

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

PATRICIA HISSAE YASSUE-CORDEIRO

INCORPORAÇÃO DE Ag/ZEÓLITAS EM FILMES DE QUITOSANA PARA O  
TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

Maringá-PR  
2014

PATRICIA HISSAE YASSUE-CORDEIRO

INCORPORAÇÃO DE Ag/ZEÓLITAS EM FILMES DE QUITOSANA PARA O  
TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

Dissertação de Mestrado submetida à  
Universidade Estadual de Maringá como  
parte integrante do requisito para  
obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química, área de  
Desenvolvimento de Processos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Nádia Regina  
Camargo Fernandes-Machado

Orientador: Prof. Dr. Classius Ferreira  
da Silva

Maringá – PR

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

Y29i Yassue-Cordeiro, Patricia Hissae  
Incorporação de Ag/Zeólitas em filmes de quitosana para o tratamento de queimaduras / Patricia Hissae Yassue-Cordeiro. - - Maringá, 2014.  
166 f. : il. color., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Nádia Regina Camargo Fernandes-Machado.

Coorientador: Prof. Dr. Classius Ferreira da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2014.

1. Zeólitas. 2. Mineral. 3. Quitosana. 4. Curativos poliméricos. I. Fernandes-Machado, Nádia Regina Camargo, orient. II. Silva, Classius Ferreira da, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

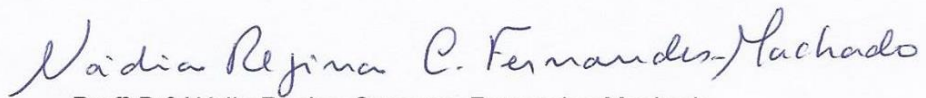
CDD 549.68

MGC -001801

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da Dissertação de Mestrado apresentada por  
Patrícia Hissae Yassue Cordeiro perante a Comissão Julgadora do Curso de  
Mestrado em Engenharia Química em 17 de junho de 2014.

COMISSÃO JULGADORA



Profª Drª Nádia Regina Camargo Fernandes Machado  
Orientadora / Presidente



Prof. Dr. Classius Ferreira da Silva  
Coorientador



Profª Drª Cristiana Maria Pedroso Yoshida  
Membro



Prof. Dr. Marcelino Luiz Gímenes  
Membro

Essa dissertação é inteiramente dedicada:

*Ao meu querido marido pelo amor, carinho e incentivo constante que me fortalece e me faz crer que tudo é possível quando queremos e lutamos.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção, força, saúde e todas as bênçãos em minha vida.

Ao meu pai Valdomiro, minha mãe Rosa, e meus irmãos Alessandro e Rafael pelos ensinamentos e pelo exemplo de amor e dedicação em tudo o que fazem.

Um obrigado todo especial para meu querido marido Dilmer, pelo amor incondicional, apoio, carinho, confiança, por sempre me mostrar que seria possível alcançar meus objetivos e pela compreensão nos momentos de ausência.

Meus sinceros agradecimentos à professora Nádia que me recebeu de braços abertos e ao professor Classius por confiar este trabalho a mim. Aos dois, obrigada pela oportunidade, orientação, dedicação, confiança e amizade, essencial para a realização deste trabalho.

Ao professor Marcelino por sempre estar presente com suas valiosas sugestões.

À professora Patricia Lopes e as mestrandas Mariângela e Bianca por me auxiliarem nos testes microbiológicos e por me receberem tão bem durante a parte experimental em Diadema-SP.

Ao Valmir Calsavara pelas análises de DRX e pelas inúmeras sugestões e apoio. Ana Paula de Oliveira pelas análises de TXRF.

À Comcap pelas análises de MEV e FTIR.

Ao Fernando e Maíra pelo auxílio nas análises de Cor.

Aos colegas de laboratório em especial Cássio, Raphael, Isabela, Fernando, Fernanda e Marcos Vinícius por toda amizade e sugestões durante o decorrer deste trabalho.

À empresa Oxanil por gentilmente ceder a zeólita NaA.

## RESUMO

As propriedades antimicrobianas de filmes poliméricos de quitosana podem ser induzidas e/ou potencializadas com a incorporação de zeólitas trocadas ou impregnadas com prata ou com sulfadiazina de prata. Os filmes foram preparados pela dispersão da suspensão de quitosana contendo as zeólitas com prata (Ag-zeólitas) em um suporte plano e secagem lenta. As variáveis estudadas na preparação dos filmes foram: prata associada ou não associada (nitrato de prata e sulfadiazina de prata); método de incorporação de prata não associada (troca iônica e impregnação úmida) e tipo de zeólita utilizada como suporte (Y e A). Para a determinação da razão Si/Al das zeólitas de partida foram realizadas análises de RMN de  $^{29}\text{Si}$  e para a determinação da composição de prata foram feitas análises de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) e de espectroscopia por energia dispersiva (EDX). Tanto para as Ag-zeólitas como para os filmes poliméricos foram realizadas análises texturais, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX), análises termogravimétricas (ATG) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). Para avaliar a aplicabilidade dos filmes poliméricos de quitosana com Ag-zeólitas foram realizadas análises de propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e micro-organismos, análise de cor, liberação de prata e propriedades antimicrobianas em meio sólido para as Ag-zeólitas e em meio líquido para os filmes com Ag-zeólita. O filme de quitosana com 5AgA-TI-B (zeólita A trocada com 5% de prata) apresentou as melhores propriedades para aplicação como curativos para queimaduras. Este apresentou a maior atividade antimicrobiana devido ao maior teor de prata, não estando este apenas em sua superfície zeolítica na forma de *clusters*, mas também dentro dos canais e cavidades da zeólita A indicando uma liberação controlada de íons prata para o meio de cultura, conseqüentemente, inibindo maiores taxas de micro-organismos patogênicos. Este filme apresentou boas propriedades de permeação ao vapor de água, comparáveis aos curativos encontrados comercialmente, não houve permeação de micro-organismos através da membrana indicando capacidade de impedir infecções de bactérias e fungos na ferida de queimadura e apresentou as melhores propriedades mecânicas

exibindo menores valores de módulo de Young e tensão de ruptura quando comparado com os filmes de quitosana pura e maior porcentagem de alongação quando comparado com os outros filmes poliméricos sintetizados neste trabalho, apresentando assim melhor maleabilidade e flexibilidade para a aplicação como curativos para queimaduras.

**Palavras-chave:** Quitosana. Prata. Zeólita. Curativos.



## ABSTRACT

Chitosan polymeric films are used as wounding dressing for burns and wounds. Antimicrobial properties of these films can be induced or potentiated with incorporation of changed zeolite or impregnated with silver or silver sulfadiazine. Films were prepared by dispersion of chitosan solution containing zeolite with silver (Ag- Zeolite) in a plan surface and slowly drying. Studied variables on filme preparation were: associated silver or not associated (silver nitrate and silver sulfadiazine); silver not associated (ion exchange and moist impregnation) and the kind of zeolite (Y and A). Zeolite ratio Si/Al was determined by RMN analysis of  $^{29}\text{Si}$  and the elementary composition was determined by analysis of x-ray fluorecence by total reflection (SR-TXRF) and energy dispersive spectroscopy (EDX). Both Zeolite-Ag and polymeric films were performed textural analyzes, scanning electron microscopy (MEV), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (DRX), thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). Chitosan polimeric films with Ag-Zeolite applicability were evaluated by performing mechanical properties analysis, vapor barrier to water and microorganisms, color analysis, silver releasing and antimicrobial properties in solid medium for Ag-Zeolite and liquid medium for Ag-Zeolite films. Chitosan film with 5AgA-TI-B (zeolite type A exchanged with 5% silver) showed the best properties for use in wounding burn dressings, with high antimicrobial activity due the high silver composition and location both in the zeolitic surface in *clusters* forms and inside the channels and cavities fo the zeolite A, showing a controlled release of silver ions, therefore, presenting higher antimicrobial ratios. This film exhibit good water vapor permeation property, as like others wounding dressings found in the market and permeation through the membrane of microorganisms does not occur, showing capability of prevent infections of bacteria and fungi in the burn wound and presented the best mechanical properties showing lower values of Young's modulus and tensile strength when compared with films of pure chitosan and higher percent elongation when compared with other polymer films synthesized in this work, showing a better suppleness and flexibility for use as dressings for burns.

**Keywords:** Chitosan. Silver. Zeolite. Dressing.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>3</b>
<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Pele e queimaduras</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2 Curativos para queimadura</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3 Quitosana</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4 Prata como agente antimicrobiano</b> .....	<b>10</b>
<b>2.5 Zeólitas</b> .....	<b>14</b>
2.5.1 Zeólita A.....	15
2.5.2 Zeólita Y.....	17
2.5.3 Atividade antimicrobiana de zeólitas com prata.....	18
<b>2.6 Filmes poliméricos</b> .....	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>27</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>3.1 Materiais</b> .....	<b>27</b>
<b>3.2 Métodos</b> .....	<b>28</b>
3.2.1 Preparação das zeólitas impregnadas e trocadas.....	28
3.2.1.1 Procedimento de impregnação.....	29
3.2.1.2 Procedimento de troca iônica.....	30
3.2.2 Preparo dos filmes poliméricos.....	30
3.2.3 Caracterização dos materiais.....	31
3.2.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	31
3.2.3.2 Fluorescência de raios X por Reflexão Total (TXRF).....	31
3.2.3.3 Análises texturais.....	32
3.2.3.4 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV).....	32
3.2.3.5 Difração de Raios X (DRX).....	33
3.2.3.6. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	33
3.2.3.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	33
3.2.3.8 Análises termogravimétricas (ATG).....	34
3.2.3.9 Propriedades mecânicas.....	34
3.2.3.10 Propriedades de barreira.....	35
Capacidade de Movimentação de Fluido (Fluid Handling Capacity, FHC) .....	35

Permeabilidade ao vapor de água (PVA) .....	37
3.2.3.11 Análise de Cor .....	38
3.2.3.12 Liberação de prata dos filmes poliméricos .....	39
3.2.3.13 Solubilidade em água .....	39
3.2.4 Caracterização biológica dos filmes.....	40
3.2.4.1 Permeação microbiana .....	41
3.2.4.2 Propriedades antimicrobianas .....	41
3.2.4.3 Atividade antimicrobiana – Meio líquido .....	42
3.2.5 Análises estatísticas .....	43
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>44</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Caracterização das zeólitas.....</b>	<b>44</b>
4.1.1 Ressonância Magnética Nuclear RMN de <sup>29</sup> Si e de <sup>27</sup> Al.....	44
4.1.2 Análise elementar .....	46
4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	51
4.1.4 Análise textural .....	58
4.1.5 Difração de Raios X (DRX) .....	61
4.1.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	65
4.1.7 Análise Termogravimétrica (ATG) .....	68
4.1.8 Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	71
4.1.9 Atividade antimicrobiana em meio sólido- Difusão em placa .....	76
<b>4.2 Caracterização dos filmes poliméricos .....</b>	<b>81</b>
4.2.1 Avaliação macroscópica e avaliação da cor .....	82
4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	86
4.2.3 Microscopia óptica .....	91
4.2.4 Análise textural .....	93
4.2.5 Difração de raios X (DRX) .....	95
4.2.6 Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	99
4.2.7 Análise termogravimétrica (ATG).....	101
4.2.8 Espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	104
4.2.9 Capacidade de movimentação de fluidos (FHC) .....	107
4.2.10 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).....	110
4.2.11 Solubilidade em água .....	112
4.2.12 Propriedades mecânicas .....	113
4.2.13 Permeabilidade microbiana .....	115
4.2.14 Liberação de prata .....	119

4.2.15 Atividade antimicrobiana em meio líquido.....	121
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>129</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>129</b>
<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>131</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>131</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>144</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>148</b>
<b>APÊNDICE C .....</b>	<b>150</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-Estrutura da quitina e da quitosana.....	8
Figura 2-Mecanismo da atividade antimicrobiana da prata. ....	11
Figura 3-Microscopia eletrônica de transmissão de E. coli com prata.....	12
Figura 4-Modelo esquemático da disposição da estrutura da zeólita A. ....	16
Figura 5-Sistemas de Canais e cavidades da zeólita A. ....	16
Figura 6-Zeólita Y (a) Modelo esquemático e (b) sistemas de canais e cavidades da zeólita Y. ....	18
Figura 7-Membrana de quitosana assimétrica com sulfadiazina de prata.....	21
Figura 8-Fluxograma das etapas deste estudo. ....	28
Figura 9-Esquema do corpo de prova para análise de propriedades mecânicas. ....	35
Figura 10-Aparato utilizado para determinar a Capacidade de Movimentação de Fluidos: (a) copo de Paddington e (b) sistema de PVC desmontado. ....	36
Figura 11-Diagrama CIELAB com as respectivas relações vermelho (+a <sup>*</sup> )/verde (-a <sup>*</sup> ), amarelo (+b <sup>*</sup> )/azul (-b <sup>*</sup> ) e luminosidade. ....	38
Figura 12-Sistema que será utilizado no teste de permeação microbiológica: (a) Partes isoladas do sistema, (b) Sistema montado com meio de cultura. ....	41
Figura 13-Espectros de RMN da zeólita NaY.....	44
Figura 14-Espectro de RMN para zeólita NaA-B.....	45
Figura 15-Espectro de RMN da zeólita NaA-O.....	45
Figura 16- Espectro de EDS das amostras (a) 5AgY-TI, (b) 5AgA-TI-B e (c) 5AgA-TI-O. ....	49
Figura 17-Espectro de EDX da zeólita 5SDPY-I. ....	50
Figura 18-Espectro de EDX das amostras (a) 5AgY-I e (b) 10 AgY-I.....	50
Figura 19-Micrografias das zeólitas (a) NaY, (b) 5AgAY-TI (c) 5AgY-I (d) 10AgY-I .....	51
Figura 20-Micrografias da zeólita de partida (a) NaY e (b) 5 SDPY-I.....	52
Figura 21-Micrografias das zeólitas (a) NaA e (b) 5AgA-TI-B. ....	53
Figura 22-Micrografias das zeólitas (a) NaX e (b) 5AgA-TI-O.....	54
Figura 23-Mapeamento por elemento Amostra 5AgY-I. ....	55
Figura 24-Mapeamento por elemento amostra 5AgY-TI. ....	55
Figura 25-Mapeamento por elemento amostra 5AgA-TI-B.....	56
Figura 26-Mapeamento por elemento amostra 5AgA-TI-O. ....	56
Figura 27-Mapeamento por elemento amostra 10AgY-I. ....	57
Figura 28-Mapeamento por elemento amostra 5SDPY-I. ....	57
Figura 29-Isotermas de adsorção de NaY e zeólitas impregnadas e trocadas com prata. ....	59
Figura 30- Isotermas de adsorção das zeólitas A trocadas com prata.....	60
Figura 31-Difratogramas da NaY e impregnadas e trocadas com prata. ....	62
Figura 32- Difratograma das zeólitas A e trocadas com prata.....	63
Figura 33-Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para (a) nitrato de prata e (b) sulfadiazina de prata.....	65
Figura 34- Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para zeólita NaY e impregnadas ou trocadas com prata.....	66
Figura 35- Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para zeólitas A e trocadas com prata. ....	68

Figura 36-Curva termogravimétrica de (a) nitrato de prata e (b) sulfadiazina de prata. ....	69
Figura 37-Curva termogravimétrica da NaY pura e trocada ou impregnada com prata. ....	70
Figura 38-Curva termogravimétrica da zeólita A e trocada com prata. ....	70
Figura 39-Espectro de FTIR da zeólita NaY, trocadas e impregnadas com prata e nitrato de prata. ....	73
Figura 40-Espectro de FTIR da zeólita NaY, 5SDPY-I e SDP pura. ....	74
Figura 41- Espectro de FTIR da zeólita A e trocada com prata.....	75
Figura 42-Zeólitas de partida.....	83
Figura 43-Zeólitas impregnadas ou trocadas, puras ou em filmes poliméricos.	83
Figura 44-Representação esquemática dos <i>clusters</i> Ag <sub>6</sub> em zeólita A. ....	85
Figura 45-Micrografias do Filme de quitosana pura (a) superfície e (b) seção transversal.....	87
Figura 46- Micrografias superficiais e corte transversal das amostras 5AgY-TI e 5AgA-TI-B.....	88
Figura 47-Micrografias superficiais e corte transversal das amostras 5AgA-TI-O, 5AgY-I e 10AgY-I. ....	89
Figura 48-Micrografias dos filmes com sulfadiazina de prata pura e 5SDPY-I. ....	90
Figura 49-Microscopia ótica dos filmes com 5SDPY-I, SDP pura e quitosana pura. ....	92
Figura 50-Microscopia ótica dos filmes com 5AgY-I, 5AgY-TI, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O. ....	93
Figura 51-Isotermas de adsorção de N <sub>2</sub> dos filmes de quitosana pura e filmes com zeólita Y trocada ou impregnada. ....	94
Figura 52-Isotermas de adsorção de N <sub>2</sub> dos filmes de quitosana pura e filmes com zeólita A impregnada com prata. ....	95
Figura 53-Difratograma de DRX de (a) quitosana em pó e filme e (b) glicerol puro. ....	96
Figura 54-Difratograma do filme de quitosana pura e com zeólita Y trocada ou impregnada com prata. ....	97
Figura 55-Difratograma do filme de quitosana pura e com zeólita A trocada com prata. ....	98
Figura 56-Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para filmes de quitosana pura e filmes com zeólita Y trocada ou impregnada com prata. ....	99
Figura 57-Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para filmes de quitosana pura e filmes com SDP pura, 5SDPY-I, 5AgA-TI-O e 5AgA-TI-B. ....	100
Figura 58-Curva termogravimétrica para a quitosana em pó. ....	101
Figura 59-Curva termogravimétrica para o filme de quitosana e filme com zeólita Y trocada ou impregnada.....	102
Figura 60-Curva termogravimétrica para o filme de quitosana e filme com zeólita A trocada com prata.....	103
Figura 61- Espectro de infravermelho para o filme de quitosana e zeólitas Y trocadas ou impregnadas com prata. ....	105
Figura 62-Espectro de infravermelho para o filme de quitosana e zeólitas 5SDPY-I e zeólitas A trocadas com prata. ....	107
Figura 63-Controle positivo no 4º dia de teste. ....	116
Figura 64-Controle positivo. ....	116

Figura 65-Controle positivo no 10° dia. ....	117
Figura 66-Controle negativo. ....	117
Figura 67-Ampliação do controle negativo no 10° dia. ....	117
Figura 68-Teste de permeabilidade microbiana para o filme com 5AgA-TI-B no décimo dia. ....	118
Figura 69-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgY-I. ....	118
Figura 70-Teste de liberação de prata a partir dos filmes poliméricos. ....	120
Figura 71-Teste de atividade antimicrobiana- Difusão em ágar para o filme de quitosana pura. ....	122
Figura 72-Teste antimicrobiano em meio líquido. ....	123
Figura 73-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra <i>P. aeruginosa</i> . ....	125
Figura 74-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra <i>E. coli</i> . ....	125
Figura 75-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra <i>S. aureus</i> . ....	126
Figura 76-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra <i>C. albicans</i> . ....	126
Figura 77- Atividade antimicrobiana em meio sólido conta <i>P. aeruginosa</i> . ....	148
Figura 78-Atividade antimicrobiana em meio sólido- <i>E. coli</i> . ....	149
Figura 79-Atividade antimicrobiana em meio sólido - <i>S. aureus</i> . ....	149
Figura 80-Atividade antimicrobiana em meio sólido- <i>C. albicans</i> . ....	149
Figura 81-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgY-TI. ....	150
Figura 82-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgA-TI-B. ....	150
Figura 83-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgA-TI-O. ....	150
Figura 84-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 10AgY-I. ....	150
Figura 85-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme quitosana pura. ....	151
Figura 86-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5SDPY-I. ....	151
Figura 87-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme SDP pura. ....	151



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Zeólitas impregnadas e trocadas.....	29
Tabela 2- Razão Si/Al obtida por RMN de $^{29}\text{Si}$ .....	46
Tabela 3- Porcentagem mássica de prata por TXRF .....	46
Tabela 4- Análise textural das amostras zeolíticas Y .....	60
Tabela 5- Análise textural das amostras zeolíticas A da Baylith e Oxanyl.....	61
Tabela 6- Temperaturas e entalpias obtidas por calorimetria diferencial de varredura para amostras zeolíticas Y.-- .....	67
Tabela 7- Temperaturas e entalpias obtidas por calorimetria diferencial de varredura para amostras zeolíticas A.....	68
Tabela 8- Perda de massa cumulativa para as amostras zeolíticas .....	69
Tabela 9- Bandas vibracionais características das zeólitas. ....	72
Tabela 10- Bandas vibracionais obtidas para zeólita NaY e amostras trocadas e impregnadas.....	72
Tabela 11- Tamanho dos halos resultantes .....	77
Tabela 12- Parâmetros croma e diferença total de cor dos filmes de quitosana com zeólita ou sulfadiazina de prata em relação ao filme somente com quitosana .....	86
Tabela 13- Análise textural dos filmes poliméricos. ....	93
Tabela 14- Temperaturas e entalpias para os filmes de quitosana com e sem zeólitas pela análise de DSC. ....	101
Tabela 15- Resultados da análise termogravimétrica para os filmes.....	103
Tabela 16- Principais bandas dos filmes de quitosana .....	104
Tabela 17- Bandas vibracionais obtidas para o filme de quitosana e filmes com 5AgY-TI, 5AgY-I e 10AgY-I.....	106
Tabela 18- Bandas vibracionais obtidas para os filmes com SDP pura e filmes com 5SDPY-I, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O .....	106
Tabela 19- Taxa de Permeação de Vapor Úmido (TPVU), Capacidade de Absorção e Capacidade de Movimentação de Fluidos (CMF) para os filmes de quitosana pura e com zeólitas.....	109
Tabela 20- Taxa de permeação ao vapor d'água.....	111
Tabela 21- Solubilidade em água .....	113
Tabela 22- Propriedades mecânicas dos filmes poliméricos .....	115

# CAPÍTULO I

## INTRODUÇÃO

De acordo com o Ministério da saúde <disponível em [www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br), acessado em 08/07/2013> o custo médio de internação de um paciente em estado grave é de R\$ 4.300,00 (quatro mil e trezentos reais) por um período de aproximadamente 13 dias. O tratamento, custeado pelo Sistema Único de Saúde (SUS), pode incluir o uso de curativos caros que na maioria das vezes são importados e exigem troca frequente. Desta forma, o desenvolvimento de novos curativos provenientes de fontes renováveis e naturais consiste em um grande desafio.

Compostos de prata têm sido explorados por suas propriedades medicinais durante séculos. Atualmente, a prata é um composto reemergente como uma opção viável de tratamento para as infecções encontradas em queimaduras, feridas abertas e úlceras crônicas (FONSECA e NEVES, 2013). O composto de prata mais utilizado no tratamento de queimaduras é a sulfadiazina de prata (Ag-SD) tópica, um importante agente antibacteriano útil contra uma grande variedade de estirpes bacterianas (AZEVEDO *et al.*, 2006). No entanto, as dificuldades atuais com o uso tópico da prata antimicrobiana estão relacionadas aos baixos níveis de liberação de prata, à falta de penetração, ao rápido consumo dos íons prata e à presença de nitrato ou creme à base de pomada que são pró-inflamatórios, e afetam negativamente a cicatrização de feridas. Outros problemas incluem a coloração, o desequilíbrio eletrolítico e o desconforto do paciente, pois é necessária a troca do curativo e a lavagem da ferida muito frequentemente (AZEVEDO *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2003). Por outro lado, muitos destes problemas decorrentes do uso da prata podem ser contornados pela utilização de sistemas de liberação controlada de fármacos.

Zeólitas são aluminossilicatos cristalinos amplamente utilizados nas indústrias químicas como catalisadores, adsorventes ou trocadores iônicos (BRECK, 1974). O uso de zeólitas como sistemas de liberação controlada de fármacos tem aumentado nos últimos anos, principalmente devido à sua capacidade de adsorção e capacidade de troca iônica que possibilita a

interação eletrostática com fármacos ionizáveis, e também devido à sua estrutura porosa com canais e cavidades com dimensões moleculares que possibilitam a transferência de moléculas do interior do cristal para o meio e vice-versa (LALUEZA *et al.*, 2012). As zeólitas, por sua vez, podem ser incorporadas em filmes biopoliméricos a fim de facilitar sua aplicação tópica em feridas e queimaduras (BOSCHETTO *et al.*, 2012).

Biopolímeros como quitosana, alginato e carboximetilcelulose têm sido amplamente utilizados na produção de filmes para utilização como curativos, no entanto, a quitosana merece destaque principalmente por apresentar atividade antifúngica (MUZZARELLI *et al.*, 2001) e antibacteriana (COMA *et al.*, 2002).

Uma vantagem de se utilizar um filme de quitosana é que pode-se incorporar zeólitas trocadas com prata para a liberação controlada dos íons prata diretamente na ferida e na proporção necessária para atuar contra bactérias e promover a rápida cicatrização.

Assim, um curativo ideal, pode combinar as propriedades da quitosana com as propriedades antimicrobianas da prata com liberação controlada através do auxílio de uma zeólita obtendo um curativo com propriedades excelentes de aceleração da cicatrização, propriedades antifúngicas, antibactericidas e ainda recobrimento da área lesionada sem ocasionar ao paciente dor e desconforto.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de filmes poliméricos de quitosana contendo zeólitas impregnadas ou trocadas com prata para a aplicação como curativos para queimaduras.

# CAPÍTULO II

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Pele e queimaduras

Um adulto é revestido por aproximadamente 2 m<sup>2</sup> de pele, com aproximadamente 2 mm de espessura sendo esta a primeira barreira contra agentes nocivos ao nosso corpo. Além de impedir a perda excessiva de líquidos, manter a temperatura corporal, sintetizar vitamina D e agir como órgãos dos sentidos, é uma barreira contra a radiação ultravioleta (UV) e exerce proteção mecânica devido à presença de elastina e de fibras colágenas (FAJARDO *et al.*, 2013). Quando temos a formação da ferida, que pode ser causada por fatores extrínsecos, como incisão cirúrgica, trauma e fatores intrínsecos, como as produzidas por uma infecção, ocorre a sua descontinuidade e conseqüentemente as funções do tecido epitelial são comprometidas (ECHER *et al.*, 2009; RUSSO, 1976).

