o período de extração a amostra foi filtrada e armazenada em frasco âmbar.

## 2.4 DESENVOLVIMENTO DAS MEMBRANAS

As membranas foram produzidas no laboratório de Farmácia do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais.

### 2.4.1 Preparo das soluções de quitosana

Foram pesados 1,5% das quitosanas 74 cps e 199,5 cps e solubilizadas em 1% e 10% de ácido acético, respectivamente, completando-se o volume final (250 mL) com água destilada. As soluções foram mantidas sob agitação magnética por 24h para posterior preparo das membranas.

### 2.4.2 Preparo das membranas de quitosana

As membranas foram preparadas com as soluções de quitosanas (74 cps e 199,5 cps) e glicerina pelo método *casting* (BEPPU et al., 2015).

A glicerina foi adicionada às soluções de quitosana (previamente solubilizadas em ácido acético) e mantidas sob agitação magnética a 40°C por 3h.

Para as formulações com extrato, o mesmo foi incorporado após o procedimento acima, e a formulação foi mantida sob agitação por 10 min, para homogeneização.

As composições das formulações desenvolvidas estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Composição das formulações desenvolvidas

<b>Formulações</b>	<b>Quitosana (em solução)</b>	<b>Glicerina</b>	<b>Extrato bruto</b>
<b>74 cps inerte</b>	1,5%	5%	-
<b>74 cps com extrato</b>	1,5%	5%	2%
<b>199,5 cps inerte</b>	1,5%	5%	-
<b>199,5 cps com extrato</b>	1,5%	5%	2%

Fonte: o autor

As soluções filmogênicas foram levadas ao ultrassom para auxiliar na solubilização e retiradas das bolhas formadas. Logo após, foram vertidas em placa de Petri e secas em temperatura estufa a 37 °C.

## **2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS POLIMÉRICAS**

### **2.5.1 Análise Subjetiva**

As membranas foram avaliadas de forma visual e tátil em relação a continuidade (ausência de ruptura após secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis ou bolhas de ar) e manuseabilidade (possibilidade de ser manuseado facilmente sem risco de ruptura) (FRANCO, et al., 2014).

### **2.5.2 Espessura**

A medida da espessura dos filmes foi realizada com micrômetro manual, com resolução de 0,001 mm (DIGIMESS), em 5 posições aleatórias para cada amostra.

### **2.5.3 Análise por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG)**

As eletromicrografias foram realizadas no complexo do laboratório multiusuário (c-LABMU) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

A avaliação morfológica da superfície e da secção transversal foi realizada em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (TESCAN, modelo Mira 3). As membranas foram cortadas e fixadas em suporte e metalizados com ouro em metalizador

IC-50 Ion Coater (SHIMADZU). As eletromicrografias foram obtidas empregando voltagens de aceleração de 10 kV. O registro das imagens foi obtido por meio de *software* específico.

#### **2.5.4 Caracterização das propriedades mecânicas: teste tensão de ruptura das membranas**

Os testes foram realizados no Laboratório de Ensaios Mecânicos do curso de Engenharia de materiais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

As membranas foram cortadas nas dimensões de 50x20 mm e condicionados em dessecadores contendo solução salina de nitrato de magnésio pelo período de 48 horas. Após o condicionamento, os ensaios de tração foram realizados com o auxílio uma máquina universal de ensaios mecânicos. As propriedades determinadas foram resistência máxima a tração, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade. As medidas foram realizadas em triplicata para cada formulação.

#### **2.5.5 Determinação da taxa de transmissão de vapor d'água (TTVA)**

A transmissão do vapor de água pelos filmes foi avaliada através do protocolo descrito por Lin et al. (2013) e Antunes et al. (2015) com modificações.