Uma queimadura é uma ferida do tipo traumática que compromete a função do tecido epitelial. É considerado um grande problema não somente pela gravidade quando agudas como também em relação às suas importantes sequelas, que poderão marcar para sempre a vida dos pacientes queimados (CORREIA *et al.*, 1980). A lesão provocada por uma queimadura pode ser descrita com base na sua profundidade, sendo classificada como de primeiro grau quando é comprometida apenas a epiderme, apresentando eritema (coloração avermelhada da pele ocasionada por vasodilatação capilar, que é um sinal típico da inflamação) e dor; de segundo grau, quando atinge a epiderme e parte da derme, provocando a formação de flictenas (elevação revestida por epitélio contendo líquido e com mais de 1 cm de espessura); e de terceiro grau, quando envolve todas as estruturas da pele, apresentando-se esbranquiçada ou negra, pouco dolorosa e seca (QUINN *et al.*, 1985; RUSSO, 1976).

Este tipo de trauma se diferencia dos outros devido à sua potencial facilidade de colonização por bactérias patogênicas, presença de grandes quantidades de tecido não viável, perdas de grandes quantidades de água e sangue, permanece aberto por longos períodos de tempos até sua cicatrização, e frequente necessidade de mobilizar tecidos para o fechamento da ferida (QUINN *et al.*, 1985).

As queimaduras de primeiro grau, dependendo da extensão, geralmente curam rapidamente em até cinco dias. A cicatrização de feridas de queimadura de segundo e terceiro graus dependem da profundidade e da ocorrência ou não de complicações, sendo as infecções uma das causas mais frequentes de complicações tanto no âmbito tópico quanto no sistêmico. Nas queimaduras profundas há uma grande quantidade de tecidos necróticos, o que facilita o desenvolvimento de infecção, pois esses tecidos fornecem nutrientes para as bactérias que requerem pouco oxigênio para sua sobrevivência, consumindo-o e diminuindo ainda mais a quantidade de oxigênio disponível para os tecidos (QUINN *et al.*, 1985).

Em 2012, o Brasil registrou 2.291 óbitos e 107.746 internações por queimaduras, considerando a exposição à corrente elétrica, radiação e temperatura, à fumaça, fogo e chamas e o contato com fontes de calor e substâncias quentes, revelam dados do DATASUS, Sistema de Informações Hospitalares do Ministério da Saúde, <disponível em [www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br), acessado em 10/05/2014>. Apesar de expressivo, o número ainda está distante da realidade, pois há subnotificação de casos. Queimaduras químicas, por exemplo, estimadas em 4% do total de ocorrências, não possuem estatísticas no DATASUS. Embora não traga dados definitivos sobre a incidência de queimaduras no Brasil, o banco de dados possibilita indicar este tipo de acidente como um problema de Saúde Pública no país. Nos últimos cinco anos, as internações por queimadura cresceram 79,5%. O maior salto ocorreu entre 2008 e 2009, quando passou de 60.025 para 80.607 casos anuais registrados no DATASUS. Os óbitos, por sua vez, interromperam em 2012 a curva ascendente dos últimos cinco anos e somaram 3,09% menos mortes.

A infecção é uma das mais frequentes e graves complicações da vítima com queimadura, sendo responsável por 75-80% dos óbitos. Os sinais locais de infecção incluem: coloração enegrecida da área queimada, evolução de

uma necrose parcial para uma necrose total, coloração esverdeada do tecido subcutâneo, aparecimento de vesículas em lesões cicatrizadas, descolamento rápido do tecido necrótico e aparecimento de sinais flogísticos (hiperemia e edema) em áreas próximas às queimaduras (MACEDO e SANTOS, 2006; RUSSO, 1976).

Os micro-organismos predominantes na queimadura são os componentes da microbiota da pele normal íntegra: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli* (períneo), *Pseudomonas aeruginosa* (axilas e regiões inguinais) e *Cândida albicans* (GOMES *et al.*, 2001; CORREIA *et al.*, 1980).

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva responsável pelas regiões infectadas da pele com cortes ou feridas abertas nas quais apresentam vestígios de sangue (FAJARDO *et al.*, 2013). É uma das bactérias mais encontradas em feridas de queimaduras, em parte devido à sua notável capacidade de adquirir resistência aos antibióticos (LALUEZA *et al.*, 2012). *Staphylococcus aureus* codifica várias proteínas capazes de interagir especificamente com moléculas adesivas da matriz celular humana. Libera vários produtos danosos, tais como proteinases, colagenases e hialuronidases, que destroem a matriz extracelular, cuja integridade é essencial para cicatrização da ferida. Também secreta exotoxinas, tais como a toxina da síndrome do choque tóxico e as enterotoxinas A, B e C, que causam síndrome diarréica (MACEDO e SANTOS, 2006; EDWARDS-JONES e GREENWOOD, 2003; LALUEZA *et al.*, 2011b).

*Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa que se aproveita de todos os pontos fracos do corpo humano para estabelecer um quadro infeccioso (FAJARDO *et al.*, 2013) produzindo um pigmento característico (piocianina) que é tóxico, mas determinadas estirpes também produzem exotoxina A, que causa inibição da síntese protéica, necrose local e morte celular. Vários autores apontam *P. aeruginosa* como o principal agente etiológico das infecções da ferida em queimados (LARI e ALAGHENBANDAN, 2000; MACEDO e SANTOS, 2006).

*Candida sp.* é o principal fungo encontrado nas feridas produzidas por queimaduras; as espécies mais encontradas são *Candida krusei*, *Candida tropicalise* e *Candida albicans*. O aparecimento de fungos aumenta com o

tempo de internação, principalmente após a terceira semana, estando associado ao uso prolongado de antimicrobianos e às queimaduras extensas não cobertas por enxertos (MACEDO e SANTOS, 2006; RUSSO, 1976).

## 2.2 Curativos para queimadura

O tratamento tradicional de queimaduras consiste na aplicação de sulfadiazina de prata em creme a 1% na área queimada seguida com proteção com bandagens compostas de várias camadas de gaze e algodão. Estas devem ser trocadas frequentemente, porque a ação bactericida do creme dura apenas 12 h. No entanto, o creme eventualmente se seca e, em seguida, o curativo adere à superfície da ferida, conduzindo a dor, traumas emocionais e danos consideráveis no epitélio recentemente formado, quando o curativo é removido (AZEVEDO *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2003). Outra desvantagem em relação ao uso de curativos com gaze é a oclusão da ferida de queimadura e ao acúmulo de fluido sob o curativo, o que favorece a proliferação de patógenos e retarda a cicatrização (FERREIRA *et al.*, 2003).

Os curativos ideais destinados ao tratamento de queimaduras devem possuir características particulares, já que esse tipo de ferida gera grandes descompensações hídricas através da perda de líquido e o organismo torna-se mais vulnerável aos agentes de agressão ambiental, permitindo assim, o estabelecimento e o crescimento de bactérias patogênicas (DALLAN, 2005; KANOKPANONT *et al.*, 2012). Assim, o curativo deve reduzir a perda excessiva de fluidos corpóreos através de trocas gasosas e remoção do excesso de exsudato para manter uma umidade adequada no leito da ferida (JAYAKUMAR *et al.*, 2011; KANOKPANONT *et al.*, 2012). Como o ambiente da ferida é úmido, quente e nutritivo, este apresenta todas as condições necessárias para favorecer o crescimento microbiano, então, na busca de um curativo ideal podem-se utilizar agentes antimicrobianos incorporados ao curativo no qual detêm a função de inibir o crescimento bacteriano na ferida. Como por exemplo, pode-se utilizar a prata ou sulfadiazina de prata para controlar a infecção sem retardar ou inibir qualquer estágio do processo de cicatrização (CENCETTI *et al.*, 2012).

A aplicação do curativo deve ser simples e não envolver qualquer preparação prévia, como a mistura de componentes ou descongelamento. O curativo deve apresentar uma adesão uniforme, uma vez que pequenas áreas de não adesão levarão a bolsas cheias de líquido nas quais pode haver proliferação de bactérias e deve atuar como barreira contra micro-organismos externos. Não deve haver nenhum crescimento de tecido para o curativo ou outros fortes dispositivos que podem impedir sua fácil remoção. O conforto do paciente determina que a remoção do curativo deva ser livre de dor (QUINN *et al.*, 1985).

Com o objetivo de desenvolver um curativo com as propriedades expostas acima, propostas de novos curativos têm sido desenvolvidas com características diferenciadas dos tradicionais tanto em concepção como em propriedades. Biomateriais, como a quitosana, têm sido foco de estudo para o desenvolvimento de curativos devido ao seu baixo custo (DALLAN, 2005), fácil acesso, não tóxica, promovem a cura de feridas e apresentam características adequadas para a função a que se destinam (KANOKPANONT *et al.*, 2012).

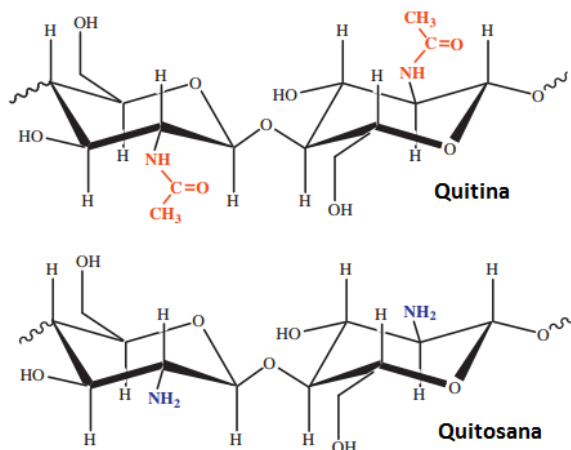
Uma vantagem de se utilizar um biopolímero é que este pode ser utilizado como um filme no qual podem ser incorporadas zeólitas trocadas com prata para a liberação controlada dos íons prata diretamente na ferida e na proporção necessária para atuar contra bactérias e promover a rápida cicatrização. Assim, um curativo ideal, pode combinar as propriedades da quitosana (seção 2.3) com as propriedades antimicrobianas da prata (seção 2.4) com liberação controlada através do auxílio de uma zeólita (seção 2.5) obtendo um curativo com propriedades excelentes de aceleração da cicatrização, propriedades antifúngicas, antibactericidas e ainda recobrimento da área lesionada sem ocasionar ao paciente dor e desconforto.

## 2.3 Quitosana

A quitina é um polímero linear constituído por unidades de 2-acetamida-2-deoxi-D-glicopirranose unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\beta$ -(1-4). Sua principal fonte natural de obtenção é a carapaça de crustáceos (caranguejos, camarões, lagostas e siris), podendo também ser encontrada em insetos, moluscos e na parede celular de fungos gênero *mycelia* (TOLAIMATE *et al.*,



2000; RAVI KUMAR, 2000; ARSHADY, 1996). A quitina apresenta grande variedade de usos, principalmente na indústria têxtil, alimentícia e de cosméticos. Entretanto, sua maior aplicação encontra-se na produção de quitosana, que pode ser utilizada em diversas áreas (TOLAIMATE *et. al.*, 2000). A Figura 01 ilustra a estrutura da quitina e da quitosana.



**Figura 1-**Estrutura da quitina e da quitosana.

FONTE: adaptado de GUIBAL *et al.* (2013).

Para a produção de quitosana, a quitina é submetida a um processo conhecido como desacetilação, que consiste em promover reações de hidrólise utilizando a combinação de soluções concentradas de hidróxido de sódio (40-50%) com temperaturas elevadas (ARSHADY, 1996). Esta reação de hidrólise pode remover alguns ou todos os grupos acetila da quitina, resultando na mistura de polímeros de diferentes tamanhos. Em função da variação da concentração da base e das temperaturas usadas no processo de desacetilação, é possível obter quitosana com diferentes graus de acetilação e diferentes massas moleculares, sendo estes fatores extremamente importantes no que diz respeito às suas propriedades funcionais. A quitosana pode também ser encontrada na natureza, assim como a quitina, na parede celular de alguns fungos (KURITA, 1998; RAVI KUMAR, 2000; ARSHADY, 1996).

A quitosana é um heteropolissacarídeo composto por unidades de 2-acetamida-3-deoxi-D-glicopirranose e de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose. Os grupos amino presentes em sua estrutura a tornam um dos únicos polieletrólitos catiônicos encontrados na natureza (pKa~6,5). É, portanto solúvel em meios aquosos ácidos de pH < 6,5. Adere a superfícies carregadas negativamente, agrega-se com compostos polianiônicos, e quela íons de metal

pesado. Tanto a solubilidade em soluções ácidas quanto à agregação com poliânions conferem propriedades excelentes à quitosana na forma de gel (SAJOMSANG, 2010; PARK *et al.*, 2010; ARSHADY, 1996).

A quitosana é biodegradável, biocompatível, apresenta baixa toxicidade, apresenta atividade antimicrobiana e imuno-adjuvante (KURITA, 1998). A própria estrutura química da quitosana, similar à estrutura do ácido hialurônico, reforça a indicação do uso deste biopolímero como agente cicatrizador e reparador de feridas e de queimaduras, pois a quitosana é capaz de aumentar as funções de células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, promovendo organização celular e atuando no reparo de feridas amplas (BALASSA e PRUDDEN, 1984; MUZZARELLI, 1989). Além disso, fornecem blocos de construção para a reconstrução de componentes da matriz extracelular (UENO *et al.*, 2001; SUZUKI *et al.*, 1994; ALEMDAROĞLU *et al.*, 2006). Alguns autores citam que a quitosana fomenta o crescimento celular, porque as células aderem fortemente ao polímero e proliferam mais rapidamente (BALASSA e PRUDDEN, 1984; MUZZARELLI, 1989; UENO, 1999). Devido a estas propriedades, uma das aplicações médicas mais extensivamente utilizadas da quitosana é na formação de filmes para o uso como curativos de feridas e de queimaduras ou como molde para enxerto de pele, agente hemostático e material cirúrgico para sutura (UENO, 1999; YU *et al.*, 2013; WHANG *et al.*, 2005).

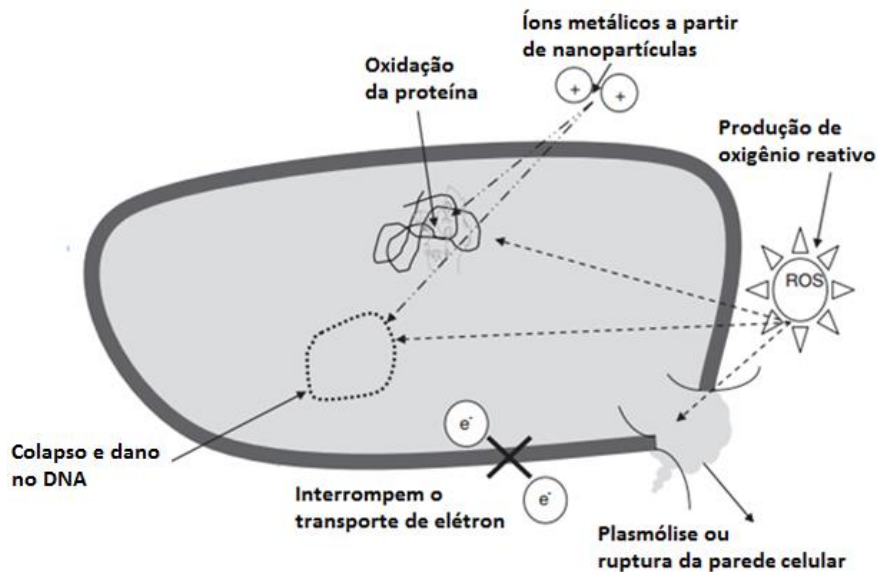
Outra aplicação importantíssima da quitosana é nos “Sistemas de liberação de fármacos” (*Drug-delivery systems*). É muito utilizado na indústria como agente facilitador na entrega de drogas sistêmicas ou locais, capazes de proporcionar taxas de liberação controladas e prolongadas dessas drogas, de maneira a se obter uma resposta ótima com o mínimo de efeitos colaterais. Como exemplo, a quitosana pode ser utilizada na liberação de medicamentos no meio gastrointestinal, na mucosa oral, canais radiculares, dentinas cariadas ou bolsas periodontais, pois apresenta uma liberação de fármacos lenta e controlada (RAVI KUMAR, 2000; ARSHADY, 1996).

## 2.4 Prata como agente antimicrobiano

Durante séculos, o homem tem explorado as propriedades medicinais de compostos contendo prata. Historicamente, a prata foi utilizada para conservar água potável em jarros de prata e de cobre nos primórdios da civilização. Compostos com prata foram populares remédios para o tratamento de tétano e reumatismo no século 19 e usados para tratar resfriados e gonorréia. A descoberta da penicilina levou ao advento dos antibióticos sintéticos, porém, infelizmente, devido à sua utilização excessiva, algumas bactérias evoluíram para se tornar resistentes aos antibióticos, e isto levou ao presente momento ser descrito como o "Fim da era antibiótica" (HUANG *et al.*, 2011; FONSECA e NEVES, 2013). Antibióticos mais novos e mais potentes muitas vezes não acompanham o aumento das taxas de resistência bacteriana, resultando em mortalidade do paciente queimado devido a uma falha no controle da infecção e em altos custos hospitalares com a troca das bandagens. Assim, atualmente observa-se um ressurgimento do interesse nas propriedades do nitrato de prata, sais de prata, zeólitas com prata, compostos de prata e prata nanocristalina como agentes antibactericidas (HUANG *et al.*, 2011; DUNN e EDWARDS-JONES, 2004; FERREIRA *et al.*, 2012; FONSECA e NEVES, 2013; GUERRA *et al.*, 2012).

A prata possui propriedades antimicrobianas contra um largo espectro de estirpes de bactérias que são encontrados em processos industriais e também no corpo humano (FERREIRA *et al.*, 2012), como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e *Enterococos* resistentes a vancomicina (VRE), *E. coli* e contra alguns fungos como *C. albicans*. Devido a estas características, a prata é adequada para uma ampla gama de aplicações como, por exemplo, em dispositivos médicos e equipamentos cirúrgicos, tais como tubos endotraqueais, materiais para obturação, ataduras, curativos médicos, cirúrgicos e cateteres. Outras aplicações da prata podem ser no tratamento de água, tratamento de acnes e no tratamento de infecções oculares em recém-nascidos (DALLAS *et al.*, 2011), embalagens de alimentos (BOSCHETTO *et al.*, 2012), cosméticos e produtos para cuidados pessoais (LALUEZA *et al.*, 2012).

O efeito antimicrobiano da prata pode ser explicado por vários mecanismos, como o mostrado pela Figura 02.

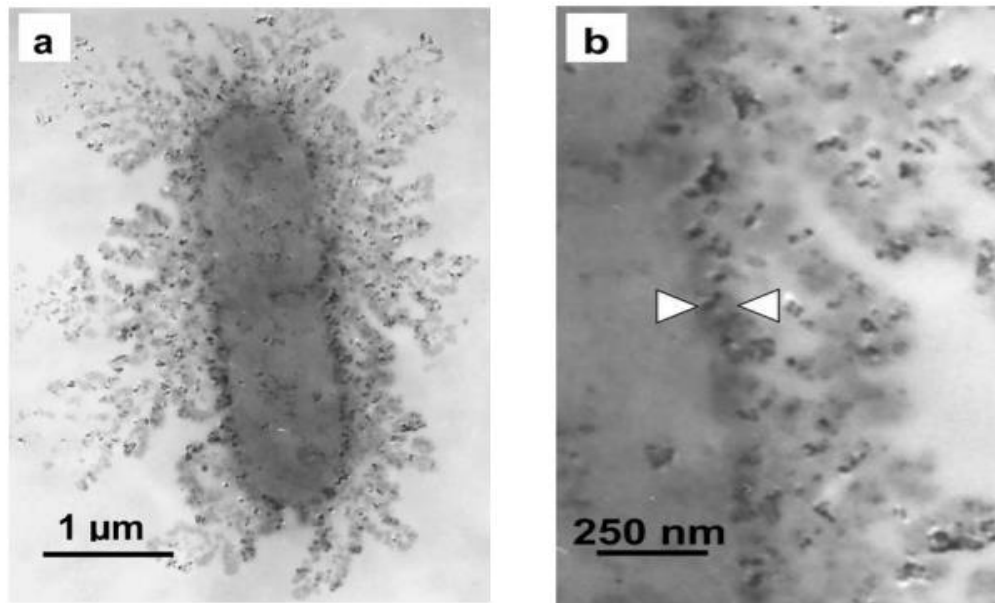


**Figura 2-**Mecanismo da atividade antimicrobiana da prata.  
FONTE: adaptado de LI *et al.* (2008) *apud* HOSSAIN *et al.* (2014).

Assume-se que a alta afinidade da prata com o enxofre e o fósforo é o elemento chave do efeito antimicrobiano. Acredita-se que os íons prata agem contra as bactérias interagindo com o grupo funcional tiol (-SH) das enzimas e proteínas, importantes na respiração bacteriana, interrompem a produção de ATP, e no transporte de substâncias através da membrana celular (GUIBAL *et al.*, 2013; DALLAS *et al.*, 2011). Com o contato da bactéria com íons prata ocorre a plasmólise e a ruptura parcial da membrana citoplasmática e da membrana externa e ainda interrompem a cadeia de transporte de elétrons (SHI *et al.*, 2013; CENCETTI *et al.*, 2012). Íons de prata interagem com as paredes das células das bactérias fazendo com que o DNA perca sua capacidade de replicação e inativam as proteínas celulares, causando a morte das células. Além disso, ajudam na geração de espécies químicas reativas ao oxigênio, formam complexos com nitrogênio, enxofre e oxigênio, prejudicando o mecanismo de divisão celular (BOSCHETTO *et al.*, 2012; GUIBAL *et al.*, 2013).

Sondi e Salopek-Sondi (2004) comprovaram que a atração eletrostática entre as células bacterianas da *E. coli*, carregadas negativamente, e as nanopartículas de prata, carregadas positivamente, é crucial para a ação bactericida das nanopartículas. A microscopia eletrônica de transmissão (MET)

de uma célula de *E. coli* tratada com  $50 \mu\text{g cm}^{-3}$  de nanopartículas de prata é apresentada na Figura 03a e uma ampliação da parede celular da mesma é apresentada na Figura 03b. Nota-se o dano na parede celular da bactéria exposta à prata visualmente, resultando em morte celular devido a um aumento da permeabilidade da membrana celular que causou um colapso osmótico e liberação do material intracelular.



**Figura 3**-Microscopia eletrônica de transmissão de *E. coli* com prata.  
FONTE: SONDI e SALOPEK-SONDI (2004).

Crems tópicos ou soluções contendo prata (por exemplo, sulfadiazina de prata) têm sido longamente utilizados como principal gerenciador de feridas em pacientes com sérias queimaduras, que são especialmente suscetíveis a infecção (AZEVEDO *et al.*, 2006). No entanto, as desvantagens em seus usos incluem mancha na pele e toxicidade. Além de necessitar frequente remoção e reaplicação da sulfadiazina de prata, conforme já dito anteriormente, devido ao desenvolvimento de pseudo-cicatrizes, consomem tempo dos profissionais e é doloroso para os pacientes (CENCETTI *et al.*, 2012). Porém, apresenta eficaz atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella sp* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de apresentar também atividade contra bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* e fungos como *Candida albicans*. É absorvida pela pele, onde forma reservatórios de íons prata, que é liberada nos tecidos adjacentes (AZEVEDO *et al.*, 2006).

Segundo Cencetti *et al.* (2012) bandagens que podem sustentar a liberação de prata não necessitam de trocas tão frequentes afetando positivamente a qualidade de vida do paciente e reduzindo o risco de contaminação durante as trocas.

Atualmente, diversas bandagens de lenta liberação de prata têm sido comercializadas, incluindo o Acticoat<sup>®</sup>, um poliéster de multicamadas e coberto com polietileno antiaderente com nanocristais de prata, Aquacel Ag<sup>®</sup> da Hydrofiber, que é uma bandagem de Na-CMC com prata iônica, Actisorb Silver 220<sup>®</sup> da Johnson & Johnson, sendo este um curativo de carvão ativado com prata metálica, e Silverlon<sup>®</sup>, um tecido revestido de prata (GAISFORD *et al.*, 2009; CENCETTI *et al.*, 2012). Outros curativos comerciais com prata incluem Urgocell Silver<sup>®</sup> e PolyMem Silver<sup>®</sup> (GAISFORD *et al.*, 2009). Essa nova classe de curativos é designada para promover uma atividade antimicrobiana da prata tópica em uma aplicação mais conveniente (GIRATA, 2011; CENCETTI *et al.*, 2012).

Deve-se ressaltar que a eficiência de um curativo que contém prata é determinada pela quantidade total solubilizável de prata e não pela quantidade contida no curativo. Para que a prata esteja biologicamente ativa, ela deve estar na sua forma solúvel como  $Ag^+$  ou aglomerados de  $Ag^0$  (DUNN e EDWARDS-JONES, 2004 *apud* GIRATA, 2011). No seu estado metálico ( $Ag^0$ ) é inerte, mas a prata metálica pode reagir com a umidade da pele, com o exsudato de feridas ou umidade dos alimentos formando íons de prata ativos ( $Ag^+$ ) (BOSCHETTO *et al.*, 2012). No entanto, existe uma crescente atenção dada aos efeitos negativos da liberação de prata a partir desses curativos, que podem causar danos citológicos. A liberação de prata deve ser realizada com cautela, aumentando o efeito positivo (eficiência de erradicar micro-organismos patogênicos) e diminuindo o impacto negativo (morte de células viáveis e inibição da cicatrização). A eficiência do composto de suporte de prata é assim controlada pela estabilidade das interações (GUIBAL *et al.*, 2013; GIRATA, 2011; CENCETTI *et al.*, 2012).

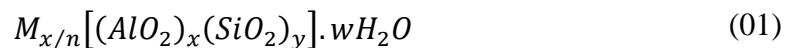
## 2.5 Zeólitas

O termo zeólita foi inicialmente utilizado para designar uma família de minerais naturais que apresentavam propriedades de troca de íons e dessorção reversível de água. Esta última propriedade deu origem ao nome genérico das zeólitas, que deriva das palavras gregas: *zeo*= “que ferve” e *lithos*= “pedra” (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000).

Estruturalmente, as zeólitas são polímeros cristalinos baseados em um arranjo tridimensional de tetraedros  $TO_4$  ( $SiO_4$  ou  $AlO_4^-$ ) ligados por átomos de oxigênio para formar subunidade e enormes redes constituídas por blocos idênticos. Os tetraedros se arranjam em anéis que por sua vez são combinados para formar canais e cavidades regulares e uniformes (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000; BRECK, 1974).

Os tetraedros  $(AlO_4)^-$  induzem à formação de cargas negativas na estrutura zeolítica, isto porque o número de oxidação do alumínio é +3 e o mesmo se encontra coordenado por 4 átomos de oxigênio. A carga negativa induzida pelo alumínio é contrabalanceada por um cátion, denominado cátion de compensação, que se localiza nas cavidades e canais zeolíticos sem pertencer à estrutura cristalina (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000). Os cátions podem ser metais alcalinos e alcalinos terrosos, tais como o sódio, cálcio, potássio e magnésio. Assim, as zeólitas têm uma forte afinidade por cátions de metais de transição alcalinos e alcalinos terrosos, porém pouca afinidade por ânions e moléculas orgânicas não polares (INGLEZAKIS *et al.*, 2001).

A fórmula estrutural pode ser escrita como (BRECK, 1974):



onde  $M$  é o cátion de valência  $n$ ,  $w$  é o número de moléculas de água e a razão  $y/x$  usualmente tem valores de 1-5 dependendo da estrutura. A soma  $(x+y)$  é o número total de tetraedros por célula unitária.

As zeólitas são materiais microporosos que geralmente apresentam uma alta área superficial (maiores que  $350 \text{ m}^2/\text{g}$ ), diâmetro de microporos variável (na faixa de 2 a  $12 \text{ \AA}$ ), alta estabilidade térmica (desde  $200^\circ\text{C}$  a  $1000^\circ\text{C}$ ) e alta estabilidade química (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000; INGLEZAKIS *et al.*, 2001).

Uma das propriedades mais exploradas das zeólitas é a sua capacidade de troca iônica. Normalmente as mesmas são sintetizadas na forma sódica e posteriormente os íons sódio são trocados por outros íons que lhes conferem diferentes propriedades.

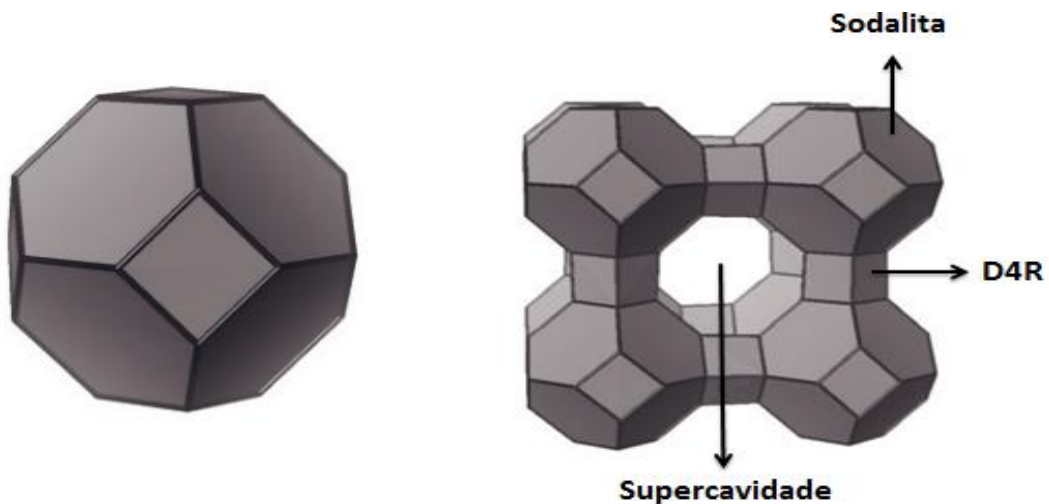
As zeólitas mais utilizadas em adsorção e como trocadores iônicos são as do tipo A e Y, mais ricas em alumina e, conseqüentemente, maior concentração de cátions de compensação e maior seletividade energética de adsorção (FIGUEIREDO e RIBEIRO, 1989).

### 2.5.1 Zeólita A

A zeólita A apresenta relação Si/Al igual a 1 e é inicialmente sintetizada com sódio como cátion de compensação. Pertence a um sistema cúbico e quando está completamente hidratada e em forma sódica apresenta um parâmetro de célula unitária igual a 24,60Å e fórmula química expressa como  $Na_{96}Al_{96}Si_{96}O_{384} \cdot 27H_2O$  (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000).

Sua estrutura cristalina pode ser descrita através da união de dois tipos de poliedros: um cubo simples (4-4) formado pela união de dois anéis de quatro tetraedros (D4R) e, um octaedro truncado formado pela combinação de 24 tetraedros, mais conhecido como cavidade  $\beta$  ou caixa sodalita (Figura 04a). A união das caixas sodalitas, por quatro de suas faces quadradas, com os anéis duplos de quatro tetraedros conduz a um poliedro, o qual encerra uma grande cavidade conhecida como “supercavidade  $\alpha$ ” de diâmetro interno igual a 11,4 Å, acessível através de poros delimitados por 8 átomos de oxigênio de abertura livre igual a 4,2 Å (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000);

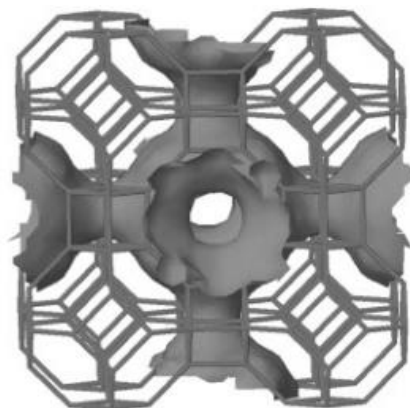




(a) Caixa sodalita (b) Estrutura formada por sodalitas e DR4  
**Figura 4-**Modelo esquemático da disposição da estrutura da zeólita A.

Fonte: adaptado de KULPRATHIPANJA (2010).

A combinação destas supercavidades  $\alpha$  entre si e com as cavidades  $\beta$  origina a estrutura final da zeólita apresentada na Figura 4b que apresenta dois sistemas de canais tridimensionais interconectados entre si: um sistema formado pela união de supercavidades  $\alpha$ , que conforme anteriormente mencionado apresenta um diâmetro interno de 11,4 Å, acessível através de aberturas circulares formadas por anéis de 8 átomos de oxigênio, de diâmetro igual a 4,2 Å; e, um sistema de canais formado pela conexão alternada de cavidades sodalitas e supercavidades  $\alpha$ , acessível por aberturas formadas por 6 átomos de oxigênio de diâmetro igual a 2,2 Å (Figura 5) (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000).



**Figura 5-**Sistemas de Canais e cavidades da zeólita A.  
 Fonte: KULPRATHIPANJA (2010).

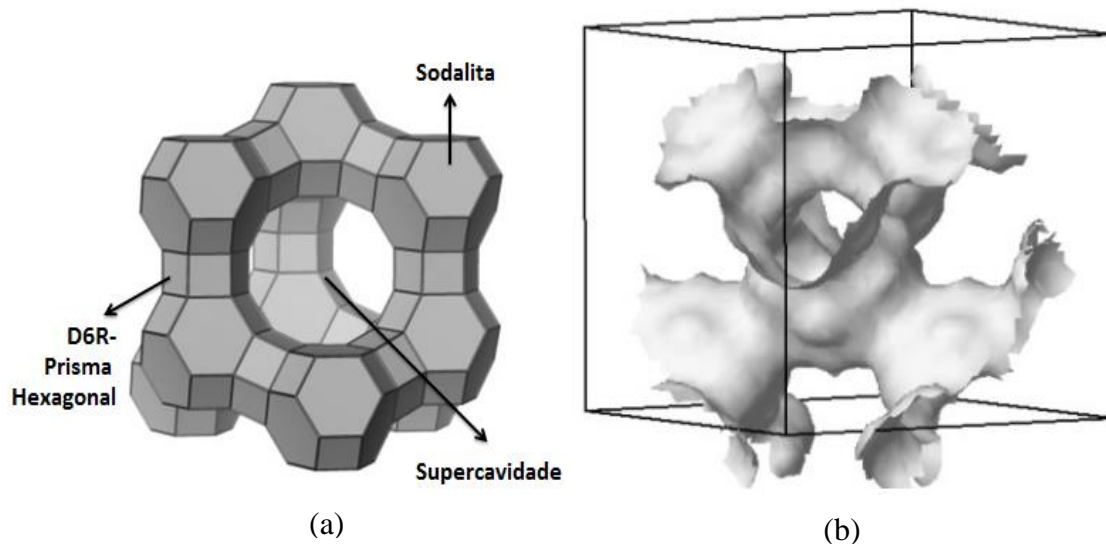
### 2.5.2 Zeólita Y

A razão Si/Al para a zeólita Y assume valores acima de 1,5 chegando até 3. Apresenta unidades de celas cúbicas com uma grande dimensão de aproximadamente 25Å e 192 tetraedros (Si,Al)O<sub>4</sub>. A relação entre o número de tetraedros de alumínio N<sub>Al</sub> e a razão Si/Al é dada pela Equação 02 (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000):

$$N_{Al} = \frac{192}{\left(1 + \frac{Si}{Al}\right)} \quad (02)$$

Sua estrutura é muito parecida com a estrutura da zeólita A. A diferença é que, em lugar de unidades secundárias de construção 4-4 (DR4), são anéis duplos de seis tetraedros 6-6 (DR6), utilizados para unir as caixas sodalitas. A união destes 6-6, com quatro faces hexagonais das cavidades sodalitas ou cavidades beta (bem como na zeólita A) formam um poliedro, que engloba uma grande cavidade, a grande cavidade α, mas agora com um diâmetro interno de 12,4 Å e na qual se adentra através de aberturas poros delimitados por anéis de 12 átomos de oxigênio, com uma abertura livre de cerca de 8 Å (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000).

A combinação das supercavidades α entre si e com as caixas sodalitas origina a estrutura final da zeólita (Figura 06a). A mesma apresenta dois conjuntos de canais tridimensionais interconectados entre si: um sistema formado pela união de supercavidades α na qual se adentra por aberturas formadas por anéis de 12 átomos de oxigênio de diâmetro igual a 7,8 Å e um sistema de canais formados pela conexão alternada de cavidades sodalitas e supercavidades α, na qual se adentra por aberturas formadas por 6 átomos de oxigênio de diâmetro igual a 2,2 Å (Figura 6b) (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000).



**Figura 6**-Zeólita Y (a) Modelo esquemático e (b) sistemas de canais e cavidades da zeólita Y.  
Fonte: adaptado de KULPRATHIPANJA (2010).

### 2.5.3 Atividade antimicrobiana de zeólitas com prata

Para que a zeólita adquira propriedades antibacterianas pode-se realizar dois procedimentos:

- Troca iônica utilizando uma solução de nitrato de prata. Possibilita a liberação controlada da prata, na medida em que a prata contida na zeólita é substituída (trocada) por íons sódio e cálcio presentes no exsudato de feridas.
- Impregnação de antibióticos na zeólita, como por exemplo, a sulfadiazina de prata ou nitrato de prata que inibe os micro-organismos patogênicos através do contato da sulfadiazina de prata ou íons prata sem a necessidade de substituição iônica, como no item anterior.

Zeólitas trocadas com prata podem atuar como um reservatório inorgânico e liberar íons de prata controladamente. A partir deste pressuposto, Kwakye-Awuah *et al.* (2008) sintetizaram uma zeólita X trocada com íons prata através deste procedimento. A cinética de liberação dos íons prata da rede zeolítica segue uma cinética de primeira ordem. É sugerido então que a zeólita X foi responsável pela lenta e contínua liberação de íons prata. Foi verificado que esta inibiu o crescimento das bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em menos de 1 h.

Chmielewska e Lesny (2012) verificaram que a força motriz para a liberação de  $Ag^+$  não depende somente da concentração de prata na zeólita e

em torno da solução, mais também da concentração de outros cátions que podem ocupar os sítios trocados e liberar o  $\text{Ag}^+$  da estrutura zeolítica. Deve-se levar em conta que a composição química dos meios de cultura das bactérias influencia na liberação de  $\text{Ag}^+$  e o crescimento bacteriano altera a viscosidade do meio, e, por conseguinte, modifica a taxa de difusão de íons prata da zeólita. O meio também pode interferir sequestrando íons  $\text{Ag}^+$  através de quelação ou por interação com proteínas das bactérias e também sequestrar íons prata através de ligação com o peptidoglicano, conduzindo a uma maior sensibilidade da bactéria Gram-negativa à prata, uma vez que a quantidade de peptidoglicano é 3-20 vezes menor em relação a bactérias Gram-positivas.

Ferreira *et al.* (2012) investigaram as propriedades antimicrobianas de Ag-zeólitas pelo método de diluição em ágar usando duas bactérias (*E. coli* e *Bacillus subtilis*) e duas leveduras (*Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*) como indicador de estirpes sensíveis. Eles observaram que as zeólitas de partida (NaY e NaX) não mostraram atividade antimicrobiana, enquanto que ambas as zeólitas trocadas com prata (AgX e AgY) exibiram propriedades antimicrobianas sugerindo que o comportamento antimicrobiano é devido à presença de prata na estrutura das zeólitas faujasitas. Estes autores mostraram que o estado de oxidação da prata desempenha um papel importante na atividade antimicrobiana. A concentração mínima inibitória (MIC) da zeólita AgY foi de 0,2 mg/mL enquanto que para a zeólita AgX foi de 0,3 mg/mL para as bactérias *E. coli* e *Bacillus subtilis*. O maior valor de MIC encontrado para AgX é que nesta zeólita a prata se encontra na forma metálica e em AgY na forma de íons prata.

Segundo Kawahara *et al.* (2000) proteínas e cloretos presentes no caldo BHI (*brain heart infusion*) inativam uma parcela significativa de  $\text{Ag}^+$  liberada a partir da zeólita influenciando na atividade antimicrobiana contra estirpes bacterianas presentes na saliva.

Laluzza *et al.* (2011b) afirmam que o efeito bactericida da prata depende de sua biodisponibilidade. Estes autores compararam a atividade antimicrobiana de duas zeólitas comerciais, zeólita mordenita em pellets com 15-20% de prata em peso e zeólita mordenita em forma de partículas granulares (20 mesh) com 35% de prata, ambas da Sigma Aldrich, com zeólita ZSM-5 0,2% de prata, sintetizada pelos autores. Foi constatado que

grandes *clusters* metálicos presentes em ambas as amostras comerciais liberaram lentamente  $\text{Ag}^+$ , ao passo que a zeólita ZSM-5 com prata, por não haver a formação de *clusters* e pela prata estar bem distribuída dentro de seus poros, apresentou uma rápida liberação de  $\text{Ag}^+$  inibindo os micro-organismos patogênicos mais rapidamente.

Além da propriedade de troca iônica que pode induzir atividade antimicrobiológica na zeólita quando a prata é o cátion de compensação presente, as zeólitas também podem apresentar propriedades hemostáticas e por isto têm sido utilizadas em um novo agente hemostático, denominado QuickClot<sup>®</sup> que é produzido pela empresa Z-Medica Corp (Wallingford, Estados Unidos da América). O uso deste produto foi aprovado pelo FDA para o tratamento de sangramentos de feridos em campos de batalha (ARNAUD *et al.*, 2008).

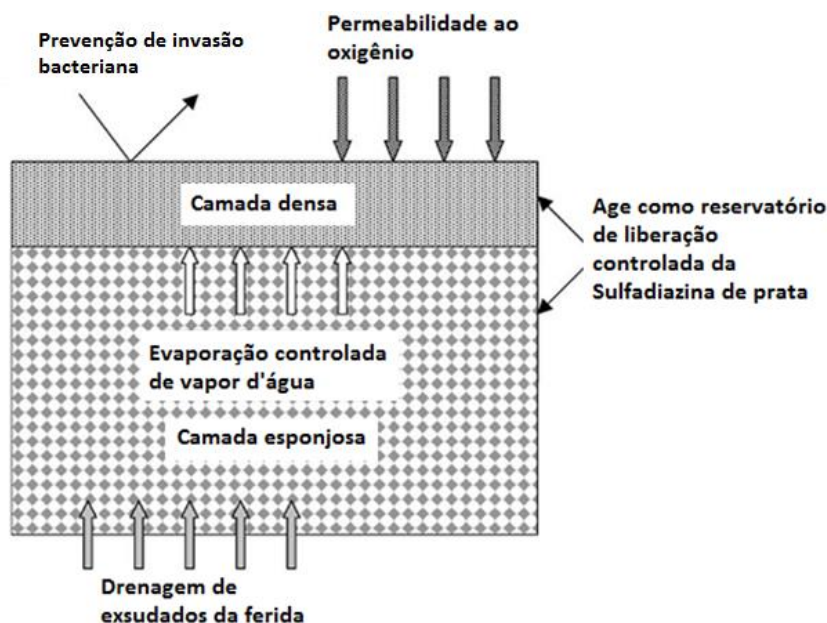
O QuikClot<sup>®</sup> é composto por esferas de aluminossilicatos porosos que oferecem elevada área superficial e atuam como uma peneira molecular. Quando o material entra em contato com o sangue, ele rapidamente adsorve moléculas de água do sangue e as mantém adsorvidas nos poros através de ligações de hidrogênio, que de acordo com o fabricante, possibilita o aumento da concentração das proteínas e de elementos celulares no local, conseqüentemente catalisando a formação do coágulo (ARNAUD *et al.*, 2008).

## 2.6 Filmes poliméricos

Muitos autores têm estudado a impregnação de sulfadiazina de prata diretamente em uma matriz polimérica com a finalidade de recobrir a queimadura e liberar a prata sobre o ferimento.

Mi *et al.* (2003) desenvolveram uma membrana de quitosana assimétrica na qual continha em uma camada densa e uma porosa semelhante a uma esponja. A película densa proporcionava uma barreira contra invasão bacteriana e controle da evaporação do vapor de água no local da ferida. No entanto, deve haver transporte de oxigênio para que haja a proliferação celular e a repitelização do tecido lesado. A camada esponjosa porosa destinou-se à drenagem de exsudados da ferida e proporcionou um espaço para a regeneração do tecido. Tanto a camada de película densa como a camada

esponjosa atuaram no controle da liberação de sulfadiazina de prata. Um esquema da membrana assimétrica como um curativo funcional é mostrado na Figura 07. Esta membrana atuou como um agente controlador na liberação de íons da prata e sulfadiazina. Foram realizados ensaios antimicrobianos contra estirpes bacterianas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) que mostraram que os filmes de quitosana assimétrica apresentaram uma atividade antimicrobiana prolongada e uma diminuição do potencial tóxico da prata considerável.



**Figura 7-**Membrana de quitosana assimétrica com sulfadiazina de prata.

Fonte: adaptado de Mi *et al.*, (2003).

Fajardo *et al.* (2013) desenvolveram curativos para queimaduras incorporando sulfadiazina de prata (AgSD) em um filme de quitosana (CHI) e de sulfato de condroitina (CS). Este é um polissacarídeo sulfatado que consiste de cadeias repetidas de moléculas denominadas mucopolissacarídeos. É o maior constituinte da cartilagem, promovendo estrutura, retenção de água e nutrientes e permite que outras moléculas se movam através da cartilagem. Para simular a liberação do antibiótico, ensaios *in vitro* foram realizados com solução salina tamponada com fosfato, PBS, em pH 7,4 e com temperatura controlada de 37°C para simular o plasma sanguíneo. O AgSD pode sofrer dissociação em íons prata ( $\text{Ag}^+$ ) e sulfadiazina e a liberação depende do equilíbrio químico das interações iônicas entre os íons prata e sulfadiazina na matriz do filme. Esta inconsistência sobre os íons  $\text{Ag}^+$  e de liberação sulfadiazina pode ser atribuída ao fato de que os íons  $\text{Ag}^+$  interagem com os

grupos amino de CHI e, conseqüentemente, a sua libertação é mais lenta. Por outro lado, a sulfadiazina não interage especificamente com qualquer grupo funcional presente na matriz de película na condição de pH de 7,4 e, em seguida, pode-se espontaneamente difundir para fora da matriz do filme. Deste modo, a elevada concentração de íons  $\text{Ag}^+$  libertados pode ser evitada porque são tóxicos para a pele ou sobrecarregam alguns órgãos. Além disso, alguns estudos mostram que os íons de prata não são tóxicos *in vitro* e *in vivo* em doses baixas. Os filmes CHI/CS/AgSD são capazes de liberar continuamente AgSD por no mínimo 96 h (4 dias), com uma fração de libertação máxima de 82%. Atividade antibacteriana e ensaios de viabilidade celular mostraram que todos os filmes de CHI/CS/AgSD apresentaram atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Outro resultado importante é que o estudo de viabilidade comprovou que todos os filmes não são tóxicos, portanto os filmes de CHI/CS/AgSD são bons candidatos para serem testados como um curativo para queimaduras.

Azevedo *et al.* (2006) investigaram as propriedades mecânicas de filmes de quitosana impregnados com sulfadiazina de prata, variando as concentrações de plastificantes (glicerol ou sorbitol), bem como a presença ou não de um agente de reticulação (formaldeído). A liberação da droga também foi avaliada variando outras condições como, por exemplo, usando diferentes espessuras de filmes e de concentração de drogas. Os resultados mostraram que os aditivos diminuem a resistência à tração do filme de quitosana (com exceção de sorbitol a 20% m/m), enquanto que, ao mesmo tempo notavelmente melhora a percentagem de alongamento dos filmes. O tipo de plastificante também influenciou na liberação da sulfadiazina de prata. Glicerol teve um efeito maior do que o sorbitol na velocidade de libertação, independentemente da quantidade usada, provavelmente devido a uma maior liberação deste aditivo do filme, que deixa os poros e faz aumentar a absorção de água pela película. Outro fator é que o aumento da concentração de sulfadiazina de prata e a diminuição da espessura do filme leva a um aumento da taxa de liberação de íons prata e sulfadiazina.

Cabe ressaltar que outros componentes podem ser incorporados às matrizes poliméricas para aumentar a rapidez da cicatrização e repitelização. Podem ser adicionados pró-coagulantes para potencializar o efeito

hemostático, outros agentes antibactericas ou fatores de crescimento para induzir uma rápida repitelização.

Ong *et al.* em 2008 desenvolveram um curativo de quitosana incorporando um pró-coagulante (polifosfato) e um agente antimicrobiano (prata) a fim potencializar o efeito hemostático e anti-bactericida dos curativos HemCon<sup>®</sup> comerciais e não ter o inconveniente de aumento de temperatura no ferimento. Foi observado que os filmes contendo quitosana/polifosfato/prata exibiram uma maior atividade antimicrobiana em comparação com os filmes contendo apenas quitosana/polifosfato, alcançando a eliminação completa de *Pseudomonas aeruginosa* e 99,99% de eliminação de *Staphylococcus aureus*. O novo curativo apresentou propriedades de aceleração da coagulação sanguínea, adesão de plaquetas, geração de trombina, e absorveu mais sangue do que curativos somente feitos de quitosana.

Os fatores de crescimento são polipeptídeos que controlam o crescimento, diferenciação e metabolismo das células e ainda regulam o processo de reparação dos tecidos. Alemdaroğlu *et al.* (2006) desenvolveram um gel de quitosana (2%) contendo um fator de crescimento epitelial (EGF) (10 mg) para ser aplicado no tratamento de queimaduras. Através de estudos *in vitro* foi constatado que 97,3% de EGF foi liberado após 24 h. No estudo *in vivo*, os ratos tratados com o gel de quitosana com EGF apresentaram um aumento significativo na proliferação celular e uma melhor e mais rápida epitelização da área queimada.

Ainda são poucos os trabalhos que envolvem compósitos de polímeros naturais com zeólitas, como por exemplo, filmes de quitosana/álcool polivinílico contendo zeólitas A ou X (VICENTINI *et al.*, 2010), filmes de quitosana contendo a zeólita silicalita-1 (ZHOU *et al.*, 2008), porém, na maioria das vezes estes materiais são desenvolvidos para serem utilizados como embalagens ativas para alimento.

Kaali *et al.* (2011) estudaram a preparação de compósito de poliuretano contendo zeólitas trocadas com íons prata, cobre e zinco. Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados com *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida tropicalis*. Os resultados mostraram que a eficiência do íon prata é superior à dos outros íons individuais. Por outro lado, as zeólitas trocadas simultaneamente com dois ou três destes íons



apresentaram atividade antimicrobiana semelhante, independentemente dos íons presentes na zeólita.

Fernández *et al.* (2010) investigaram a produção de filmes compósitos de ácido polilático (PLA) e zeólitas contendo prata para aplicação em embalagens de alimentos. Observaram que a liberação da prata é afetada pelo método de preparação dos filmes, bem como pelos íons presentes na solução em que a prata é liberada e a temperatura em que se processa a liberação. A liberação dos íons prata foi capaz de reduzir aproximadamente 90% da carga microbiana de *E. coli* e *S. aureus* após 24 h de contato. A grande quantidade de prata liberada pelos filmes impossibilitou a sua utilização em alimentos, porém, os resultados confirmaram que os filmes compósitos podem ser usados como uma superfície antimicrobiana.