Tubos de ensaio de vidro contendo 10 mL de água destilada foram fechados com os filmes com o auxílio de uma fita veda rosca. Em seguida os tubos foram pesados e colocados em estufa a 37 °C. Filmes não vedados foram usados como controle. Os tubos foram pesados em períodos pré-determinados (24 e 48 hrs). A taxa de transmissão de vapor de água (TTVA) foi calculada pela equação 1:

$$\text{TTVA} = \frac{P_p}{A} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:  $P_p$  é a massa de água perdida em 24h e  $A$  a área de abertura do tubo. Este teste foi realizado em quintuplicata.

#### **2.5.6 Porosidade**

A porosidade ( $P$ ) dos filmes foi determinada segundo o método de Antunes e colaboradores (2015), com modificações. Este método baseia-se na quantidade de

solvente absorvida por fragmentos dos filmes durante a imersão. Os filmes foram seccionados (2 cm x 2 cm) e deixados imersos em etanol 95% durante 1 hora. Após o período de imersão, a espessura dos filmes foi medida com auxílio de um micrômetro. Este teste foi realizado em triplicata. O valor de P foi calculado a partir da equação 2:

$$P\% = \frac{P_u - P_s}{d_{etanol} V_{filme}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:  $P_u$  e  $P_s$  são as massas das amostras úmidas e secas, respectivamente;  $d_{etanol}$ : densidade do etanol e  $V_{filme}$ : volume dos filmes úmidos (valor obtido através da espessura).

## 2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As membranas preparadas foram submetidas à avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar. Foram utilizadas cepas padrão ATCC® de *Candida albicans* (ATCC® 90028), *Escherichia coli* (ATCC® 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923), recém-cultivadas (24-30h), isoladas a partir de meio de cultura não seletivo. O meio de cultura utilizado foi Ágar Müller-Hinton, em placas de Petri.

Foi preparada uma suspensão em salina estéril (NaCl 0,9%) com turvação grau 0,5 na escala McFarland.

As membranas foram cortadas em discos de 5 mm de diâmetro e colocadas sobre os meios inoculados com os microrganismos. As placas foram incubadas a 36°C por 24 h. após o período de incubação, observou-se a homogeneidade do crescimento e possíveis halos de inibição (SILVA et al., 2011).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DA DROGA VEGETAL

O resultado da pesquisa fitoquímica encontra-se descrito na tabela 2.

**Tabela 2 - RESULTADO DA PESQUISA FITOQUÍMICA**

METABÓLITO SECUNDÁRIO	TESTE	RESULTADO
FLAVONOIDES	Shinoda	+
	Cloreto de alumínio	+
	Hidróxido alcalino	+
TANINOS	Acetato de cobre	+
	Acetato básico de chumbo	+
TANINOS HIDROLISÁVEIS	Acetato básico de chumbo	+
	Cloreto férrico	+
TANINOS CONDENSADOS	Água de bromo	+
SAPONINAS	Teste da espuma	-

NOTA: (+) presença, (-) ausência.

Os resultados obtidos no screening fitoquímico de *A.chica* estão condizentes com o descrito na literatura (MEDINA, 2014; SANTOS, 2015).

### 3.2 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

Para o preparo da solução contendo a quitosana de 199,5 cps foi necessário maior concentração de ácido acético (10%), devido à má solubilização quando utilizado 1%. Isso pode ter ocorrido devido ao fato da quitosana de 199,5 cps apresentar maior viscosidade quando comparada a de 74 cps. Foi utilizado o método *casting*, que consiste na dissolução do polímero em uma concentração específica de solvente, onde posteriormente a solução (já com a glicerina) é vertida em placa de petri e levadas a estufa para evaporação do solvente (BEPPU et al., 2015).

A formação do filme depende de vários fatores, como o grau de acetilação da quitosana, viscosidade, densidade, tamanho da partícula, interação com outros componentes da formulação (CORDEIRO, 2010; ZIVANOVIC, CHI, DRAUGHON, 2005).

#### 3.2.1 Análise subjetiva

Esta análise refere-se à aparência do filme avaliada por observações táteis e

visuais. As membranas poliméricas obtidas devem apresentar superfícies homogêneas e contínuas. A avaliação subjetiva classifica a membrana polimérica segundo sua continuidade (se houve ruptura da membrana após a secagem), homogeneidade (partículas visíveis a olho nu, opacidade ou diferença de cores) e manuseabilidade (facilidade do filme em se romper) (FRANCO, et al., 2014).

Durante o processo de fabricação das membranas, podem acontecer certas imperfeições que influenciam o desempenho dos produtos preparados com estes materiais. A avaliação subjetiva consente a descoberta de pontos relacionados com a aparência e a formação da membrana que podem influenciar no seu desempenho mecânico sob os pontos de vista de manuseabilidade, resistência e aspecto visual (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Os resultados da avaliação subjetiva dos filmes encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2 – Resultados da avaliação subjetiva das membranas obtidas**

Formulação	Continuidade	Manuseabilidade	Homogeneidade
Quitosana 74 cps inerte	XX	XX	XXX
Quitosana 74 cps com extrato	XXX	XXX	XXX
Quitosana 199,5 cps inerte	XX	XX	X
Quitosana 199,5 com extrato	XXX	XXX	X

Legenda: xxx excelente, xx boa, x deficiente. Fonte: o autor.

As membranas com a quitosana de 74 cps apresentaram diferentes colorações, sendo a inerte levemente amarelada, e a com extrato, marrom esverdeada. Contudo, ambas ficaram flexíveis, com superfície lisa, transparentes, com excelente homogeneidade. Porém a manuseabilidade e continuidade da membrana se mostrou melhorada com a adição do extrato.

Já as membranas com a quitosana de 199,5 cps apresentaram superfície levemente rugosa com formação de grumos em ambas às formulações, caracterizando deficiência na homogeneidade, devido a sua maior viscosidade. Na membrana inerte observou-se coloração levemente amarelada e com extrato, marrom esverdeada. Apresentaram boa flexibilidade, contudo a membrana com extrato obteve melhor elasticidade, manuseabilidade e continuidade.

O plastificante utilizado também contribuiu para melhorar a característica da manuseabilidade e continuidade, pois o mesmo possui a capacidade de diminuir as pontes de hidrogênio entre as cadeias de polímeros e de interferir no espaço molecular, alterando assim, a flexibilidade dos filmes. Cervera et al. (2004), ao desenvolver membranas de amido com quitosana utilizando diferentes plastificantes, relataram que as membranas desenvolvidas com glicerol apresentaram melhor continuidade do que os outros plastificantes utilizados em igual concentração. Dias (2008), avaliou filmes de amido com 20 e 30% de glicerol, em relação à concentração de amido da formulação e observou que quantidades maiores de plastificante melhoraram as características de manuseabilidade e continuidade dos filmes.

### **3.2.2 Espessura**

Os valores de espessura estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3 – Valores de espessura das formulações obtidas**

<b>Formulação</b>	<b>Espessura (mm)</b>
<b>Quitosana 74 cps inerte</b>	0,270
<b>Quitosana 74 cps com extrato</b>	0,281
<b>Quitosana 199,5 cps inerte</b>	0,178
<b>Quitosana 199,5 cps com extrato</b>	0,187

Fonte: o autor

A espessura é um parâmetro que depende de fatores como a concentração dos polímeros, presença de aditivos, quantidade de solução filmogênica adicionada na placa e processo de obtenção dos mesmos. Neste sentido, é possível encontrar na literatura uma ampla faixa de variação desta para filmes biodegradáveis (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). As membranas de 74 cps (inerte e com extrato) apresentaram maior espessura em relação às membranas de 199,5 cps.