Pehlivan *et al.* (2005) avaliaram os efeitos da quantidade de zeólita e do teor de prata em compósitos de polipropileno. Os resultados mostraram que a tensão de ruptura, a deformação de ruptura e módulo de Young diminuem com o aumento da concentração de zeólita nos filmes. A diminuição do módulo de Young foi atribuída à formação de vazios ao redor das zeólitas devido à fraca ligação entre a zeólita e a matriz de polipropileno. Por outro lado, a concentração de prata não afetou os valores do módulo de Young do compósito, mas induziu uma leve redução na tensão de ruptura e deformação de ruptura dos filmes compósitos. Concluíram que as condições ótimas para obter filmes de zeólitas/polipropileno variam de 2 a 4 % de zeólitas trocadas com a proporção de 4,36 mg de Ag<sup>+</sup>/g de zeólitas.

Filmes de polietileno contendo zeólitas naturais (clinoptilolita + heulandita) foram produzidos por Dirim *et al.* (2004). Os resultados indicaram que a adição das zeólitas promoveu alterações significativas nas propriedades de barreira dos filmes. Os filmes compósitos de zeólitas/polietileno apresentaram menor permeabilidade ao vapor d'água do que os filmes de polietileno puro, que atribuíram esta redução a duas razões: a área de polietileno disponível é reduzida pela presença de partículas sólidas e estas partículas sólidas têm propriedade de absorção.

Boschetto *et al.* (2012) incorporaram zeólita Y trocada com prata em filmes de polietileno e verificaram que uma concentração de 0,5 mg/mL de zeólita Y com 5% de prata foi capaz de inibir totalmente o crescimento de

bactérias patogênicas promovendo uma efetiva atividade antimicrobiana durante 24 h. A concentração mínima inibitória encontrada para essa zeólita foi de 0,5 mg de zeólita/mL correspondendo a 0,025 mg de Ag/mL. No teste de liberação da prata observou-se que 56% da prata presente na zeólita foi liberada para o meio líquido. Quando estas zeólitas com prata foram adicionadas nos filmes a quantidade de prata liberada foi de apenas 5%. Estes resultados mostraram que quando a zeólita é imobilizada no filme, a taxa de liberação é consideravelmente menor devido ao aumento da resistência à difusão dos íons prata que precisam se libertar da zeólita e da matriz polimérica.

Vários autores (VICENTINI *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010b; WU *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2008a, WANG *et al.*, 2008b; YUANA *et al.*, 2007) comprovaram um bom funcionamento da célula a combustível utilizando membranas de quitosana com zeólitas puras, como NaX, NaY, NaA, beta, mordenita e ZSM-5, pois estas apresentam boa condutividade protônica, manutenção de água em altas temperaturas, e maior sustentação mecânica. Estes autores verificaram que a adição de zeólita nos filmes de quitosana aumenta a rigidez das cadeias de quitosana resultando na redução da capacidade de absorção de água, aumento no módulo de Young e da tensão de ruptura e uma diminuição da porcentagem de alongação quando comparado com os filmes de quitosana pura. Houve uma diminuição da cristalinidade do filme com a adição de zeólita, pois estas interferem no empacotamento ordenado de cadeias de quitosana por efeitos estéricos e pela formação de ligações de hidrogênio entre os grupos de superfície-OH da zeólita e com os grupos NH<sub>2</sub> da quitosana.

Apesar da grande quantidade de estudos referentes a propriedades antimicrobianas das zeólitas com prata, dos filmes de quitosana com sulfadiazina de prata ou dos filmes poliméricos com zeólita pura, não há na literatura disponível, além dos iniciados por nosso grupo de pesquisa, estudos referentes à aplicação de zeólitas com prata em filmes poliméricos de quitosana que conciliam as propriedades antimicrobianas, antifúngicas, cicatrizantes e amenizadoras de dor, destes materiais para a formulação de curativos ativos para o tratamento de queimaduras. A zeólita é adicionada neste curativo para funcionar como agente de liberação controlada de prata,

justo que esta deve ser administrada na quantidade e no tempo certo para não retardar a cicatrização e causar danos ao paciente. Daí a necessidade de se desenvolver um novo curativo e avaliar suas propriedades físico-químicas, mecânicas, propriedades de barreira e atividade antimicrobiana contra estirpes de micro-organismos patogênicos.

# CAPÍTULO III

## MATERIAIS E MÉTODOS

A parte experimental deste trabalho foi realizada nos Laboratórios de Catálise do Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá- UEM e no Laboratório de Biotecnologia e Sistemas Naturais (LBSN) localizado na unidade José Alencar da Universidade Federal de São Paulo- UNIFESP.

### 3.1 Materiais

Neste trabalho foram avaliados os efeitos da incorporação de dois diferentes tipos de zeólitas, NaY com granulometria de 0,054 mm (cedida pela Fábrica Carioca de Catalizadores- FCC) e NaA em filmes de quitosana. Foram estudados dois tipos de zeólita NaA, uma gentilmente cedida pela empresa Oxanyl a qual se apresenta comercialmente na forma de pó (0,045 mm) e outra cedida pela Bayer, com nome comercial de Baylith 146 apresentada na forma de esferas (3 mm). Esta foi submetida à redução de granulometria utilizando um moinho de laboratório multi-uso da marca Tecnal. O diâmetro médio final obtido para a zeólita NaA Baylith foi de 0,054 mm.

Além de comparar a influência do tipo de suporte, neste estudo também foi comparada a influência do tipo de fase ativa presente. Então, como sais precursores antibacterianos foram utilizados o nitrato de prata P.A. ( $\text{AgNO}_3$ ) da marca Nuclear e a sulfadiazina de prata adquirida pela empresa Fagron do Brasil Farmacêutica Ltda, porém fabricado na Índia pela indústria J.P.N. Pharma PVT.LT.

Para a síntese dos filmes poliméricos foi utilizada quitosana com grau de desacetilação 89% produzida pela empresa Polymar (Fortaleza, Brasil), sem purificação prévia.

Para os testes antimicrobianos foram utilizadas linhagens de *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e também a levedura *Candida Albicans* (ATCC 10231).

## 3.2 Métodos

A metodologia adotada neste trabalho foi realizada em etapas e está descrita no fluxograma da Figura 08.

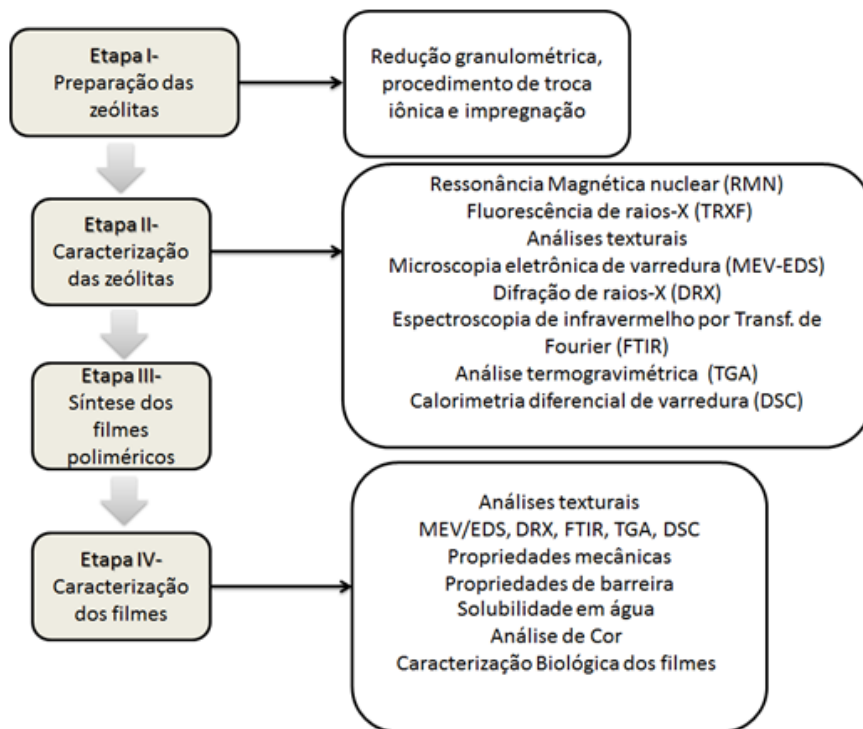


Figura 8-Fluxograma das etapas deste estudo.

### 3.2.1 Preparação das zeólitas impregnadas e trocadas

Para a incorporação da prata nas zeólitas foi utilizada a metodologia de troca iônica e de impregnação úmida. Para a incorporação de sulfadiazina de prata foi utilizada apenas a metodologia de impregnação úmida.

A nomenclatura das zeólitas impregnadas e trocadas com prata e as impregnadas com sulfadiazina de prata segue o seguinte padrão: **aAgb-c-d**, no qual **a** é o teor de prata ou sulfadiazina de prata adicionada ao suporte (5 ou 10%), **b** é o tipo de zeólita ("A" ou "Y"), **c** é o modo de preparação (troca iônica ou impregnação úmida, denotados respectivamente por "TI" e "I") e **d**, quando comparado as zeólitas A (fabricada pela empresa Oxanyl denominada de "-O" ou Baylith denominada de "-B"). Sulfadiazina de prata será denotada como SDP, sendo sua nomenclatura distinta: **aSDPb-c**, onde **a** é o teor, 5%, **b** é o

suporte zeolítico que no caso é a zeólita Y e **c** é o procedimento, sendo então esta amostra denominada de 5SDPY-I.

Para melhor visualização da nomenclatura das amostras a Tabela 01 mostra a notação e o procedimento de preparação utilizado.

**Tabela 1-** Zeólitas impregnadas e trocadas

	<b>Notação</b>	<b>Modo de preparação</b>
1	5AgY-TI	Troca iônica
2	5AgA-TI-O	Troca iônica
3	5AgA-TI-B	Troca iônica
4	5AgY-I	Impregnação úmida
5	10AgY-I	Impregnação úmida
6	5SDPY-I	Impregnação úmida

### 3.2.1.1 Procedimento de impregnação

A metodologia utilizada foi a impregnação úmida com excesso de solvente de 5% ou de 10% de prata ou de sulfadiazina de prata impregnados em 20 g de suporte zeolítico. As amostras impregnadas com nitrato de prata foram realizadas com o objetivo de obter zeólitas com prata na forma de óxido.

Inicialmente secou-se a zeólita na estufa da marca Quimis a 100°C por 24 h. Solubilizou-se o nitrato de prata (quantidade necessária para produzir a Ag-zeólita no teor desejado de fase ativa) em água deionizada. Já para os suportes impregnados com sulfadiazina de prata foi utilizado hidróxido de amônio 30% (Vetec) para solubilizar o precursor em quantidade suficiente para obter uma solução final límpida.

Foi realizada a evaporação do solvente mantido sob vácuo e temperatura de 70°C até que todo o conteúdo de água evaporasse. O material resultante foi posteriormente seco a 100 °C por 12 h em estufa da marca Quimis. As amostras impregnadas com nitrato de prata foram submetidas a uma calcinação a 500°C por 5 h com rampa de aquecimento de 5 C/mim, para que o nitrato contido na amostra se volatilizasse e para a obtenção de óxido de prata. Como a temperatura de decomposição da sulfadiazina de prata é de apenas 285°C, a etapa de calcinação não foi realizada.

### 3.2.1.2 Procedimento de troca iônica

As trocas iônicas foram realizadas com o objetivo de se obter zeólitas NaA e NaY trocadas com prata na forma metálica. A troca foi realizada em batelada segundo o procedimento proposto por Silva e Fernandes-Machado (1994).

Solubilizou-se o nitrato de prata em quantidade necessária para produzir o catalisador no teor desejado de fase ativa 5% (massa) em água deionizada, na qual a razão  $\text{Ag}^+/\text{Na}^+$  foi igual a 2. O teor de sólidos no reator de teflon, tomando a razão massa seca de zeólita/massa total da suspensão, foi de 15% (massa). O reator era então colocado em um banho termostático com agitação mecânica a uma temperatura de 80°C. Adicionou-se lentamente a solução de sal de prata. Após 30 minutos de agitação a solução foi filtrada e lavada 3 vezes. A primeira lavagem consistiu de 70% do volume da suspensão em água deionizada com a mesma quantidade de sal utilizada na troca. A segunda e a terceira lavagens foram realizadas com 70% do volume da suspensão em água deionizada. Em seguida, a torta foi seca em estufa a 100°C por 12 h.

### 3.2.2 Preparo dos filmes poliméricos

A quitosana foi solubilizada em solução aquosa contendo ácido acético adicionado em quantidade estequiométrica mais 50% em excesso, baseado no grau de desacetilação e massa de amostra, visando garantir a total protonação dos grupos amino da molécula de quitosana. A solução foi mantida sob agitação magnética por 2 h para a solubilização total. Como agente plastificante foi adicionado glicerol 25% (g de glicerol/massa seca de quitosana) (SEITZ *et al.*, 2001, *apud* LAMIM, 2006).

A solução de quitosana contendo zeólita foi preparada de maneira similar à apresentada anteriormente, porém, adicionou-se 0,2% de zeólita em relação à massa total de solução (m/m) juntamente com o glicerol e homogeneizou-se a solução resultante sob agitação mecânica à 2000 rpm por 2 h. Em seguida, a suspensão obtida foi transferida para um kitassato e desaerada em bomba de vácuo por um tempo necessário (de 10 a 15 min).

Os filmes foram preparados dispersando a solução de quitosana com e sem zeólitas em placas de petri de polietileno quadradas na proporção

constante de 0,21 g/cm<sup>2</sup>. As placas foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar à 37°C por 24 horas (Tecnal modelo TE-394-4). Após, os filmes secos foram removidos cuidadosamente da placa e devidamente armazenados.

Além dos filmes com e sem zeólita, também foram preparados filmes com zeólita NaY, ou seja, filme de quitosana com zeólita sem prata e filmes de sulfadiazina de prata sem zeólita, para fins de comparação. No primeiro caso observa-se a influência da prata nas propriedades dos filmes e no segundo caso estuda-se a influência da zeólita na liberação de sulfadiazina de prata.

### **3.2.3 Caracterização dos materiais**

#### **3.2.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Os experimentos de RMN o estado sólido foram realizados em um equipamento Varian, modelo Mercury plus 300, no qual operou a 59,6132 MHz para a frequência do núcleo de <sup>29</sup>Si e 78,186 MHz para o núcleo de <sup>27</sup>Al, equipado com sonda de sólidos CP/MAS 7 mm.

Tanto nas leituras de silício como de alumínio utilizou-se a técnica MAS e os principais parâmetros utilizados foram: tempo de aquisição 0,050 s, pulso de 90°, temperatura ambiente e tempo de espera para reciclagem (d1) de 20 s. As amostras de silício foram analisadas em rotor de zircônia, 7 mm de diâmetro, com tampa de Kel-F com velocidade de rotação de 3,5 KHz. Já as amostras de alumínio foram analisadas em rotor de nitreto de silício, 7 mm, com tampa de Kel-F, e a velocidade de rotação foi de 6,5 KHz. Os espectros tiveram como referência externa o sinal do caulim (-91,16 ppm). As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa e Extensão do Departamento de Química da UEM (DQI/UEM).

#### **3.2.3.2 Fluorescência de raios X por Reflexão Total (TXRF)**

A análise de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) foi utilizada para a determinação da quantidade de prata nas zeólitas após as impregnações e trocas iônicas.



As amostras foram previamente preparadas e fixadas em refletores de quartzo, os quais foram irradiados por 800 s sob reflexão total por um feixe de raios X de 20 keV, extraído da fonte radioativa de Molibdênio, para determinação da concentração dos elementos presentes nas amostras. Do disco foi gerado um espectro TXRF, sendo as intensidades de pico das linhas K, L e M transformadas em termos de concentrações elementares ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) pelo próprio software do equipamento (S2 PICOFOX). As análises foram realizadas no Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná- UNIOESTE.

### 3.2.3.3 Análises texturais

A análise textural foi realizada com a finalidade de se determinar a área específica, volume total de poros, diâmetro médio de poros e volume de microporos e mesoporos utilizando o equipamento QuantaChrome NOVA do Laboratório de Catálise DEQ/UEM, por meio de isotermas de equilíbrio de adsorção física de  $\text{N}_2$ . A temperatura de ativação das amostras foi de  $300^\circ\text{C}$  para todas as zeólitas e de  $70^\circ\text{C}$  para os filmes compósitos, sendo estas, temperaturas adequadas para a secagem do material e para a remoção de quaisquer espécies adsorvidas. Antes da ativação dos filmes poliméricos, estes foram cortados em dimensões de aproximadamente 2 mm e a massa utilizada foi de 10 mg de filme.

### 3.2.3.4 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias das amostras zeolíticas foram obtidas por meio de um microscópio eletrônico de varredura (Shimadzu SS-550) do Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa – COMCAP da UEM. Neste mesmo microscópio foi também realizada, com a utilização da sonda de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDX), as análises da composição química superficial das zeólitas com prata ou sulfadiazina de prata bem como o mapeamento dos principais componentes a fim de verificar a dispersão destes na superfície das amostras.

A avaliação da estrutura final dos filmes poliméricos de quitosana puros ou com zeólitas foi realizada sobre a superfície longitudinal e na área transversal de ruptura, após fratura criogênica utilizando nitrogênio líquido. Foi

utilizado um microscópio eletrônico de varredura 440i (LEO Electron Microscopy Ltda.). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Recursos Analíticos e Calibração da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP.

### **3.2.3.5 Difração de Raios X (DRX)**

As análises de difração de raios X dos filmes poliméricos e das zeólitas foram realizadas utilizando um difratômetro Bruker D8 Advance do Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa – COMCAP da UEM. Utilizou-se uma fonte de radiação de emissão de cobre ( $\text{CuK}\alpha$ ,  $0,24^\circ/\text{min}$  na varredura, 40 kV e 50 mA) e varredura de  $2\theta$  variando na faixa  $4\text{-}50^\circ$ . Todos os difratogramas foram interpretados utilizando o banco de dados do software JCPDS.

### **3.2.3.6. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

Os espectros das zeólitas em pó foram obtidos utilizando um espectrofotômetro da Bruker modelo Vertex 70v. A leitura foi realizada na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) abrangendo o número de onda de  $400$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$  e com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . As amostras foram pastilhadas juntamente com KBr para se obter uma pastilha de 0,5% de amostra.

Para os filmes poliméricos a análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada com o espectrômetro IRPrestige21 da Shimadzu com um acessório Atenuador Universal de Refletância Total (UATR) à temperatura ambiente. Realizou-se quinze varreduras para cada amostra, com um range espectral de  $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  e uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ .

### **3.2.3.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)**

As amostras de filmes poliméricos e de zeólitas foram analisadas utilizando-se um calorímetro diferencial de varredura DSC 60 da Shimadzu. As amostras de filmes (2-3,5 mg) foram acondicionadas em cápsulas de alumínio hermeticamente fechadas. As cápsulas foram submetidas a uma taxa de

aquecimento de 10°C/min na faixa de temperatura de 30°C a 550°C sob fluxo de nitrogênio (50 mL/min). O equipamento estava previamente calibrado com amostra do elemento índio. As entalpias foram calculadas utilizando o software do equipamento TA.60.

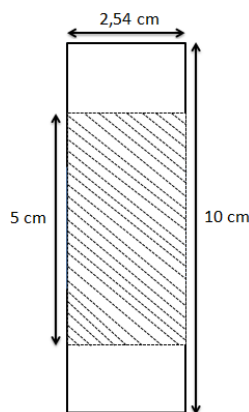
### **3.2.3.8 Análises termogravimétricas (ATG)**

As análises termogravimétricas (ATG) foram realizadas em um equipamento da marca Shimadzu, modelo DTG-60. As amostras de filmes e de zeólitas (10~15mg) foram acondicionadas em cápsulas de platina mantidas abertas durante a análise e submetidas a uma taxa de aquecimento de 10°C/min na faixa de temperatura de 30°C a 700°C sob fluxo de nitrogênio (100 mL/min). A perda de massa foi calculada utilizando o programa TA.60.

### **3.2.3.9 Propriedades mecânicas**

As propriedades mecânicas foram medidas baseadas na metodologia padronizada ASTM D-882 (ASTM, 1995a) utilizando um texturômetro TA.XT2 (Stable Microsystems, Inglaterra) pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa - COMCAP/UEM.

Os filmes foram cortados em dimensões de 10 cm x 2,54 cm. As análises foram realizadas na região central do filme (área hachurada), com dimensão 5 cm x 2,54 cm, conforme mostrado na Figura 09. Os filmes cortados foram acondicionados por 2 dias em um dessecador contendo uma solução saturada de NaCl (umidade controlada em 75%). Após o primeiro dia no dessecador, as espessuras dos filmes foram medidas utilizando um micrômetro manual da marca Mitutoyo em 5 diferentes pontos de cada amostra e em seguida, as amostras retornavam ao dessecador até a realização das análises. A separação inicial foi de 50 mm, velocidade de deslocamento foi de 1 mm/s e célula de carga de 5 kg. Para cada formulação de filmes poliméricos contendo ou não zeólitas, foram realizadas 10 repetições desta análise.



**Figura 9**-Esquema do corpo de prova para análise de propriedades mecânicas.

A tensão na ruptura foi calculada pela Equação 03 e o alongamento na ruptura de acordo com a Equação 04.

$$T = \frac{F_m}{A} \quad (03)$$

$$\varepsilon = \frac{d_r - d_i}{d_i} \cdot 100 \quad (04)$$

Onde  $T$  é a tensão na ruptura (MPa),  $F_m$  é a força máxima no momento da ruptura,  $A$  é a área da seção transversal do filme ( $m^2$ ),  $\varepsilon$  é o alongamento na ruptura (%),  $d_r$  é a separação entre as garras no momento da ruptura (cm) e  $d_i$  é a separação inicial entre as garras (cm).

O módulo de Young foi obtido a partir de uma regressão linear dos pontos na faixa de deformação elástica do gráfico Tensão na ruptura (MPa) versus Alongamento na ruptura (%).

### 3.2.3.10 Propriedades de barreira

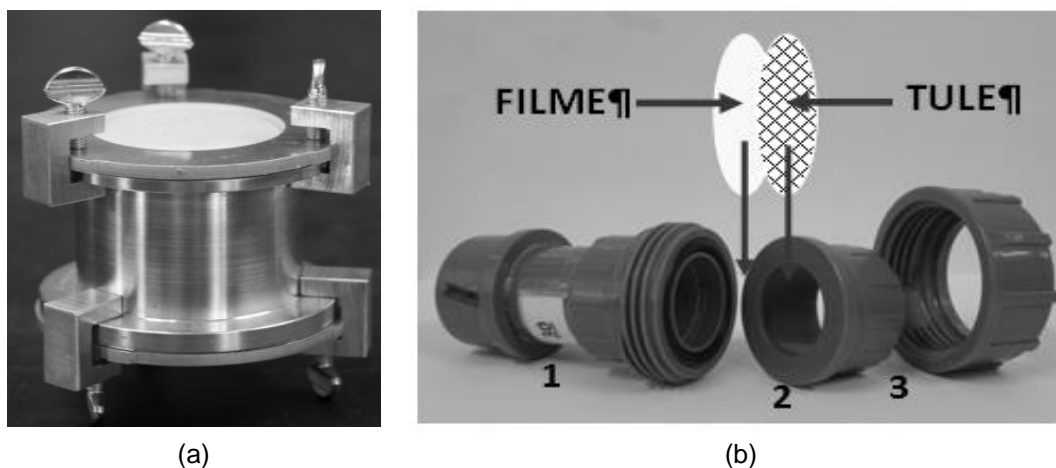
As propriedades de barreira dos filmes foram avaliadas pelas técnicas de Capacidade de Movimentação de fluido (FHC) e Permeabilidade ao vapor d'água (PVA).

#### **Capacidade de Movimentação de Fluido (Fluid Handling Capacity, FHC)**

O método utilizado foi adaptado da norma britânica BS EN 13726-1 para hidrocolóides e curativos (BS EN, 2002; *apud* ESTEVAM *et al.*, 2012). O teste prevê a utilização de um sistema de aço chamado “Copo de Paddington”,

conforme mostrado na Figura 10a, que consiste de um recipiente cilíndrico no qual o fundo e a tampa são fixados ao recipiente através de flanges. Para este trabalho foi adaptado um sistema de PVC, conforme mostra a Figura 10b, simulando o aparato utilizado no teste original (ESTEVAM *et al.*, 2012).

Para simular os fluidos das feridas e soro foi utilizada uma solução contendo cloretos de sódio e cálcio (142 mmol/L de íons sódio e 2,5 mmol/L de íons cálcio) (THOMAS e YOUNG, 2008).



**Figura 10**-Aparato utilizado para determinar a Capacidade de Movimentação de Fluidos: (a) copo de Paddington e (b) sistema de PVC desmontado.

Uma amostra de filme previamente pesada foi fixada sobre o topo do copo e sobre o filme foi colocado um pedaço de tecido tule (100% poliamida) com o mesmo diâmetro do filme polimérico com o objetivo de dar maior resistência mecânica ao filme. Em seguida as duas porções superiores do sistema de PVC foram fixadas através da rosca da união. O sistema foi pesado e colocado na posição invertida dentro de um dessecador contendo sílica gel e levado à estufa de circulação forçada da marca Tecnal modelo TE 394/4, a 37°C. Desta forma, a solução salina foi mantida em contato com o filme durante todo o teste. Após 24 h, retirou-se o copo de Paddington modificado de dentro do dessecador, retornou-o à posição normal e após 30 min foi realizada novamente uma pesagem. Para estes experimentos foram realizadas 5 repetições para o cálculo da média e desvio padrão.

A Capacidade de Movimentação de Fluidos (CMF, em inglês *Fluid Handling Capacity - FHC*) é calculada pela soma da Capacidade de Absorção

(CA) mais a Taxa de Permeação de Vapor Úmido (TPVU), dadas pelas Equações 05-07.

$$TPVU = \frac{x - y}{\text{Tempo de estocagem} \cdot \text{Área}} \quad (05)$$

$$CA = \frac{b - a}{\text{Tempo de estocagem} \cdot \text{Área}} \quad (06)$$

$$CMF = TPVU + CA \quad (07)$$

Onde  $x$  é a massa do sistema de PVC completo (filme + tule + solução salina) no início do teste,  $y$  é a massa do sistema de PVC completo (filme + tule + solução salina) após 24 h de teste,  $b$  é a massa do filme no início do teste e  $a$  é a massa do filme após 24 h de teste.