A incorporação do extrato conferiu um aumento na espessura das membranas, conforme observado em outros trabalhos (GALINDO, 2017; LEMES, 2016). Galindo (2017) verificou que os filmes de gelatina e quitosana contendo óleo essencial de orégano e

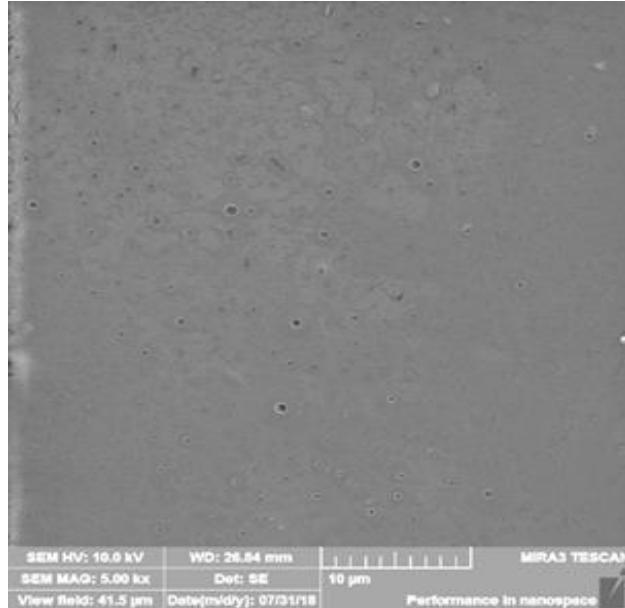
alecrim apresentaram espessura média de 0,203 e 0,165 mm, respectivamente, demonstrando que a incorporação dos óleos essenciais, aumentaram a espessura dos filmes.

Outro fator a ser observado é com relação ao espalhamento das soluções filmogênicas viscosas sobre a placa durante o processo de produção tipo *casting*. Essa é uma etapa que exige atenção, no entanto ainda é um parâmetro pouco estudado (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

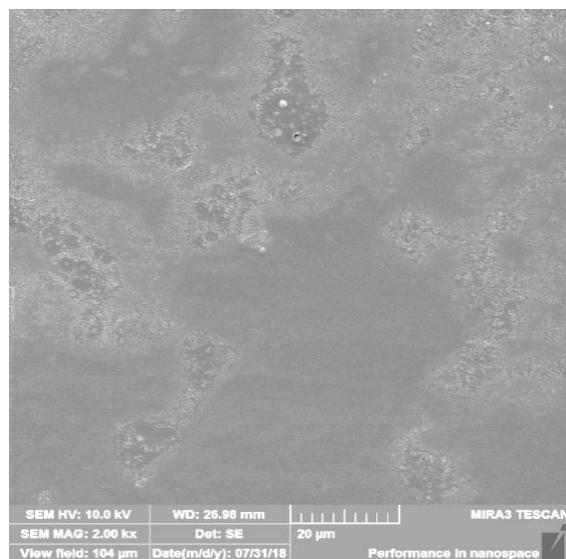
### 3.2.3 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG)

A análise por microscopia eletrônica de varredura permitiu a visualização da superfície das membranas de quitosana, onde a de 74 cps mostrou-se lisa, compacta e com a presença de poros (Figura 2). Porém, a membrana obtida com a quitosana 199,5 cps apresentou superfície irregular e com menor quantidade de poros (Figura 3).

**Figura 2 – FEG da superfície da membrana de quitosana 74 cps**



**Figura 3 – FEG da superfície da membrana de quitosana 199,5 cps**



A membrana de 74 cps apresentou maior formação de poros em sua superfície o que pode ser favorável para aplicação do mesmo em feridas cutâneas. A presença de poros pode facilitar reorganização celular dando inicio assim a angiogênese, que irá permitir a formação de um tecido novo no local lesionado. Além disso, podem apresentar maior capacidade de absorção de água, sendo indicadas para o uso em feridas com exsudato (BUENO, 2015; JI et al., 2011).

### 3.2.4 Ensaios Mecânicos

Com o objetivo de investigar as propriedades mecânicas das membranas, os valores de  $\sigma$ , Y e  $\epsilon$  foram determinados por testes de tração e estão mostrados na Tabela 4, expressos através da média das triplicatas.