#### **Permeabilidade ao vapor de água (PVA)**

O teste de permeabilidade ao vapor de água foi realizado pelo método padronizado ASTM E96-95 (ASTM, 1995b). Neste ensaio, utilizou-se o copo de Paddington modificado utilizado na determinação da Capacidade de Movimentação de Fluidos (FHC). Adicionou-se  $20,0 \pm 0,5$  g de sílica no interior dos sistemas e não foi necessário o uso do tecido tule. Os sistemas montados foram colocados, sem invertê-los, em um dessecador com solução de cloreto de sódio saturada (umidade relativa de 75%). Para estes experimentos foram realizadas cinco repetições para o cálculo da média e desvio padrão.

A Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram calculadas pelas Equações 08 e 09, respectivamente.

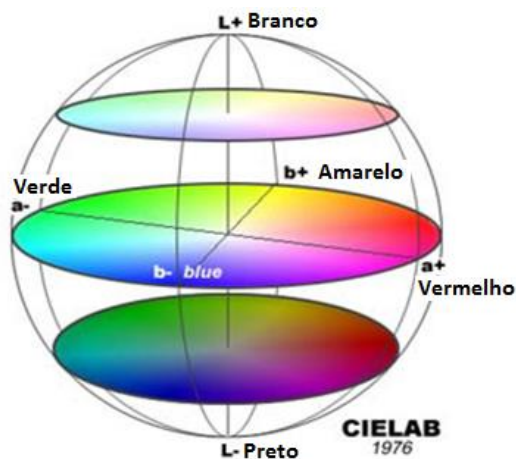
$$TPVA = \frac{G}{t \cdot A_{ep}} \quad (08)$$

$$PVA = \frac{G \cdot e}{t \cdot A_{ep} \cdot S \cdot \Delta P} \quad (09)$$

Onde  $G$  é o ganho de massa do sistema, em g,  $t$  é o tempo no interior da estufa, em dias,  $A_{ep}$  é a área do filme exposta a permeação, em  $m^2$ ;  $S$  é a pressão de vapor de água para a umidade em que o experimento foi realizado e  $\Delta P$  é a diferença de pressão do vapor d'água.

### 3.2.3.11 Análise de Cor

A cor dos filmes foi determinada de acordo com a metodologia proposta por SOBRAL *et al.* (2001) utilizando um espectrofotômetro de reflectância DataColor modelo 550. A análise foi realizada sobrepondo-se os filmes sobre um padrão branco e utilizando um sistema de descrição de cores da CIELab. Este sistema é mostrado na Figura 11



**Figura 11**-Diagrama CIELAB com as respectivas relações vermelho (+a<sup>\*</sup>)/verde (-a<sup>\*</sup>), amarelo (+b<sup>\*</sup>)/azul (-b<sup>\*</sup>) e luminosidade.  
FONTE: Fotonostra (2014).

Trata-se de um sistema de coordenadas retangulares composto por três eixos:

- Eixo  $L^*$  (Lightness): representa a luminosidade, varia do nível zero (preto absoluto), na parte inferior, ao 100 (branco) na parte superior;
- Eixo  $a^*$ : é uma identificação da tonalidade na direção do verde (- $a^*$ ) para o vermelho (+ $a^*$ ), assumindo valores para cores de objetos reais de -170 a +110;
- Eixo  $b^*$ : é uma identificação da tonalidade na direção do azul (- $b^*$ ) para o amarelo (+ $b^*$ ), assumindo valores para cores de objetos reais de cerca de -110 a +160;

Ao ser realizada a medição das amostras contra o padrão desejado, o espectrofotômetro retorna os valores destas coordenadas, podendo ser positivas ou negativas. O cálculo das diferenças entre os dois valores é dado pelas Equações 10-12.

$$\Delta L^* = L^*_{amostra} - L^*_{padr\tilde{a}o} \quad (10)$$

$$\Delta a^* = a^*_{amostra} - a^*_{padr\tilde{a}o} \quad (11)$$

$$\Delta b^* = b^*_{amostra} - b^*_{padr\tilde{a}o} \quad (12)$$

A diferença total de cor dos filmes de quitosana com zeólitas em relação ao padrão, que neste caso é o filme de quitosana pura, pode ser definida pela diferença de cor  $\Delta E^*$ . Ela é calculada utilizando a variação dos valores das coordenadas do modelo CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) dada pela Equação 13:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (13)$$

### 3.2.3.12 Liberação de prata dos filmes poliméricos

Para avaliar o perfil da liberação de prata dos filmes de quitosana sintetizados com Ag-zeólita ou com sulfadiazina de prata foi utilizada como meio uma solução simulada de ferida (142 mmol/L de íons sódio e 2,5 mmol/L de íons cálcio) representando as concentrações de sais observadas nos fluidos das feridas e do soro. A prata liberada neste meio foi analisada por espectroscopia de absorção atômica (AA) utilizando lâmpada de cátodo oco ( $\lambda = 328 \text{ nm}$ ) e uma mistura de ar e acetileno. As análises foram realizadas em um espectrofotômetro de absorção atômica de chama SpectrAA modelo 50B-VARIAN do Departamento de Engenharia Química/Laboratório de Catálise – UEM.

### 3.2.3.13 Solubilidade em água

As amostras de filme foram cortadas em dimensões de um quadrado de 5 cm x 5 cm, secas a 40°C, pesadas e imersas cada uma em 100 mL de água, sendo mantidas sob agitação em mesa agitadora orbital por 24 h. As soluções foram filtradas em papel de filtro previamente seco a 110°C por 24 h e pesado.



O papel de filtro contendo o filme não solubilizado foi seco durante 24 h a 110° C e a solubilidade do filme foi então calculada através da Equação 14 (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2000).

$$\text{Solubilidade} = \left[ \frac{m_1 - m_2}{m_1} \right] \times 100 \quad (14)$$

Onde  $m_2$  é massa do filme seco após o teste (g) e  $m_1$  é a massa do filme seco antes do teste (g). Estes experimentos foram realizados em triplicata para o cálculo da média e desvio padrão.

### 3.2.4 Caracterização biológica dos filmes

Todos os materiais utilizados na caracterização biológica dos filmes foram esterilizados de acordo com sua natureza, por calor úmido (autoclave horizontal digital Stermax), calor seco (estufa de secagem e esterilização Nova ética), radiação ionizante (radioesterilização no Irradiador Multipropósito  $^{60}\text{Co}$ -dose 15kGy no IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo) ou não ionizante (lâmpada UV na cabine biológica classe II A1 Filterflux).

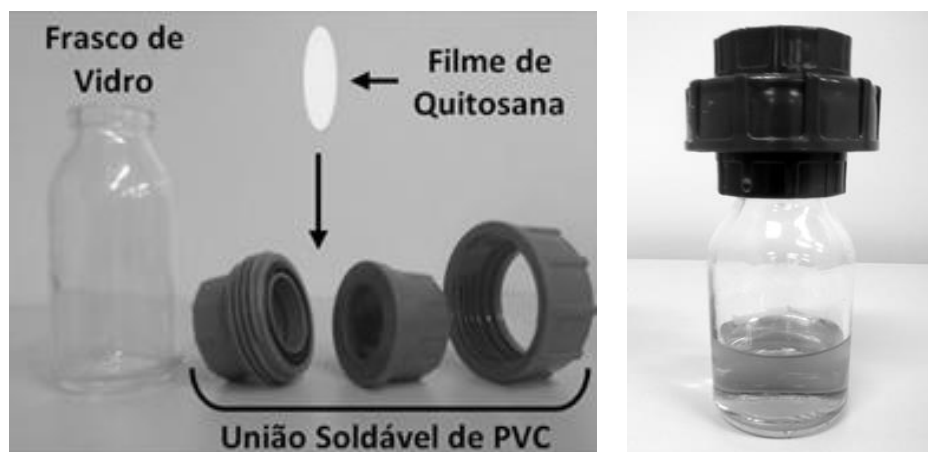
Para as análises de caracterização biológica das zeólitas e dos filmes foram utilizadas as linhagens de *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Estas se apresentavam em sua forma desidratada inicialmente e foram reconstituídas com 0,5 mL de TSB (*Tryptic soybroth Soybean-casein digest medium Bacto™*) estéril e transferidas para frascos contendo 100 mL de meio TSB. A cada quinze dias foram efetuados os repiques das cepas em triplicata para cada micro-organismo em tubos inclinados com meio TSA (*Tryptic soy Agar soybean-casein digest Agar USP 23* – Acumedia) a fim de se garantir a viabilidade desses micro-organismos.

Para os experimentos de inibição microbiana, em meio líquido e em meio sólido foram realizadas padronizações dos micro-organismos, utilizando-se a técnica de diluição seriada e plaqueamento em profundidade (*Pour Plate*).

### 3.2.4.1 Permeação microbiana

A capacidade dos filmes em prevenir a penetração microbiana foi idealizado a partir de uma adaptação do experimento proposto por Wittayaarekul e Prahsarn (2006). Neste teste foi utilizado conexões de material PVC esterilizadas por radiação ionizante, encaixadas em frascos de vidro contendo 50 mL de meio TSB (*Tryptic soybroth Soybean-casein digest medium Bacto™*). Os frascos de vidro juntamente com o meio TSB foram esterilizadas em auto-clave. As amostras de filmes foram cortadas com diâmetros de 5 cm e esterilizadas por 1 min de cada lado por radiação UV dentro do fluxo laminar.

As amostras de filmes foram cuidadosamente inseridas entre a conexão de PVC, estas encaixadas nos frascos e vedadas com *parafilme* em toda a volta de conexão (Figura 12). Também foram feitos ensaios de controle negativo e positivo. Para o primeiro, o sistema foi inteiramente vedado com *parafilme* e para o segundo não foi efetuada nenhuma vedação.



**Figura 12**-Sistema que será utilizado no teste de permeação microbiológica: (a) Partes isoladas do sistema, (b) Sistema montado com meio de cultura.

Os sistemas ficaram expostos por 10 dias em condições ambientes, sendo avaliados macroscopicamente a turvação e o crescimento de micro-organismos nos dias 0, 5 e 10 do experimento, quando foram fotografados.

### 3.2.4.2 Propriedades antimicrobianas

As zeólitas em pó com a prata ou com sulfadiazina de prata e o nitrato de prata foram previamente pesadas (50 mg) em envelopes de papel alumínio

devidamente dobrados e esterilizados a 170°C por 2 h em estufa de secagem e esterilização Nova Ética. Como controle positivo para os testes de inibição das zeólitas em pó foi utilizado nitrato de prata P.A.

Em placas de Petri, devidamente esterilizadas e identificadas, foram adicionados 15 mL de meio TSA e posteriormente inoculados 1 mL de uma suspensão contendo  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> de cada bactéria testada (*E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*). Para o teste de inibição utilizando a levedura, foi adicionado nas placas 15 mL de meio SDA (*Sabouraud dextrose ágar- Acumedia*) e inoculados 1 mL de suspensão contendo  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> de *C. albicans* com o auxílio de alças de inoculação esterilizadas. Para os testes com as zeólitas em pó, os meios TSA ou SDA foram perfurados (5 mm de diâmetro) para a introdução das amostras. Tanto as amostras como os controles foram hidratados com 50 µL de solução salina.

Todas as placas foram incubadas por 16-18 h a uma temperatura de 35°C para as bactérias e de 24-48 h a 25°C para a levedura em uma incubadora da marca Tecnal modelo TE-371. Após esse período foi efetuada a leitura dos halos de inibição formados para cada amostra com o auxílio de um paquímetro.

#### 3.2.4.3 Atividade antimicrobiana - Meio líquido

O experimento de atividade antimicrobiana em meio líquido foi realizado inoculando-se  $10^6$  UFC/mL de cada micro-organismo testado (*E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*), padronizado previamente, em tubos de ensaio individuais contendo 30 mL de meio TSB para o caso da incubação das bactérias ou 30 mL de meio SDB (*Sabouraud Dextrose Broth-Acumedia*) para a levedura *C. albicans*.

Os filmes foram cortados em dimensões de 6x6 cm e sua desinfecção foi realizada em luz UV por 1 min cada lado. Todas as amostras depois de esterilizadas foram incubadas nos tubos de ensaio. Para o controle positivo foi incubado apenas os micro-organismos individualmente nos tubos de ensaio, enquanto que para o controle negativo os tubos de ensaio contiveram apenas meio de cultura TSB ou SDB. Também como controles foram utilizados meios individuais contendo apenas filmes sem a incubação de micro-organismos.

Os tubos de ensaio com as amostras de filmes e seus respectivos controles foram incubados a 37° C por 12 h. Após, alíquotas de 100 µL foram transferidas para microplacas de fundo chato. A avaliação do crescimento microbiano foi determinada através da leitura da densidade óptica pelo leitor automático de microplacas Biotek modelo Synergy HT, no comprimento de onda de 620 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata para o cálculo da média e desvio-padrão.

### **3.2.5 Análises estatísticas**

Foram realizadas análises estatísticas utilizando-se o software livre Action® (2014). As diferenças significativas entre as médias foram analisadas utilizando o Teste de Tukey, com nível de significância  $p \leq 0,05$ .

# CAPÍTULO IV

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização das zeólitas

#### 4.1.1 Ressonância Magnética Nuclear RMN de $^{29}\text{Si}$ e de $^{27}\text{Al}$

Pela análise de Ressonância Magnética Nuclear de  $^{29}\text{Si}$  pode-se determinar a razão Si/Al das zeólitas NaY, NaA-O e NaA-B (Figuras 13-15).

Na Figura 13a, o espectro de MAS-RMN de  $^{29}\text{Si}$  da zeólita NaY deconvoluído revelou a presença dos ambientes Si(3Al), Si(2Al), Si(1Al) e Si(0Al), referentes a -89,27; -93,77; -99,10; e -104,61 ppm, respectivamente, como encontrado na literatura (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000; GUISET e RIBEIRO, 2004). A razão molar de Si/Al estrutural determinada foi de 2,54. Este valor está coerente com o relatado por Weitkamp e Puppe (1999) segundo os quais a razão Si/Al para a zeólita NaY deve estar compreendida na faixa de 1,5 à 3.

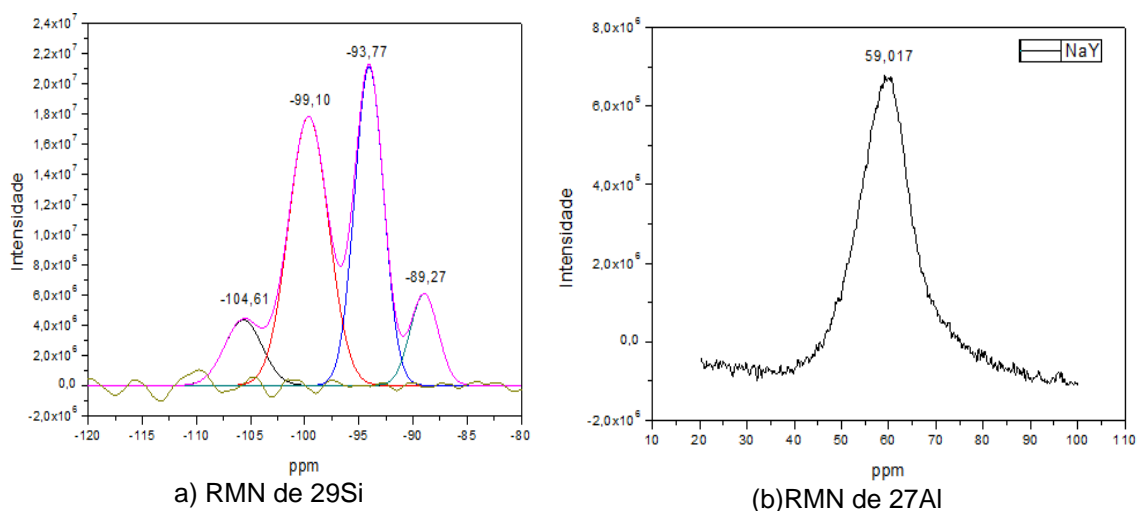


Figura 13-Espectros de RMN da zeólita NaY.

Quanto aos espectros de MAS-RMN de  $^{27}\text{Al}$  (Figura 13b) da amostra NaY observa-se uma linha de ressonância em 59,02 ppm, correspondendo ao sinal das espécies de alumínio tetraédrico. A ausência de pico referente a alumínio octaédrico, sinal aproximadamente em 0 ppm, indica a inexistência de alumínio extra rede, resultados também obtidos por Guerra *et al.* (2012).

Para a zeólita NaA-B (Figura 14a), no espectro de MAS-RMN de  $^{29}\text{Si}$ , encontrou-se um pico em -89,03 ppm referente ao Si(3Al), como relatado por Tounsi *et al.* (2009). A razão Si/Al determinada foi de 1,33 estando em conformidade com o encontrado na literatura (GIANNETTO PACE *et al.*, 2000).

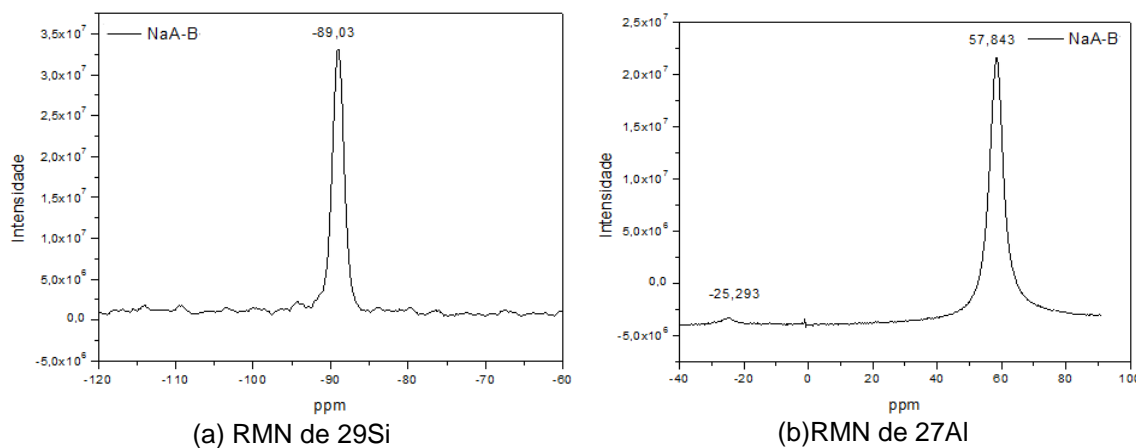


Figura 14-Espectro de RMN para zeólita NaA-B.

Pode-se observar pela Figura 15a, que a zeólita NaA-O apresentou um pico em -88,70 ppm referente à presença de ambientes Si(3Al). A razão Si/Al obtida foi de 1,28.

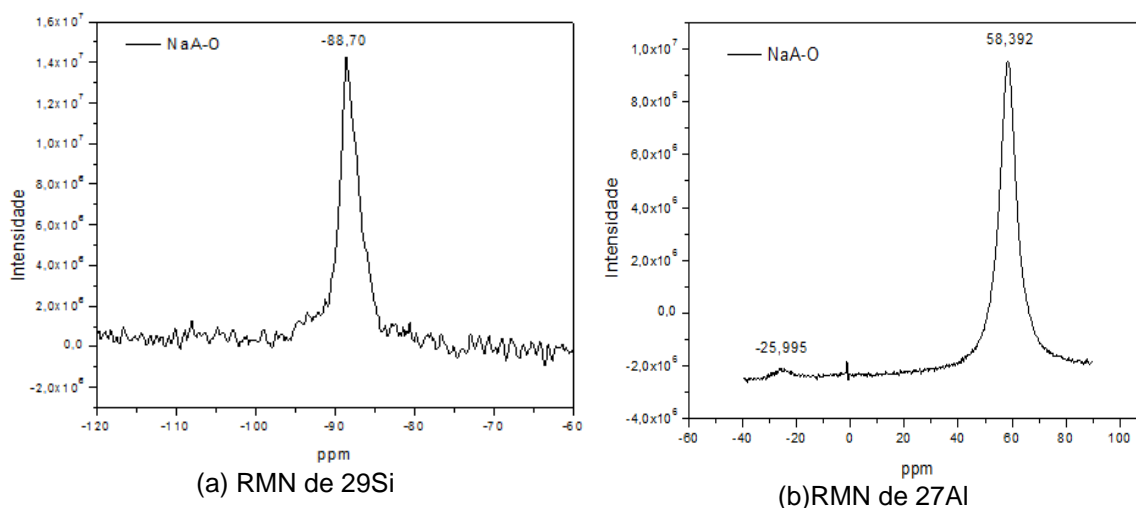


Figura 15-Espectro de RMN da zeólita NaA-O.

Os deslocamentos químicos observados nos espectros de MAS-RMN de  $^{27}\text{Al}$  (Figuras 14b e 15b) em -25,29 e -25,99 ppm das zeólitas NaA-B e NaA-O, respectivamente, são referentes à presença de alumínio penta-coordenado ou alumínio extra-rede em ambas as zeólitas (AUERBACH *et al.*, 2003). Os picos em 57,89 e 58,39 ppm das zeólitas NaA-B e NaA-O, respectivamente, correspondem ao sinal das espécies de alumínio tetraédrico ou estrutural. A

presença de alumínio extra-rede pode ser relacionada a impurezas de síntese em NaA-O e a presença de material ligante em NaA-B. Tanto a presença de impurezas de síntese como a de material ligante não apresentam um problema sob o ponto de vista de aplicação destas zeólitas como trocadores iônicos para a liberação controlada de prata quando incorporadas nos curativos para queimaduras.

A razão Si/Al obtidas para as zeólitas de partida são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2-** Razão Si/Al obtida por RMN de  $^{29}\text{Si}$

Amostra	Si/Al
NaY	2,54
NaA-B	1,33
NaA-O	1,28

#### 4.1.2 Análise elementar

A composição química elementar das amostras foi realizada pelas técnicas de Fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) e por Espectroscopia por energia dispersiva (EDX).

Os resultados obtidos pela análise de TXRF, dados pela Tabela 3, correspondem à porcentagem mássica da prata presente em todas as zeólitas testadas.

**Tabela 3-** Porcentagem mássica de prata por TXRF

Amostra	Ag
5AgY-TI	20,25
5AgA-TI-B	21,61
5AgA-TI-O	32,15
5AgY-I	7,99
10AgY-I	11,25
5SDPY-I	2,26

Os resultados apresentados na Tabela 3 não são suficientes para quantificar com exatidão a real composição. Esta dificuldade é devido à incapacidade do equipamento em quantificar elementos com peso atômico inferior ao silício (23), sendo nesta faixa apenas qualitativo (SKOOG *et al.*, 2006), o que conduz a erros substanciais na determinação da quantidade de alumínio e silício presente na amostra. A quantificação do silício apresenta

mais um agravante, pois os raios X são detectados utilizando-se um detector semicondutor de silício acarretando uma interferência adicional significativa na quantificação deste elemento quando presente na amostra. Além disso, não foi realizado nenhum levantamento de curva padrão para a identificação dos componentes presentes na amostra o que também pode acarretar em erros na quantificação dos elementos presentes (VAN HOOFF e ROELOFSEN, 1991; ZAMECHEK, 2001). Embora a determinação da razão Si/Al seja prejudicada, por essa técnica foi possível verificar que de fato houve as trocas iônicas desejadas ressaltando o enorme potencial da utilização de zeólitas como trocadores iônicos.

As zeólitas 5AgY-TI, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O, todas submetidas ao procedimento de troca iônica, preparadas em condições idênticas apresentaram teores de prata diferentes, sendo estes resultados também obtidos por Fonseca e Neves (2013). Segundo Ferreira *et al.* (2012) é esperado que a zeólita A apresente uma maior quantidade de prata por célula unitária devido à menor razão Si/Al do que para a zeólita Y. Quanto menor a razão Si/Al, maior é a concentração do cátion e a capacidade de troca iônica (proporcional ao teor de alumínio presente) (FLANIGEN, 1991). Como 5AgA-TI-O apresenta a menor razão Si/Al (obtido por RMN de  $^{29}\text{Si}$ ), conseqüentemente apresentou a maior quantidade de prata trocada, 32,15%, seguido por 5AgA-TI-B e 5AgY-TI apresentando valores de 21,61% e 20,25%, respectivamente.

No mesmo microscópio eletrônico de varredura (MEV) onde foram realizadas as micrografias das amostras, que serão apresentadas na seção 4.1.3, foi obtida, com a utilização de uma sonda de espectroscopia por energia dispersiva (EDX), a quantificação da composição química das zeólitas com prata ou sulfadiazina de prata presente na superfície das amostras. Os gráficos e a quantificação dos elementos superficiais por EDX são apresentados nas Figuras 16-18.

Para todas as amostras zeolíticas foram identificados no espectro de EDX os elementos oxigênio, sódio, alumínio, silício e prata, além de grandes picos de ouro devido à metalização do material e a presença de outros elementos contaminantes como o paládio e magnésio. O carbono foi identificado em algumas amostras devido a utilização de fita de carbono dupla face para a fixação da amostra no suporte para a realização da análise.