**Tabela 4 – Propriedades mecânicas dos filmes obtidos**

<b>Formulação</b>	<b>Tensão na ruptura (<math>\sigma</math>)</b>	<b>Deformação (<math>\epsilon</math>)</b>	<b>Módulo de Young (Y)</b>
	(N/mm <sup>2</sup> ± DP)	(%± DP)	(N/mm <sup>2</sup> ± DP)
<b>199,5 inerte</b>	2,46849 ± 0,223	22,6350 ± 2,39	4,52700 ± 1,32
<b>199,5 extrato</b>	4,04412 ± 0,375	200,2651 ± 4,37	40,0530 ± 3,56
<b>74 inerte</b>	3,27974 ± 0,238	34,4729 ± 3,26	5,32129 ± 2,47
<b>74 extrato</b>	6,57232 ± 0,321	223,1798 ± 5,29	58,1287 ± 3,75

Onde: N: Newton; DP: desvio padrão. Fonte: o autor

Os resultados indicam que os valores obtidos para a tensão na ruptura ( $\sigma$ ) foram maiores nas formulações contendo extrato. Observou-se que a adição de extrato nas membranas ocasionou pequenas alterações. Muito provavelmente esse comportamento foi devido à ocorrência de interações químicas entre a quitosana e os metabólitos secundários presentes no extrato.

As membranas apresentaram baixo  $\sigma$ , porém alta deformação na ruptura ( $\epsilon$ ). A formulação contendo extrato vegetal apresentou maior valor comparando com a sua formulação inerte. No trabalho realizado por Bitencourt et al.(2014) foi avaliado o acréscimo de extrato etanólico de cúrcuma em membranas de gelatina suína. Observou-se um aumento significativo na tensão e elongação quando concentrações acima de 50g de extrato / 100g de gelatina eram adicionadas. Essa prática foi atribuída às interações entre os compostos fenólicos presentes no extrato com a gelatina que pode ter colaborado para a formação de matrizes poliméricas mais coesas e flexíveis. Este resultado vai ao encontro do descrito para esse trabalho no qual foi observado que as formulações contendo extrato de ambas as quitosana apresentaram maiores valores de elongação quando comparada às suas formulações inertes. Altos valores de elongação sugerem boa flexibilidade e tenacidade.

As moléculas dos plastificantes apresentam tamanho reduzido, o que favorece a ocupação dos espaços entre as cadeias dos polímeros, formando com eles ligações de hidrogênio e dessa forma bloqueando as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares entre as cadeias poliméricas. Quando se adiciona glicerina às formulações, ocorre uma redução das forças intermoleculares entre as cadeias da gelatina, o que confere a flexibilidade aos filmes (RABELO, 2000). Normalmente, a presença de plastificantes ocasiona uma diminuição da  $\sigma$  e um aumento de  $\epsilon$ . (SOBRAL, 2000).

O módulo Young (Y) é a relação entre a resistência à tração e a porcentagem de alongamento e indica a rigidez da membrana, ou seja, quanto maior o valor do módulo Young mais rígido será a membrana (OLIVEIRA, 1996). Representa a máxima tensão que o material resiste sem sofrer deformação permanente. O Y da pele é de 4,6 – 20 Mpa, para ensaios de tração e pode variar conforme a idade, a cor da pele, presença de lesões e genética (MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015). Sendo assim, verificou-se que as formulações contendo extrato apresentaram valores maiores quando comparadas às formulações inertes. Segundo Mogoşanu e Grumezescu (2014), a adição de polímeros sintéticos pode melhorar a propriedades mecânicas das membranas, aumentando sua resistência. As duas formulações apresentaram valores de Y maiores que o da pele humana.

### 3.2.5 Determinação da taxa de transmissão de vapor d'água e porosidade

A TTVA das membranas depende das suas propriedades estruturais e das propriedades químicas dos materiais que são utilizados. Condições externas como umidade relativa do ar e temperatura também podem influenciar na TTVA. Um das funções da pele quando integra é servir de barreira à perda de água, esta e outras funções são perdidas, quando a pele está danificada. O valor de TTVA encontrado nesta formulação da quitosana de 74 cps foi de 149, 87 mL/m<sup>2</sup>/dia, enquanto que a de 199,5 cps foi de 154,49 mL/m<sup>2</sup>/dia. Sendo que o valor de TTVA da pele normal é de 204 mL/m<sup>2</sup>/dia (LIN et al., 2013; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015; VOWDEN; VOWDEN, 2014). Essas características assim como a espessura das membranas, influenciam intensamente as propriedades de barreira, conforme descrito por Santos (2006). A incorporação do extrato nas formulações não modificou sua TTVA.

A presença de poros em sistemas transdérmicos é importante porque permite a proliferação celular e trocas gasosas de nutrientes e de fluidos. Segundo Antunes et al (2015) e Morgado; Aguiar-Ricardo; Correia (2015) taxas entre 60-90% de porosidade são as mais indicadas. As membranas obtidas com a quitosana de 74 cps apresentaram valores de 25,9%, já aquelas obtidas com a quitosana de 199,5 cps evidenciaram valores de 13,4%. Os valores não variaram para formulações com extrato bruto de *A. chica*.

Membranas poliméricas oclusivas e semi-occlusivas apresentam maiores vantagens quando comparadas às não oclusivas, pois permitem criar um ambiente de reepitelização e favorecem um mecanismo de defesa eficaz contra microrganismos. Neste sentido, é mais viável impedir a entrada de bactéria no local inflamado/lesionado do que tentar controlar o crescimento das mesmas depois de instaladas na lesão.

## 3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As amostras formuladas com quitosana 74 e 199,5 cps, inertes e com extrato, apresentaram resultado negativo quanto à inibição do crescimento para os quatro microrganismos testados, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, com isso não foi possível obter os mesmos resultados demonstrados na literatura (KONG et al., 2010; GOY; BRITTO; ASSIS, 2009).

Lemes (2016) avaliou a atividade antimicrobiana de membranas de quitosana incorporadas com fração metanólica do extrato de *Euphorbia umbellata*, em três

concentrações. A formulação que apresentou melhores resultados inibitórios foi a membrana contendo a maior concentração de extrato testada, que foi capaz de inibir o crescimento de *C. albicans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, porém nenhuma das formulações conseguiu inibir a *E. coli*. Formulações contendo menor quantidade de extrato não demonstraram inibição satisfatória e a formulação inerte não apresentou halo de inibição para os microrganismos avaliados.

Isso pode explicar o fato das membranas formuladas com quitosana de 74 e 199,5 cps com extrato de *A. Chica* não demonstrarem inibição do crescimento dos microrganismos testados, pois apresentaram baixa concentração de extrato.

#### **4. CONCLUSÃO**

Em uma pesquisa fitoquímica preliminar a espécie *Arrabiadaea chica* evidenciou a presença de grupos de metabólitos secundários como: flavonoides, esteroides, terpenos e taninos.

O desenvolvimento e caracterização das membranas poliméricas demonstraram diferenças significativas entre as membranas obtidas com a quitosana de 74 cps e a de 199,5 cps.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura de superfície e de fratura dos filmes mostraram diferença entre as membranas obtidas, sendo que a de 74cps apresentou uma matriz polimérica lisa, homogênea e com presença de poros, enquanto que a de 199,5 cps evidenciou uma matriz polimérica rugosa e com menor quantidade de poros.

Nos ensaios mecânicos, as membranas com extrato de ambas quitosana apresentaram elevados valores de deformação, o que indica a boa flexibilidade.

Este trabalho contribuiu para a caracterização de membranas de quitosana com viscosidades diferentes e a partir dos resultados obtidos constatou-se que a membrana obtida a partir da quitosana de 74 cps foi a que apresentou os melhores resultados para ser empregada como uma forma alternativa de tratamento tópico para cicatrização da pele, entretanto maiores estudos serão necessários.