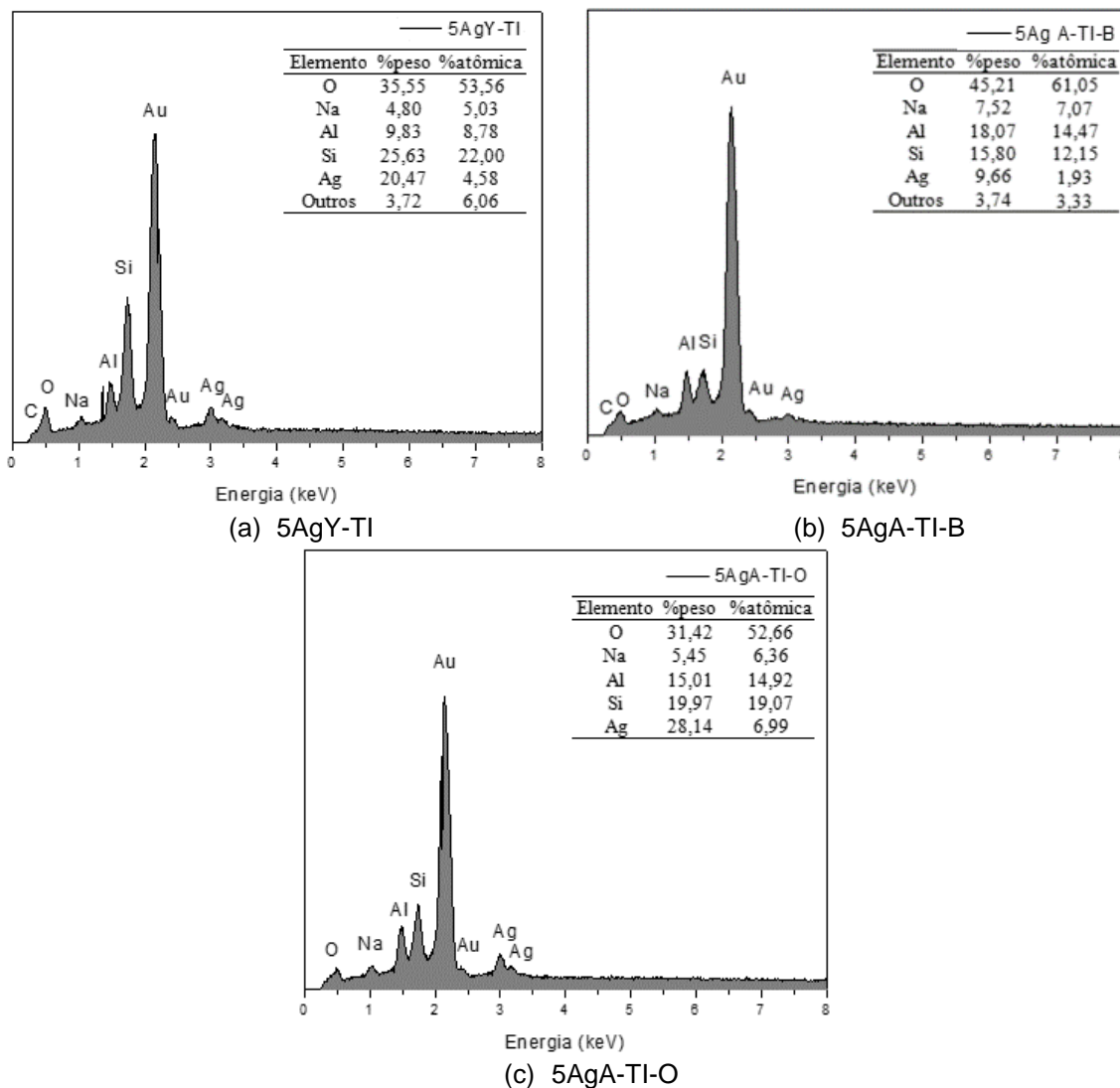
Deve-se ressaltar que para a determinação das porcentagens dos elementos foi utilizado um método semi-quantitativo, no qual consiste em avaliar a superfície dos picos que é proporcional à quantidade de átomos que produziu a raia. A quantificação consiste, portanto, em medir a superfície dos picos que se tem previamente identificada a ser atribuído um coeficiente e então calcular as porcentagens. O ideal seria realizar a análise pelo método quantitativo que consiste em se obter a concentração a partir de relações de intensidade de raios X da amostra em estudo e de um padrão apropriado. A análise se reduz à comparação das intensidades observadas. Entretanto, na maioria dos casos utilizam-se padrões de elementos puros porque é possível caracterizá-los com elevada precisão (DEDAVID, 2007). O equipamento disponível para a realização das análises de EDX neste trabalho não possuía padrões internos de elementos puros de Si, Al e Ag, sendo então as análises realizadas de maneira semi-quantitativa.

A grande divergência entre os valores obtidos pela análise de TXRF e EDX se deve ao fato de que a primeira fornece a quantidade de prata *bulk*, mássico ou total e a segunda técnica fornece a quantidade de prata até em uma profundidade de 500 nm (DEDAVID, 2007). Boschetto *et al.* (2012) afirmam que a técnica EDX identifica a prata presente na superfície da zeólita. Este autor verificou que na análise de ICP-OES (Espectroscopia de absorção atômica por plasma, análise que também fornece a quantidade de prata *bulk*), o teor de prata real se aproximava do conteúdo teórico enquanto que a quantidade de prata obtida por EDX foi o dobro do teórico, que segundo o autor, foi ocasionado provavelmente devido a uma maior concentração de Ag<sup>+</sup> na superfície externa.

Observa-se na Figura 16 que a zeólita 5AgA-TI-O apresenta novamente o maior teor de prata quando comparado com os teores das zeólitas 5AgY-TI e 5AgA-TI-B submetidas a condições idênticas de troca iônica. Houve uma inversão na quantidade de prata superficial obtida para as amostras 5AgA-TI e 5AgY-TI.

Comparando com os resultados de Fonseca e Neves (2013), os elevados teores encontrados por EDX para a zeólita 5AgA-TI-O sugerem que a prata não está homoganeamente distribuída ao longo das estruturas zeolíticas, estando preferencialmente na superfície sob a forma de aglomerados de óxidos

de prata. Este fato pode ser confirmado visualmente pela micrografia apresentada na Figura 22b na seção 4.1.3.



**Figura 16-** Espectro de EDS das amostras (a) 5AgY-TI, (b) 5AgA-TI-B e (c) 5AgA-TI-O.

O espectro de EDX da zeólita Y impregnada com sulfadiazina de prata, 5SDY-I, é apresentada na Figura 17. Os elementos que formam a molécula de sulfadiazina de prata são basicamente, carbono, oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, enxofre e prata. Infelizmente, devido a limitações da técnica, a emissão dos primeiros dez elementos de baixo número atômico consiste de bandas na região de baixa energia onde as perdas por absorção na amostra são grandes. Assim, elementos como carbono, nitrogênio, hidrogênio não podem ser quantificados com precisão (DEDAVID, 2007). O teor obtido para a prata, 3,55% em massa, foi o esperado (menor que 5%), justo que para os cálculos da quantidade de composto a ser incorporado no suporte zeolítico foi

levado em consideração a impregnação de 5% de sulfadiazina de prata e não apenas de prata.

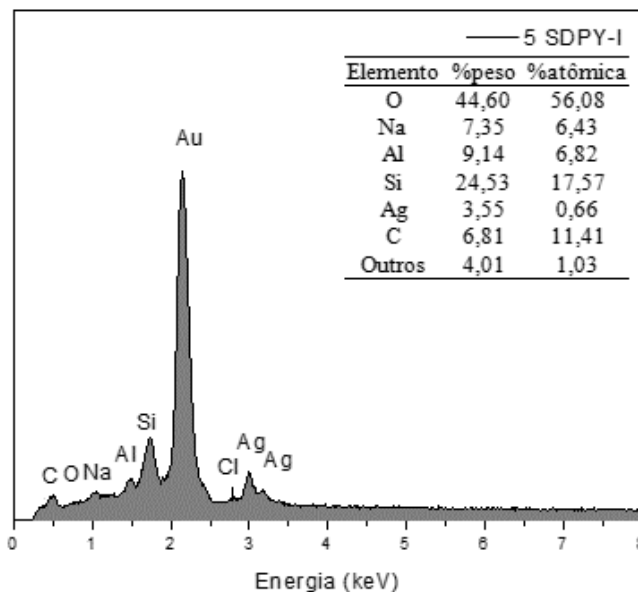


Figura 17-Espectro de EDX da zeólita 5SDPY-I.

Contrariamente ao esperado, as amostras impregnadas com prata, 5AgY-I e 10AgY-I (Figura 18), apresentaram pequenos teores de prata superficial, sendo de 3,95 e 7,55%, respectivamente. Sugere-se que para estas amostras, a prata penetrou nos poros zeolíticos com mais eficiência quando comparado com a zeólita submetida ao procedimento de troca iônica 5AgY-TI, resultados que corroboram os obtidos pela análise de TXRF.

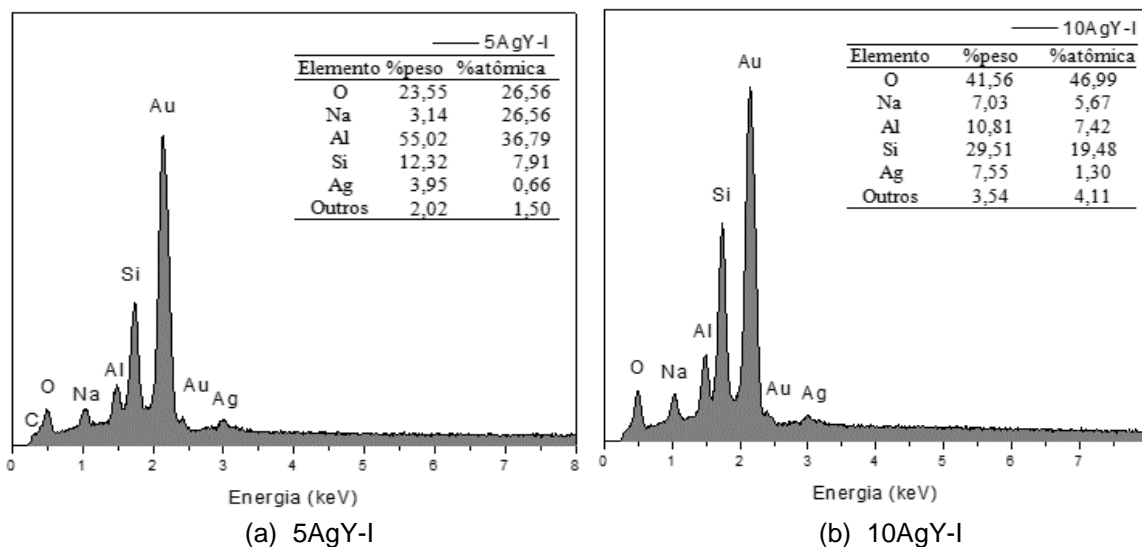
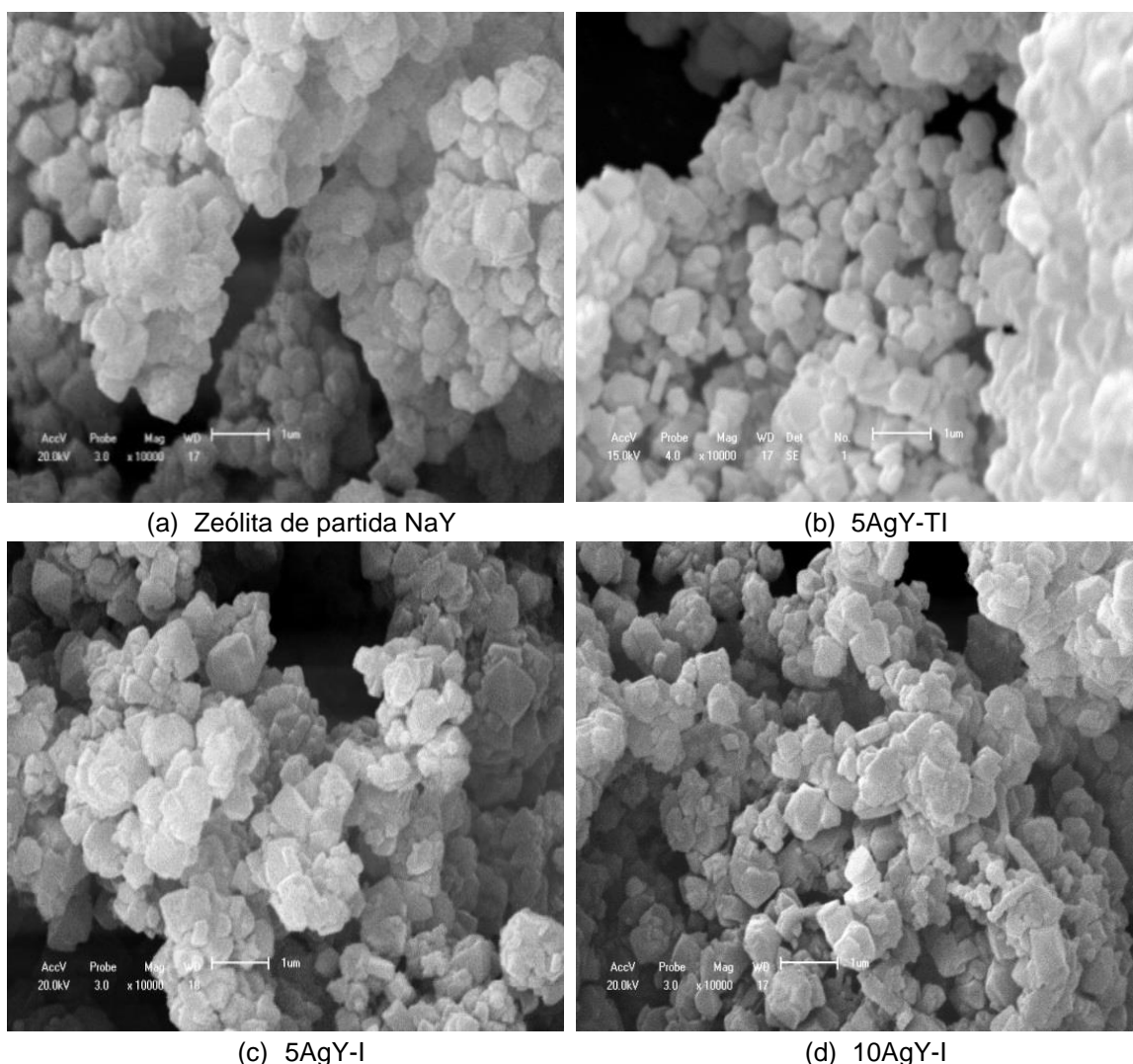


Figura 18-Espectro de EDX das amostras (a) 5AgY-I e (b) 10 AgY-I

### 4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de microscopia eletrônica de varredura foi realizada com o objetivo de obter imagens de alta resolução da superfície das zeólitas em pó. As Figuras 19-22 ilustram as micrografias das zeólitas NaY, NaA-B e NaA-O antes e após as trocas iônicas e as impregnações com nitrato de prata e sulfadiazina de prata. Todas as amostras foram ampliadas 10.000 vezes.

A Figura 19 ilustra as micrografias obtidas para as amostras zeólitas Y submetidas aos procedimentos de troca iônica e impregnação.

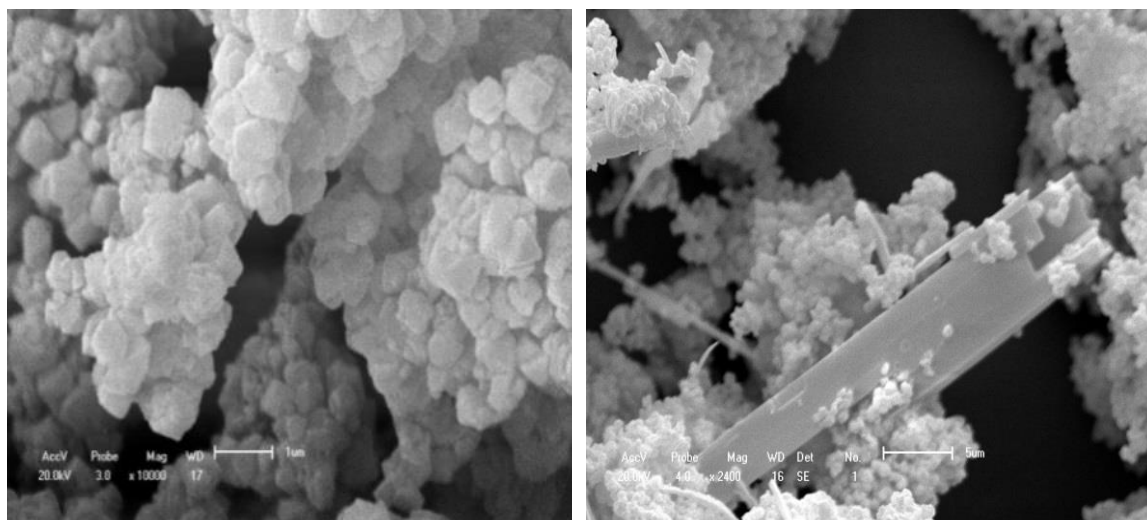


**Figura 19**-Micrografias das zeólitas (a) NaY, (b) 5AgAY-TI (c) 5AgY-I (d) 10AgY-I

Observa-se que o processo de impregnação ou troca iônica com prata não modifica a morfologia quando comparada com a zeólita de partida NaY, estando de acordo com os resultados obtidos pela análise de DRX que será

apresentada na seção 4.1.5. Outros autores também observaram que zeólitas com e sem prata apresentam aparência muito similar, formas poliédricas regulares e o mesmo tamanho de partícula (SHI *et al.*, 2013; BOSCHETTO *et al.*, 2012; LIN *et al.*, 2011). O tipo de procedimento adotado e o teor de prata adicionada não altera o tamanho médio do grão apresentando tamanho de partícula médio entre 0,77-0,80  $\mu\text{m}$ .

A Figura 20b apresenta a micrografia obtida para a zeólita Y impregnada com 5% de sulfadiazina de prata.



(a) Zeólita de partida NaY

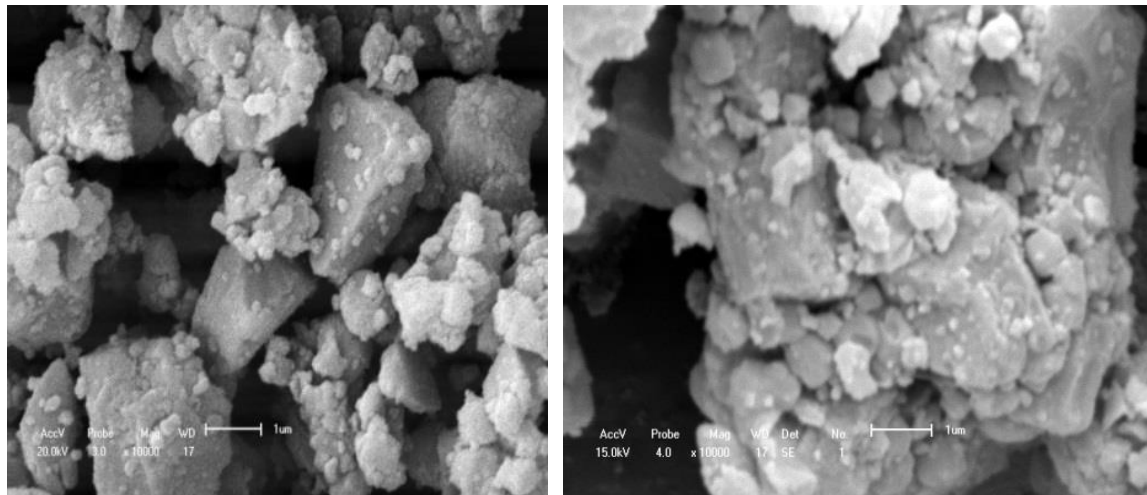
(b) 5SDPY-I

**Figura 20**-Micrografias da zeólita de partida (a) NaY e (b) 5 SDPY-I.

Como a sulfadiazina de prata é uma molécula grande, quando impregnada no suporte zeolítico ocorre uma completa alteração em sua morfologia. Observa-se a presença de pequenas “agulhas” de sulfadiazina de prata que podem ser facilmente identificadas pelo mapeamento por elemento realizado por MEV-EDX dado na Figura 28. A “agulha” da micrografia, Figura 20b, tem 33,75  $\mu\text{m}$  de comprimento e 7,14  $\mu\text{m}$  de largura.

Silva (2010) incorporou sulfadiazina de prata em filmes de quitosana e também verificou a presença de cristais em forma de agulhas de sulfadiazina de prata.

A Figura 21 ilustra a morfologia da zeólita de partida NaA-B juntamente com a amostra 5AgA-TI-B.



(a) Zeólita de partida NaA-B

(b) 5AgA-TI-B.

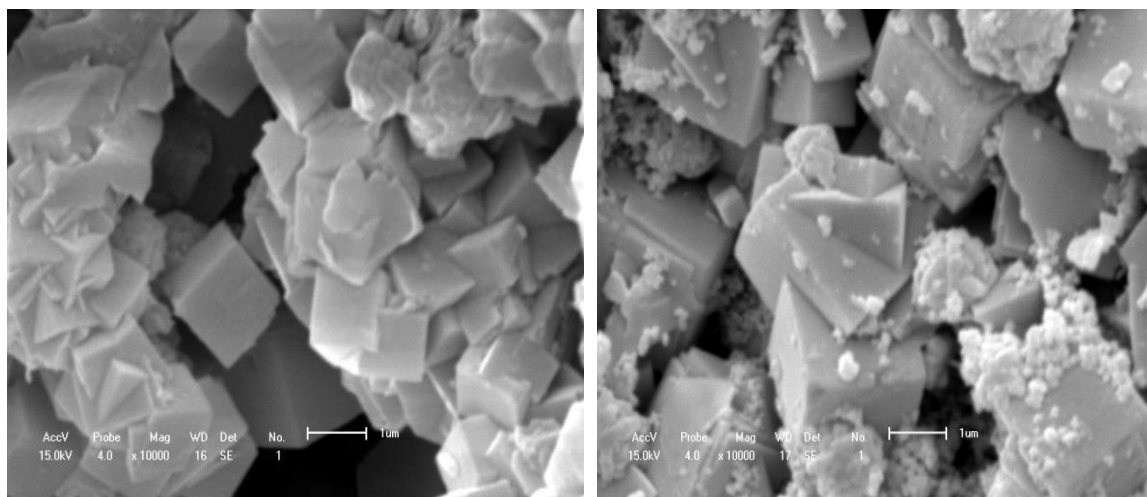
**Figura 21**-Micrografias das zeólitas (a) NaA e (b) 5AgA-TI-B.

Observa-se que antes do procedimento de troca iônica, a zeólita de partida NaA-B já apresentava em sua superfície pequenos aglomerados de ligantes. Estes ligantes são responsáveis pela aglutinação das partículas pós-síntese para que esta fique em formato esférico para ser vendido comercialmente. Após o procedimento de troca iônica pode-se observar que as partículas de zeólita aglomeraram-se. Este fato pode ser decorrente de forças eletrostáticas geradas pela presença de prata resultando na formação de grumos e compactação.

O tamanho de partícula médio encontrado para a zeólita de partida foi de  $1,73 \pm 0,13 \mu\text{m}$ . Após a incorporação de prata o diâmetro médio aumentou para  $2,15 \pm 0,30 \mu\text{m}$  devido a aglomeração das partículas.

A Figura 22 apresenta as micrografias obtidas para a zeólita pura NaA-O e para a amostra 5AgA-TI-O.

O tamanho de partícula médio encontrado foi de  $1,76 \pm 0,48 \mu\text{m}$  para ambas as zeólitas NaA-O e 5AgA-TI-O, não havendo alteração no tamanho médio das partículas.



(a) Zeólita Pura NaA-O

(b) 5AgA-TI-O

**Figura 22**-Micrografias das zeólitas (a) NaX e (b) 5AgA-TI-O.

Antes do processo de troca iônica, a zeólita de partida NaA-O apresentou formas poliédricas regulares. Após o procedimento de incorporação de prata observou-se a formação de aglomerados de  $\text{Ag}_2\text{O}$  ou de  $\text{Ag}^0$  na superfície da zeólita. Este resultado está em concordância com o obtido pela análise de TXRF e EDX, pois se observou que a zeólita 5AgA-TI-O apresentou a maior quantidade de prata em ambas as análises. Os resultados obtidos neste trabalho estão em conformidade com os resultados obtidos por Choi *et al.* (2001) e Guerra *et al.* (2012) que realizaram troca iônica com prata em altas quantidades (10-30%) e também verificaram a formação de pequenos aglomerados de prata bem distribuídos na superfície zeolítica.

Juntamente com as micrografias das amostras é apresentado o mapeamento por elemento das zeólitas submetidas ao procedimento de troca iônica ou impregnação, realizadas através da análise de espectroscopia de emissão de raios X (EDX) para o mapeamento dos elementos alumínio (b), silício (c), oxigênio (d), sódio (e) e prata (f), apresentados nas Figuras 23-28.

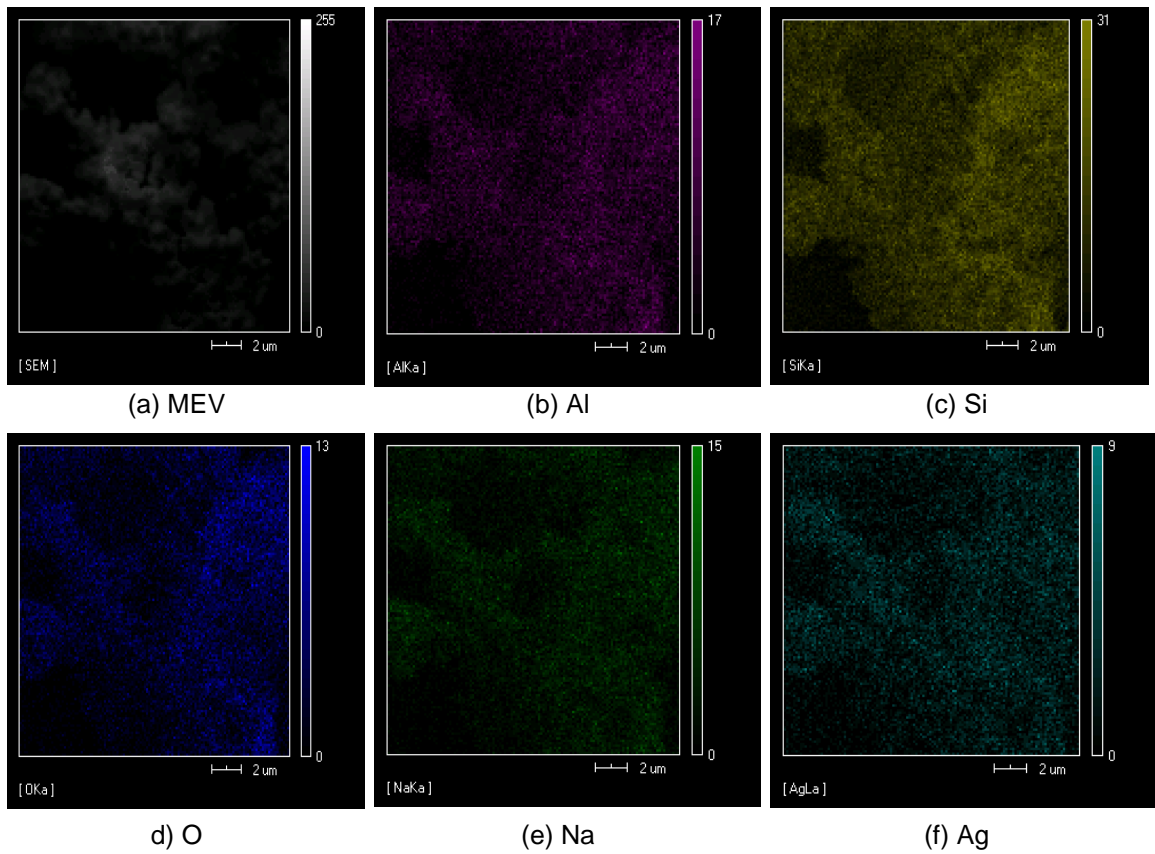


Figura 23-Mapeamento por elemento Amostra 5AgY-I.