#### **5. REFERÊNCIAS**

ABREU, F. O. M. S., CAVALCANTE, L. G., DOUDEMENT, P. V., CASTRO, A. M., NASCIMENTO A. P. Propriedades e Características da Quitosana Obtida a Partir do

---

Exoesqueleto de Caranguejo-Uçá Utilizando Radiação de Microondas, **Polímeros Ciência e Tecnologia**, vol. 23, n. 5, p. 630-635, 2013.

ANTUNES, B. P.; MOREIRA, A.F.; GASPAR, V.M.; CORREIA, I. J. Chitosan/arginine-chitosan polymer blends for assembly of nanofibrous membranes for wound regeneration. **Carbohydrate polymers**, v. 130, p. 104-112, 2015.

BEPPU, M. M.; GENEVRO G. M.; GOMES R. J. N.; MORAES M. A. Obtenção e Caracterização de Membranas Microestruturadas de Quitosana e Glocomanana para Produção de Curativos. XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11., 2015, Campinas. **Anais do XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química e Iniciação Científica**. Campinas, 2015.

BITENCOURT, C. M.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; SOBRAL, P. J. A.; CARVALHO, R. A. Food hydrocolloids gelatina-based films additivated wih cúrcuma etanol extrat: Antioxidante activity and physical properties of films. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p.145-152, 2014

BUENO, Z.C., **Desenvolvimento e Análise das Propriedades de Membranas de Quitosana e Alginato contendo Polihexametileno Biguanida para o tratamento de lesões de pele**, 195f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade de Campinas, Campinas, 2015.

CERVERA, M. F.; HEINÄMÄKI, J.; KROGARS, K.; JÖRGENSEN, A. C.; KARJALAINEN, M. COLARTE, A. I.; YLIRUUSI, J. Solid-State and Mechanical Properties of Aqueous Chitosan-Amylose Starch Films Plasticized With Polyols. **American Association of Pharmaceutical Scientist (AAPS PharmSciTech)**, v.5, n. 1, 2004.

CHAGAS, S. S. M. **Potencial terapêutico da Espécie Vegetal *Arrabidaea chica* Verlot**, f. 64, Monografia (Especialização em Gestão de Inovação de Fitomedicamentos), Instituto de Tecnologia de Fármacos - Farmanguinhos, Fio Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

CORDEIRO, C. M. S. Desenvolvimento de filmes bioactivos a partir do quitosano. 86f. Dissertação (Mestrado em Engenharia alimentar), Instituto superior de agronomia, Universidade técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

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

COSTA, A.F, **Farmacognosia**, 3 edição, Editora Fundação Calouste Gublenkian, 2001.

DIAS, A. B. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz.** 116f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

FERREIRA, F. A. G., SILVA, F. C.; CARVALHO, C. M.; COSTA, J.C.; FERREIRA, J. M. R. Perfil hematológico e bioquímico plasmático de camundongos após ingestão da planta *Arrabidaea chica*, **Scientia Plena**, v. 12, n. 9, p.1-7, 2016.

FRANCO, P. B.; ALMEIDA, L. A.; MARQUES, R. F. C.; SILVA, M. A.; CAMPOS, M. G. N. Membranas a Base de Quitosana e Casca de Banana Verde para Cicatrização de Lesões Cutâneas, In: **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 21º CBECIMAT, Cuiabá, p.7325-7332, 2014.

GALINDO, M. V. Filmes biodegradáveis de gelatina e quitosana com adição de óleos essenciais na conservação de presunto embalado a vácuo. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Londrina, 2017.

GOY, R. C.; BRITTO, D. de; ASSIS, O. B. G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.