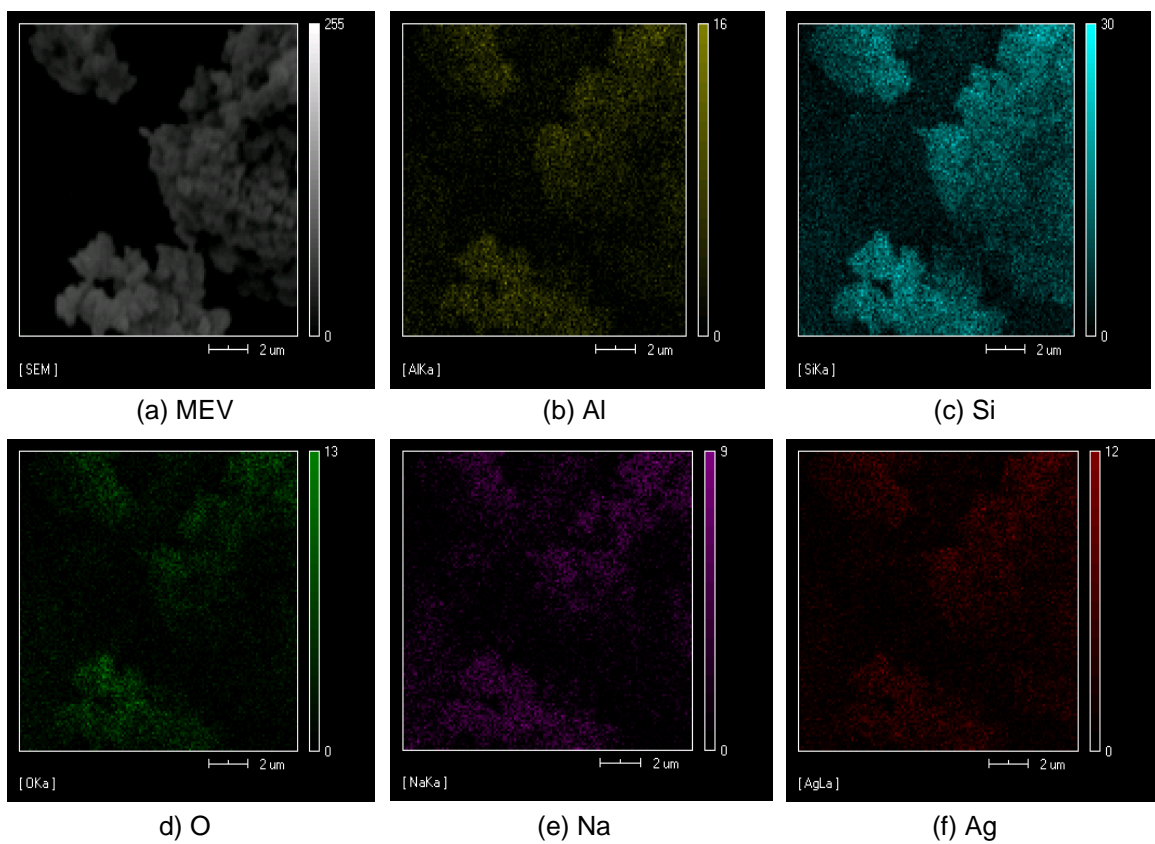


Figura 24-Mapeamento por elemento amostra 5AgY-TI.



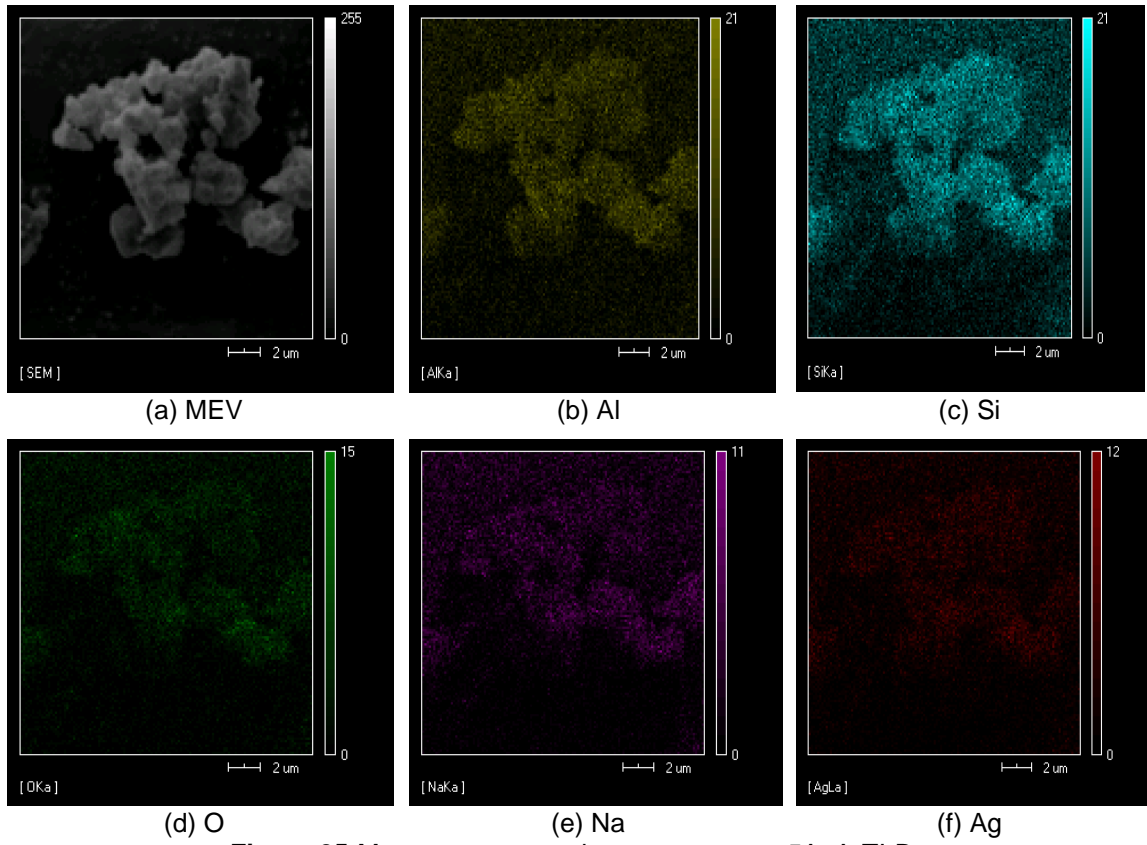


Figura 25-Mapeamento por elemento amostra 5AgA-TI-B.

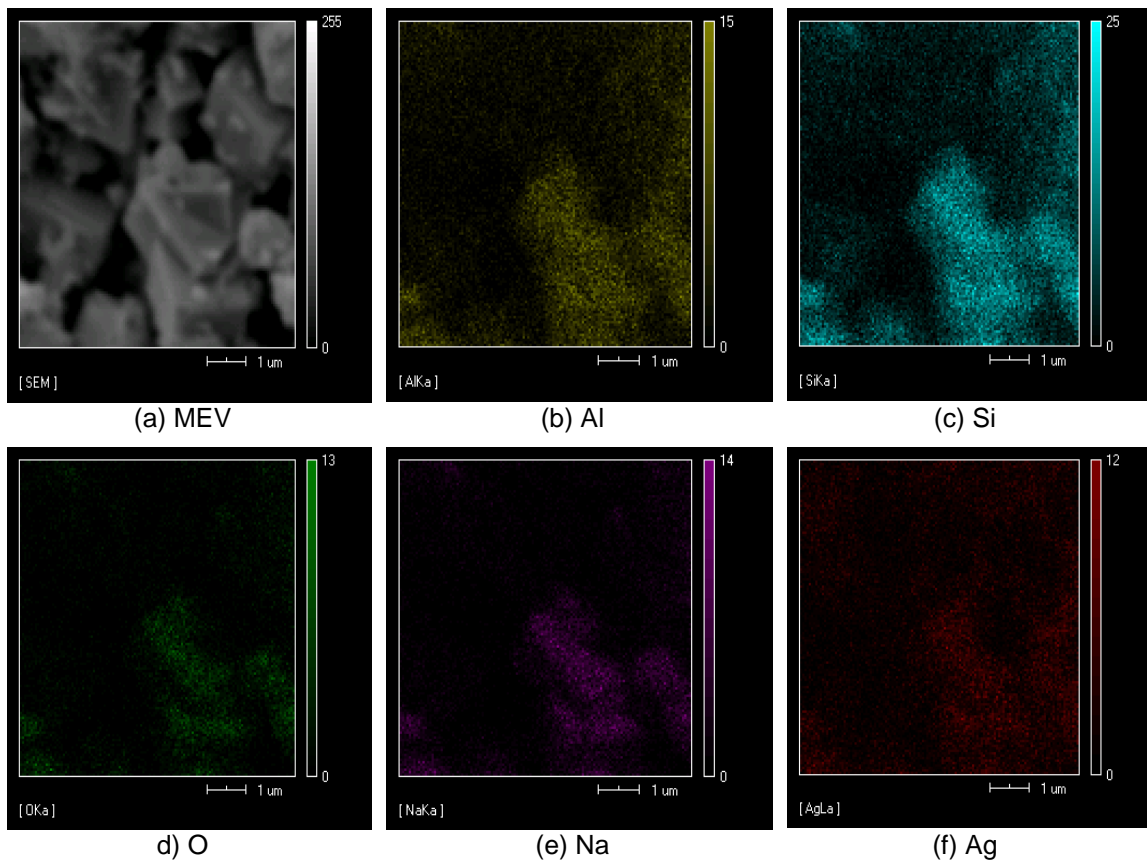


Figura 26-Mapeamento por elemento amostra 5AgA-TI-O.

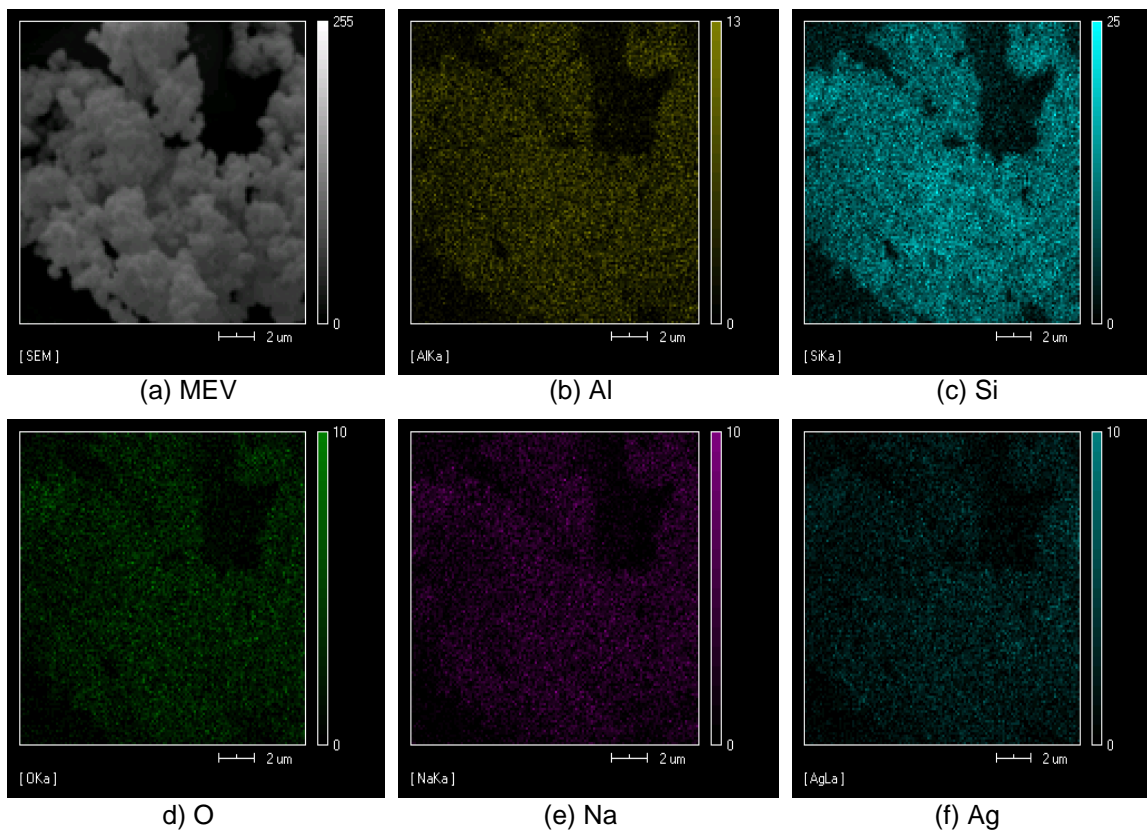


Figura 27-Mapeamento por elemento amostra 10AgY-I.

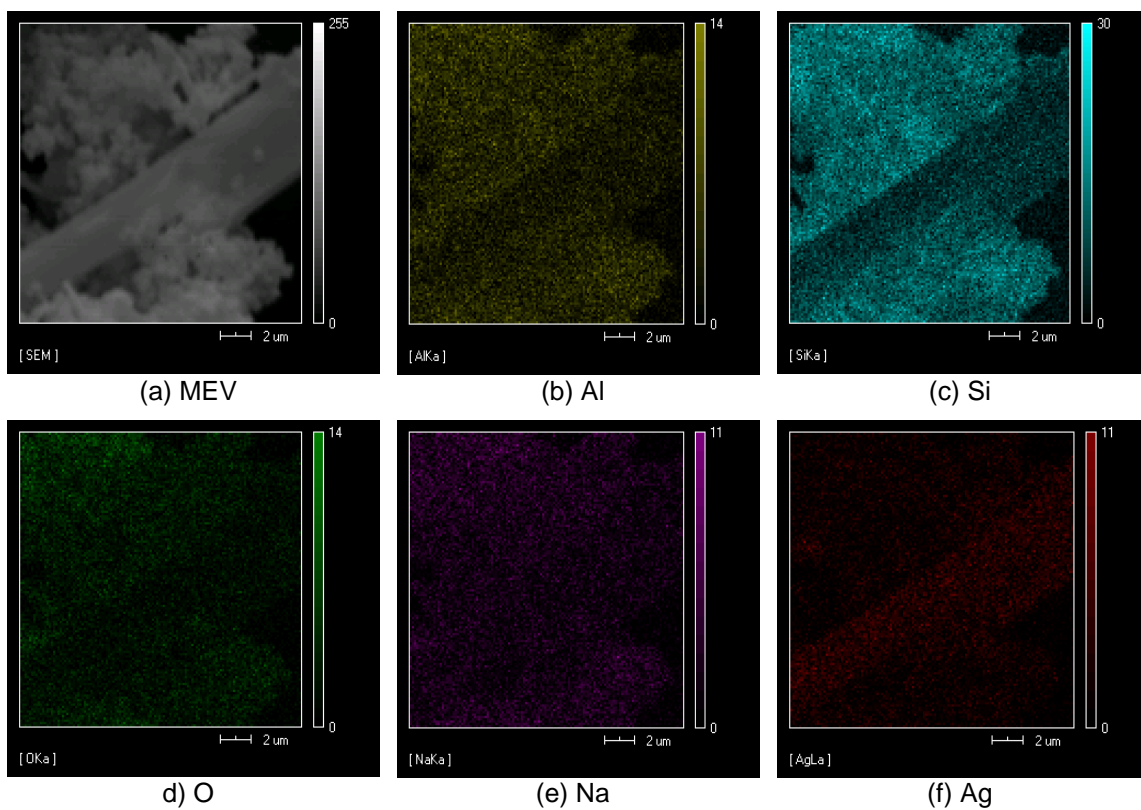


Figura 28-Mapeamento por elemento amostra 5SDPY-I.

Observa-se que o procedimento de troca iônica foi efetivo na dispersão e na homogeneização da prata superficialmente para todas as amostras testadas. A zeólita apresenta ainda grande quantidade de sódio disperso superficialmente devido à troca iônica não ter sido completa, por exemplo, só foram trocados 5% de prata por sódio, enquanto que segundo Krishnani *et al.* (2012) para uma zeólita A com razão Si/Al de 1,06 o máximo seria atingido quando o teor de prata atingisse 39%. Mesmo que a razão Si/Al utilizada por estes autores seja menor do que a razão Si/Al das amostras NaA-B e NaA-O, pode-se ter uma noção de que a quantidade de prata pode ser maior que 5%, caso haja necessidade de uma maior incorporação de prata no curativo polimérico.

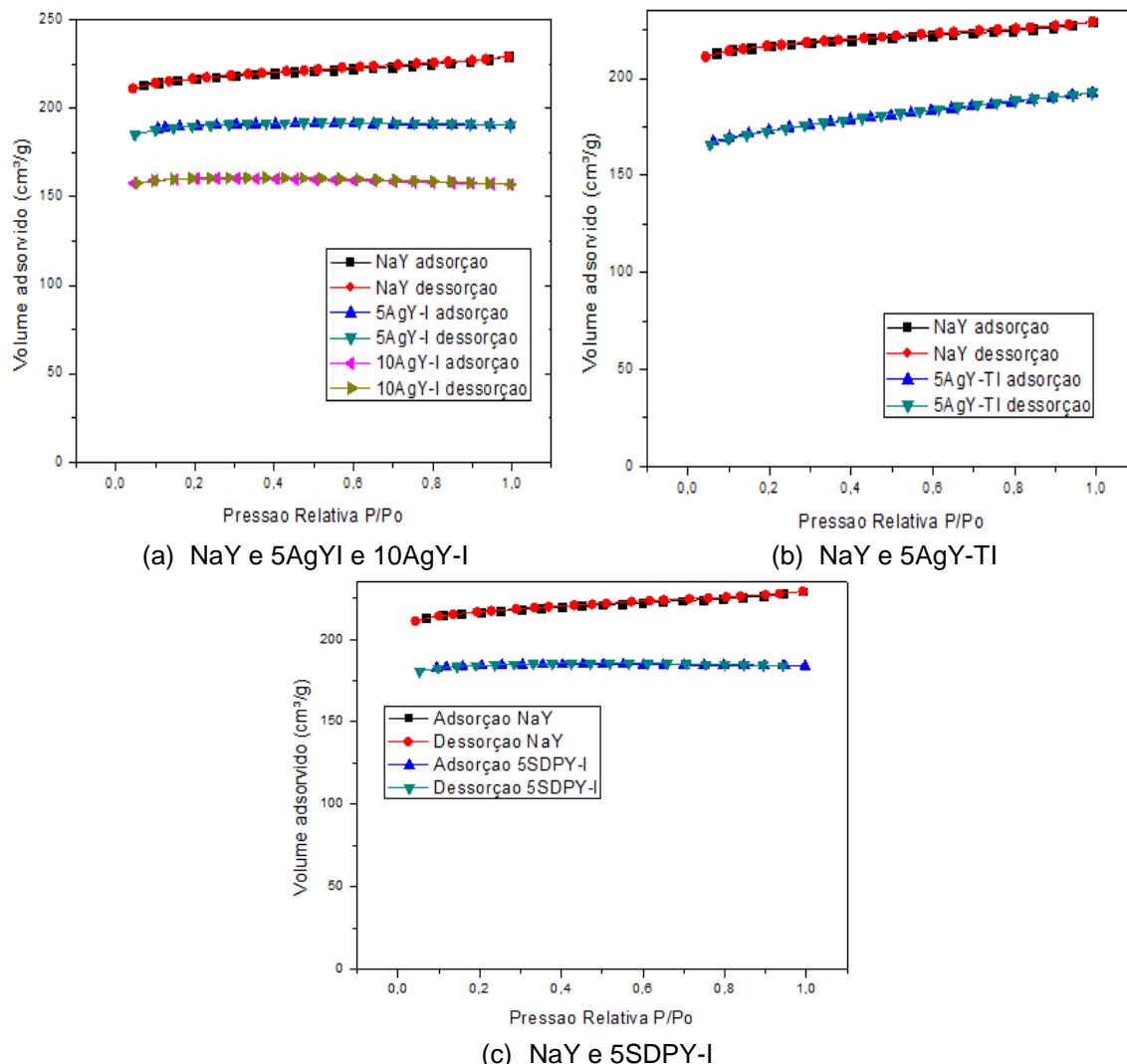
Para todas as zeólitas observou-se alta dispersão de prata em toda a superfície da amostra. Já para o mapeamento da zeólita impregnada com sulfadiazina de prata, por ser uma molécula grande, verifica-se claramente que a “agulha” presente na micrografia original (Figura 20b) é composta em grande parte por prata, não exclusivamente, justo que os outros componentes da sulfadiazina não puderam ser identificados, porém isto não significa que eles não estejam presentes nessa região, mas sim, que apenas sua identificação foi dificultada pelos motivos já apresentados na seção 4.1.2.

#### 4.1.4 Análise textural

As isotermas de adsorção de todas as zeólitas antes e após os procedimentos de troca iônica ou de impregnação e os resultados numéricos da caracterização textural são apresentados nas Figuras 29 e 30 e nas Tabelas 4 e 5. A área específica foi calculada pelo método BET baseado na isoterma de adsorção de N<sub>2</sub> no intervalo de pressão relativa de 0,05 a 0,30. O volume de poros foi calculado a partir da quantidade de N<sub>2</sub> adsorvida na pressão relativa de 0,99.

Observa-se na Figura 29 que as isotermas obtidas para a zeólita Y, com ou sem a incorporação de prata ou sulfadiazina de prata são do tipo I, típica de sólidos microporosos, onde a quantidade adsorvida tende a um limite quando  $P/P_0$  tende a 1 (FIGUEIREDO e RIBEIRO, 1989).

Observa-se uma diminuição do volume de  $N_2$  adsorvido nas zeólitas submetidas ao procedimento de troca iônica e impregnação, o que pode indicar a presença de cátions de prata dentro dos poros zeolíticos.



**Figura 29**-Isotermas de adsorção de NaY e zeólitas impregnadas e trocadas com prata.

A Tabela 4 apresenta os parâmetros calculados a partir das isotermas. Para todas as zeólitas Y, o método BET não deveria ser aplicado, uma vez que os valores da constante  $C_{BET}$  não se encontram na faixa ideal de 50 a 300 relatada por Pinto *et al.* (2008). Porém, como é possível utilizar estes valores de forma comparativa, os valores encontrados foram denominados de área específica.

Após a incorporação da prata houve redução da área específica em todas as amostras. Este efeito é tanto maior, quanto maior o teor de prata. Nota-se que o diâmetro médio dos poros praticamente não foi alterado. Isto

ocorre porque nesse cálculo o espaço entre partículas no grão também foi computado. O diâmetro médio está inclusive muito acima da abertura dos canais zeolíticos, 7- 7,4 Å para a zeólita Y.

Tabela 4-Análise textural das amostras zeolíticas Y.

Amostra	Área específica (BET) (m <sup>2</sup> /g)	Constante C <sub>BET</sub>	Volume total de poros (cm <sup>3</sup> /g)	Diâmetro médio do poro (Å)	Volume de microporos (cm <sup>3</sup> /g)
NaY	656	-34,53	0,35	21,63	0,33
5 AgY-TI	507	-30,64	0,29	23,49	0,26
5AgY-I	574	-34,51	0,29	20,53	0,29
10AgY-I	471	-27,76	0,26	23,13	0,25
5SDPY-I	529	-28,85	0,28	21,48	0,28

Para a mesma quantidade de prata e mesmo suporte zeolítico diferindo apenas no procedimento de incorporação de prata, foi observada uma redução da área específica maior na amostra obtida por troca iônica 5AgY-TI (22,65%), quando o mais provável seria uma maior redução com a impregnação 5AgY-I (12,48%). Tal fato pode ser atribuído à maior quantidade de aglomerados de óxidos formados na amostra submetida ao processo de troca iônica por esta apresentar o dobro de prata em sua estrutura.

As isotermas de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub> das zeólitas puras A e de todas as zeólitas A submetidas ao procedimento de troca iônica com nitrato de prata são apresentadas na Figura 30.