JI, C.; ANNABI, N.; KHADEMHSSEINI, A.; DEHGHANI, F. Fabrication of porous chitosan scaffolds for soft tissue engineering using dense gas CO<sub>2</sub>. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n.4, p. 1653-1664, 2011

KOGA, A. Y. avaliação do efeito cicatrizante de filmes de alginato contendo gel de babosa *Aloe vera* (L.) Burm. f. 71f. Dissertação (Mestrado em ciências biomédicas), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2017.

---

KONG, M. CHEN, X.G.; XING, K.; PARK, H.J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51–63, 2010.

LEMES, B. M. Membranas de quitosana contendo fração metanólica de *Euphorbia umbellata*. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016.

LIN, W-C.; LIEN, C-C.; YEH, H-J.; YU, C-M.; HSU, S-H. Bacterial cellulose and bacterial cellulose-chitosan membranes for wound dressing applications. **Carbohydrate polymers**, v.94, p. 603-611, 2013.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização, Semina: Ciências Agrárias, v. 31, n.1, p. 137-156, 2010.

MEDINA, L. S. **Arrabidaea chica Verlot: Formulações de liberação sustentada para aplicação em úlceras de mucosa e pele. 2014.** 133 f. Tese (Doutorado em Odontologia), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, São Paulo, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Avaliação de Múltiplas Tecnologias em Feridas Crônicas e Queimaduras.** Brasília-DF, 2011.

MOGOŞANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, p. 127-136, 2014.

MORGADO, P.I.; AGUIAR-RICARDO A.; CORREIA, I.J. Asymmetric membranes as ideal wound dressings: An overview on production methods, structure, properties and performance relationship. **Journal of Membrane Science**, v. 490, pp. 139-151, 2015.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinária Brasílica**, v.6, n.4, p.267-271, 2012.

RABELO, M. **Aditivação de polímeros.** São Paulo: Editora Artlibler, 2000, 242p.

RENISUS, Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos do Ministério da Saúde (DAF/SCTIE/MS), 2009. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms\\_relacao\\_plantas\\_medicinais\\_sus\\_0603.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf) Acesso em: 20/05/2019.

ROLIM, A. E. H.; CARVALHO, F. A. A.; COSTA, R. C. C.; ROSA, F. P. Arcabouços de Quitosana - Propriedades Físico-Químicas e Biológicas para o Reparo Ósseo, **Revista Virtual de Química**, v.10 n.2, Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://rvq.sbj.org.br> acesso em 12 de novembro de 2018.

SANTOS, S. N. A. C. Propriedades de files de quitosano – influência d grau de acetilação e da massa molecular do biopolímero, 133f. Dissertação (Mestrado em Química e qualidade dos alimentos), Universidade de Aveiro, Aveiro, 2006.

SANTOS, R. P. Extração, caraterização e avaliação bioativa do extrato de *Arrabideae chica*. 106f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

SARANTÓPOULOS, C. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M. COLTRO, L. ALVES, R. M. V. GARCIA, E. E. C. Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades, **CETEA/ITAL**, 2002.

SILVA, L. C.; PEGORARO, K. A.; PEREIRA, A. V.; ESMERINO, L. A.; CASSM Q. B.; BARION, A.; BELTRAME, F. L. Antimicrobial activity of *Alternanthera brasiliiana* Kuntze (Amaranthaceae): a Biomonitoring study. **Latin american journal of pharmacy**, v.30, n.1, p.147-153, 2011.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.6, p. 1251-1259, 2000.

SZWED, D. N.; SANTOS, V. L. P. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização da pele. **Cadernos da Escola de Saúde**, v.1, n.15, p.7-17, 2015.

---

---

VOWDEN, K.; VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. **Surgery**, v. 32, p. 462-467, 2014.

ZIVANOVIC, S.; CHI, S.; DRAUGHON, A. F.; Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of food science**, v.70, n.1, p.45-51, 2005.

**Autor para correspondência:**

**Vanessa Barbosa**

**Email:** vanessabarbosa273@bol.com.br

**Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais**

**Recebido: 10/01/2023 Aceite: 27/02/2023**