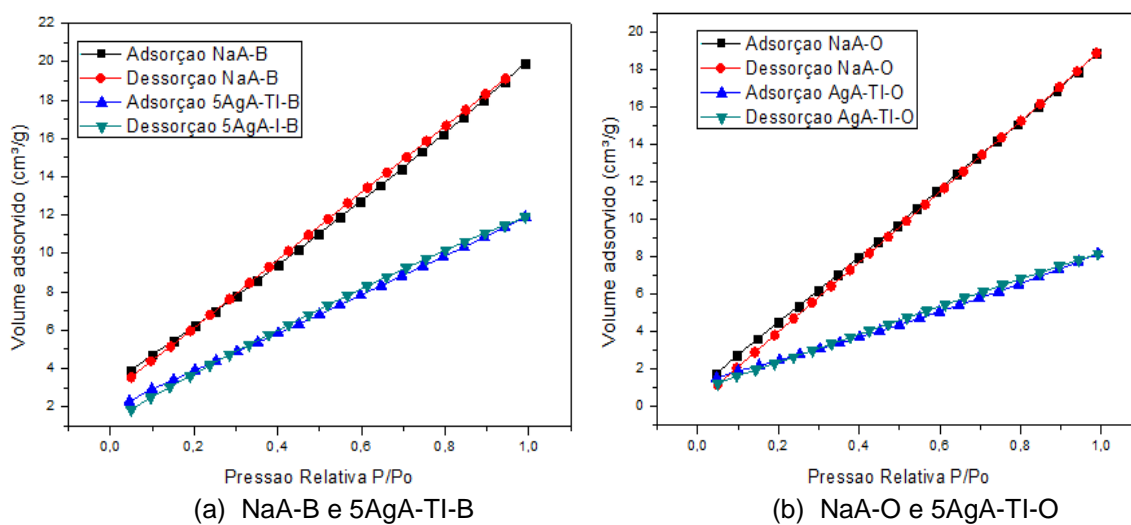


Figura 30- Isotermas de adsorção das zeólitas A trocadas com prata.

Mesmo após inúmeras repetições, as isotermas de todas as zeólitas A não foram condizentes com a teoria, ou seja, não foi obtida uma isoterma do tipo I, típica de sólidos microporosos (BRECK, 1974; GIANNETTO PACE *et al.*, 2000). As isotermas de adsorção de N<sub>2</sub> da zeólita NaA de Mendes (2013) também não foram condizentes com a literatura. A curva de dessorção não se sobrepôs à curva de adsorção, mesmo após inúmeras repetições.

Os resultados da análise textural das amostras zeolíticas A e das amostras submetidas ao procedimento de troca iônica estão apresentados na Tabela 5.

Deve-se ressaltar que as zeólitas Y apresentam área específica mais elevada do que as zeólitas A, devido ao tamanho de poro maior da zeólita Y em comparação com a zeólita A (BRECK, 1974).

Para ambas as zeólitas A os valores encontrados para a área superficial são relativamente baixos, mas estão coerentes com a literatura (XU *et al.*, 2007; GIANNETTO PACE *et al.*, 2000). Os valores encontrados para a constante  $C_{BET}$  estão um pouco abaixo do considerado ideal pela literatura, porém, são valores positivos diferentemente dos encontrados para a zeólita Y, decorrente da dificuldade encontrada pelas moléculas de N<sub>2</sub> entrarem nos poros estreitos da zeólita A, fato este que também explica porque não foram obtidas isotermas do tipo I para estas zeólitas extremamente microporosas. O fato de não terem sido encontrados microporos corrobora o que foi discutido.

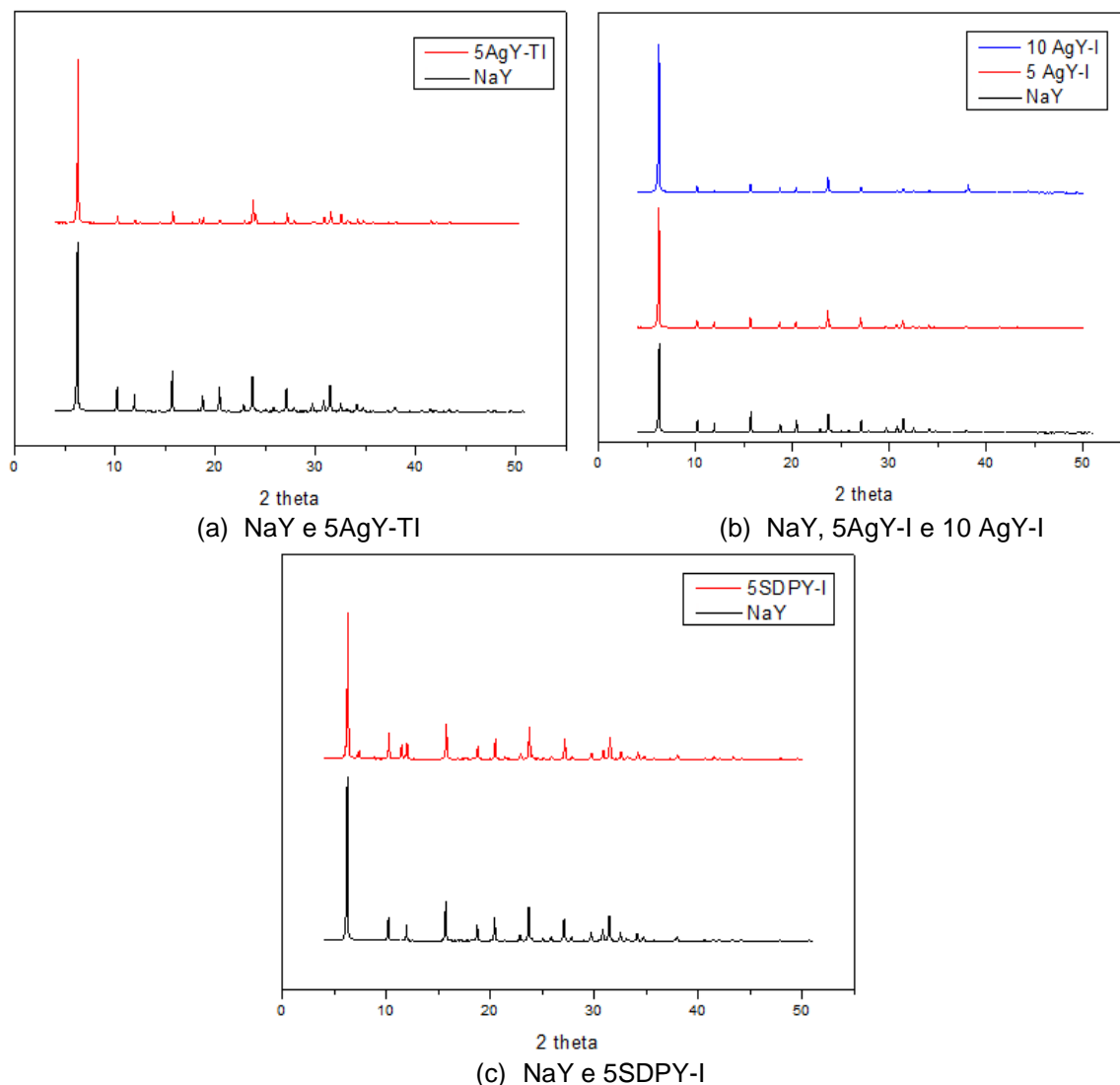
**Tabela 5**-Análise textural das amostras zeolíticas A da Baylith e Oxanyl.

Amostra	Área específica (BET) (m <sup>2</sup> /g)	Constante $C_{BET}$	Volume total de poros (cm <sup>3</sup> /g)	Diâmetro médio do poro (Å)	Volume de microporos (cm <sup>3</sup> /g)
NaA-B	25,90	21,49	3,08e-02	23,94	0
5AgA-TI-B	16,00	25,12	1,84e-02	23,07	0
NaA-O	24,20	7,68	2,92e-02	24,10	0
5AgA-TI-O	28,90	10,84	3,96e-02	27,45	0

#### 4.1.5 Difração de Raios X (DRX)

As amostras zeolíticas foram submetidas à análise de difração de raios X pelo método do pó. Os difratogramas apresentados nas Figuras 31 e 32 foram analisados com o auxílio do Banco de Dados JCPDS.

Observa-se que a análise da zeólita de partida, NaY (Figura 31) apresenta difratograma típicos de zeólitas faujasitas e a Figura 32 apresentam estruturas típicas de zeólita do tipo A.



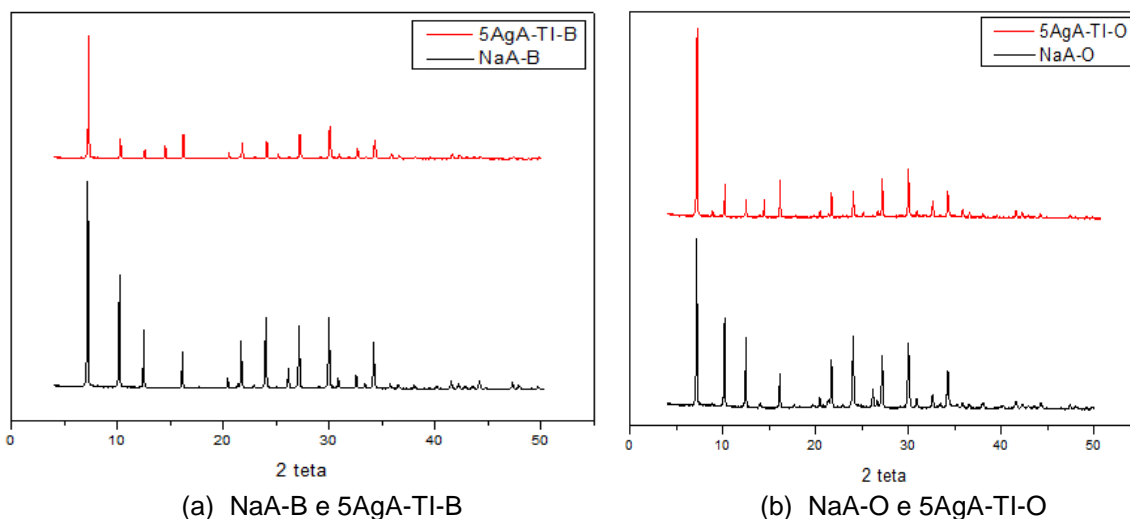
**Figura 31**-Difratogramas da NaY e impregnadas e trocadas com prata.

A semelhança entre os difratogramas das zeólitas de partida e as modificadas após o processo de troca com prata ou impregnação revela que estes processos não promovem qualquer modificação estrutural na zeólita (BOSCHETTO *et al.*, 2012; LIN *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2012; FONSECA e NEVES, 2013; SAINT-CRICQ *et al.*, 2012; KULPRATHIPANJA, 2010).

Foram identificados os planos cristalográficos típicos das zeólitas FAU e LTA. O Anexo A apresenta tabelas com a correspondência entre  $2\theta$  identificados, distâncias interplanares e intensidades relativas. Não foram

encontrados em nenhum difratograma picos relativos ao  $\text{Ag}_2\text{O}$  ou qualquer outro composto de prata.

Os picos característicos de zeólita FAU (Figura 31) dados em  $2\theta = 6,24^\circ$ ,  $15,70^\circ$ ,  $23,69^\circ$ ,  $27,08^\circ$  e  $31,43^\circ$  atribuídos, respectivamente, aos planos cristalográficos [111], [331], [622], [624], [804] foram observados tanto na zeólita de partida como nas amostras submetidas aos procedimentos de troca iônica e impregnação. Já os picos característicos das zeólitas LTA (Figura 32) são dados em  $2\theta = 7,18^\circ$ ,  $10,17^\circ$ ,  $12,46^\circ$ ,  $16,11^\circ$ ,  $21,67^\circ$ ,  $27,11^\circ$  referentes, respectivamente, aos planos cristalográficos [200], [220], [222], [420], [600] e [642].



**Figura 32-** Difratograma das zeólitas A e trocadas com prata.

Como mencionado anteriormente, esperava-se que os picos característicos da prata metálica em  $2\theta = 38,21^\circ$ ,  $44,51^\circ$ ,  $64,51^\circ$ ,  $77,51^\circ$  fossem detectados nos difratogramas de DRX de todas as amostras de Ag-zeólitas, especialmente no caso de 5AgA-TI-O, pois esta amostra apresentou grande quantidade de prata superficial. Apesar deste resultado não ser o esperado, inúmeros autores incorporaram diversos teores de prata na estrutura zeolítica por diversas metodologias diferentes e muitos deles também não verificaram a presença de cristais de prata em seus difratogramas (GARZA *et al.*, 2000; LALUEZA *et al.*, 2011a; LALUEZA *et al.*, 2012; SAINT-CRICQ *et al.*, 2012; BOSCHETTO *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2012; SHI *et al.*, 2013).



Sabendo-se que a região de  $2\theta = 10^\circ\text{-}20^\circ$  é relacionada com a localidade dos cátions na estrutura zeolítica, observa-se então, que em todas as amostras, tanto as preparadas a partir da zeólita Y como da A, houve uma redução da maior parte dos picos característicos, indicando uma redistribuição dos cátions de balanceamento de carga na estrutura interna da zeólita (SALAVATI-NIASARI, 2009; FERREIRA *et al.*, 2012; FONSECA E NEVES, 2013).

Garza *et al.* (2000) afirmam que alterações nos padrões de difração em  $2\theta = 29\text{-}30^\circ$  só ocorrerão quando a quantidade de prata a ser impregnada for muito elevada, sendo estas mudanças atribuídas à incorporação de Ag na estrutura zeolítica.

Segundo Saint-Cricq *et al.* (2012) os picos de prata metálica não são observados devido ao fato de que o procedimento de troca iônica ocorre sem redução das espécies de prata. Isto pode ser devido às condições experimentais, especialmente na ausência de luz durante o processo e/ou a concentração relativamente baixa de solução de nitrato de prata. Na verdade, uma concentração mais elevada de prata pode permitir a presença de cátions fracamente ligados que podem ser facilmente reduzidos com luz para induzir a formação de agregados, e, como resultado, levar à estruturação do cristal.

A cristalinidade relativa foi estimada pela intensidade dos picos de difração característicos de Ag-zeólita, em comparação com o padrão das zeólitas de partida, a qual foi definida como sendo de 100%. A cristalinidade foi obtida comparando as intensidades de cinco picos atribuídos aos planos [111], [220], [311], [331] e [533] para as amostras Y e os picos utilizados para o cálculo da cristalinidade da zeólita A foram [200], [220], [222], [420], [600]. A metodologia utilizada foi baseada no método ASTM D 3906-80 (1991).

De uma maneira geral, houve diminuição das intensidades relativas dos picos característicos zeolíticos obtidas após a incorporação de prata devido ao bloqueamento dos poros zeolíticos com pequenos óxidos de prata gerados durante a incorporação de prata, resultados também obtidos por Boschetto *et al.* (2012).

Os valores obtidos para a cristalinidade relativa das amostras preparadas a partir do suporte zeolítico Y foram: 81,27%; 50,83% e 90,24% para as amostras 5AgY-TI, 5AgY-I e 5SDPY-I, respectivamente.

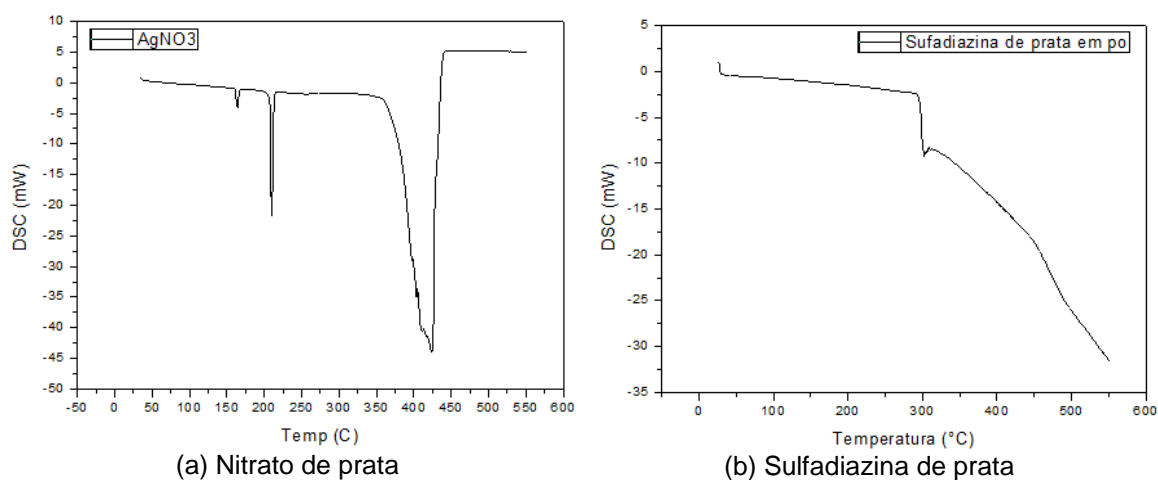
A elevada cristalinidade obtida para a amostra 10AgY-TI, 93,4% pode ser atribuída à retirada de material não cristalino durante o processo de impregnação, que é facilitada pelo meio aquoso e alta temperatura.

Houve uma grande diferença de cristalinidades das amostras preparadas com os suportes zeolíticos A da Oxanil e da Baylith. Observa-se valores de cristalinidade de 84,92% e 52,72% para as amostra 5AgA-TI-O e 5AgA-TI-B, respectivamente.

A queda brusca do valor de cristalinidade para a amostra 5AgA-TI-B pode ser decorrente da presença de impureza proveniente da troca iônica e não da diminuição da cristalinidade da zeólita em si.

#### 4.1.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As curvas de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura (DSC) para o nitrato de prata e sulfadiazina de prata foram realizadas e os resultados estão na Figura 33.

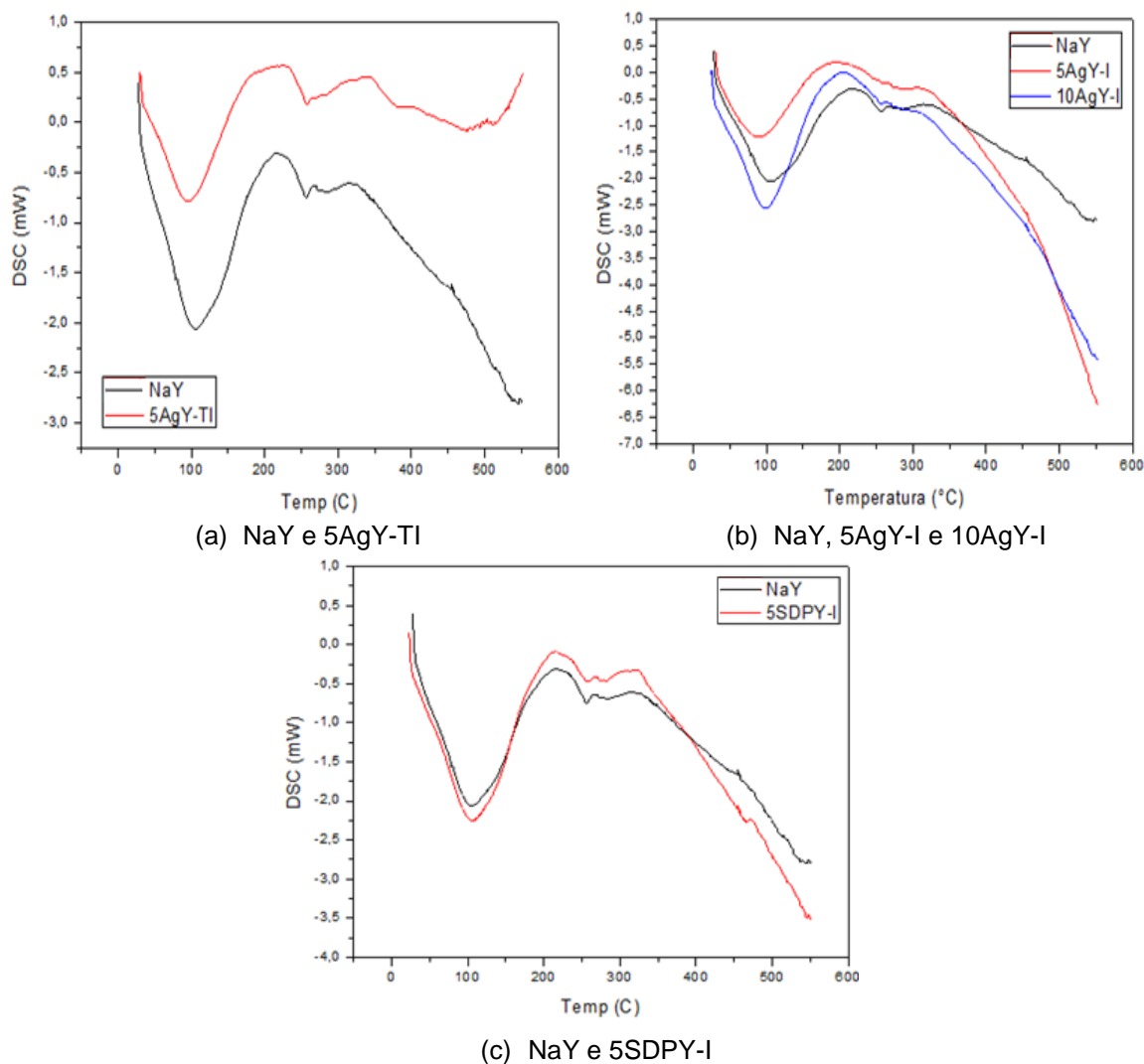


**Figura 33**-Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para (a) nitrato de prata e (b) sulfadiazina de prata.

Na Figura 33a, observa-se a presença de três picos endotérmicos bem definidos. Os picos em 150°C e 210°C correspondem à perda de água, de hidratação e/ou cristalização do nitrato de prata. O pico a 424°C corresponde à sua decomposição. Na Figura 33b, curva referente à sulfadiazina de prata, nota-se uma região endotérmica entre 50 e 300°C que pode ser associada à perda de água de hidratação. A 300°C inicia-se uma longa região endotérmica

que deve estar associada à decomposição da sulfadiazina de prata (CAMARGO, 2011).

Análise de DSC também foi realizada para todas as zeólitas de partida, NaY, NaA-B e NaA-O e para as amostras trocadas ou impregnadas apresentadas nas Figuras 34 e 35.



**Figura 34-** Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para zeólita NaY e impregnadas ou trocadas com prata.

As curvas da Figura 34 seguem o padrão normal da zeólita Y. Estas apresentam 3 picos característicos, pico endotérmico em 100-400°C e picos exotérmicos em 760° e 793°C. O primeiro pico corresponde à perda de umidade na zeólita (H<sub>2</sub>O fisissorvida) e o segundo pode ser relacionado com a perda de água de hidratação. Até o terceiro pico nenhuma mudança estrutural ocorre, porém em 800°C ocorre colapso da estrutura para um resíduo amorfo (Breck, 1974).

Através da Figura 34, pode-se observar que para as amostras zeolíticas Y, aproximadamente em 250°C verifica-se a presença de um ombro endotérmico. Como esse ombro também está presente na amostra NaY pura sugere-se que este é devido à decomposição das hidroxilas ou, segundo Yamada *et al.* (2005), este ombro pode ser decorrente da desidratação de íons sódio hidratados localizados na estrutura da zeólita. Como as análises foram realizadas até 600°C, devido a limitações do equipamento, só foi possível observar os picos endotérmicos.

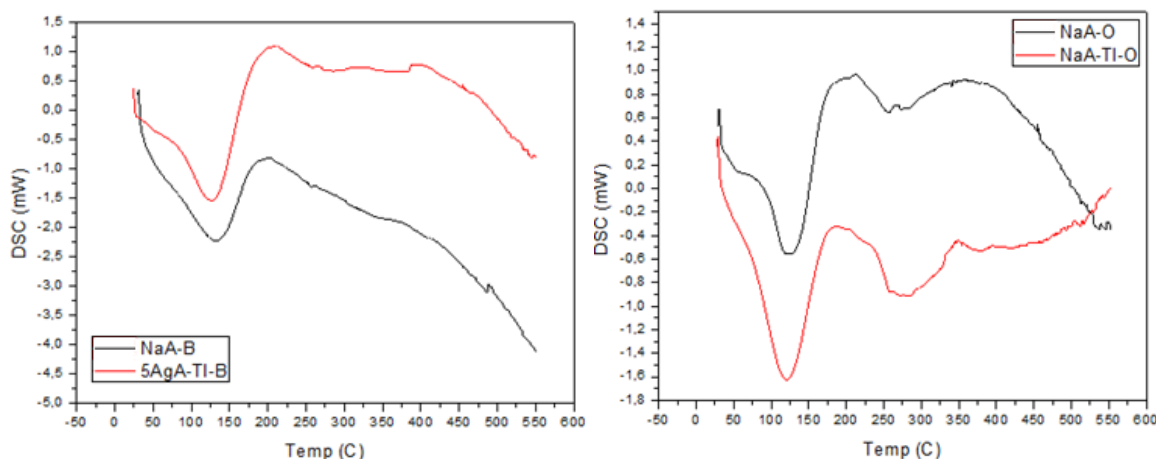
A Tabela 6 apresenta valores de variação de entalpia nos pontos de transição. Nota-se sempre maior energia absorvida para liberação de H<sub>2</sub>O fisissorvida por ser sempre em maior quantidade do que a de hidratação.

**Tabela 6-** Temperaturas e entalpias obtidas por calorimetria diferencial de varredura para amostras zeolíticas Y.--

Amostra	T <sub>1</sub> (°C)	T <sub>2</sub> (°C)	ΔH <sub>1</sub> (J/g)	ΔH <sub>2</sub> (J/g)
NaY	105,10	256,50	371,10	6,45
5AgY-TI	94,70	257,35	355,26	49,23
5AgY-I	88,28	285,61	353,09	1,35
10AgY-I	98,71	258,50	407,69	14,58
5SDPY-I	105,93	256,32	374,38	3,68

A zeólita A, assim como a zeólita Y, apresenta três picos principais característicos: pico endotérmico entre 25-300°C, pico exotérmico em 860°C e mais um pico exotérmico em 910°C. O primeiro pico é decorrente de perda de umidade da zeólita, o segundo, colapso da estrutura, e o terceiro é uma mudança de fase. Apresenta estrutura estável até 700°C e em 800°C a estrutura é recristalizada para beta-cristobalita na qual é uma derivada da cristobalita (BRECK, 1974).

Na Figura 35 pode-se observar um ombro endotérmico fraco em aproximadamente 50°C referente à dessorção de moléculas de água fracamente retidas na superfície zeolítica. Os picos endotérmicos obtidos entre 120-130°C são relativos à perda de água fisissorvida e/ou de hidratação dos cátions sódio.



(a) NaA-B e 5AgA-I-B

(b) NaA-O e 5AgA-TI-O

**Figura 35-** Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para zeólitas A e trocadas com prata.

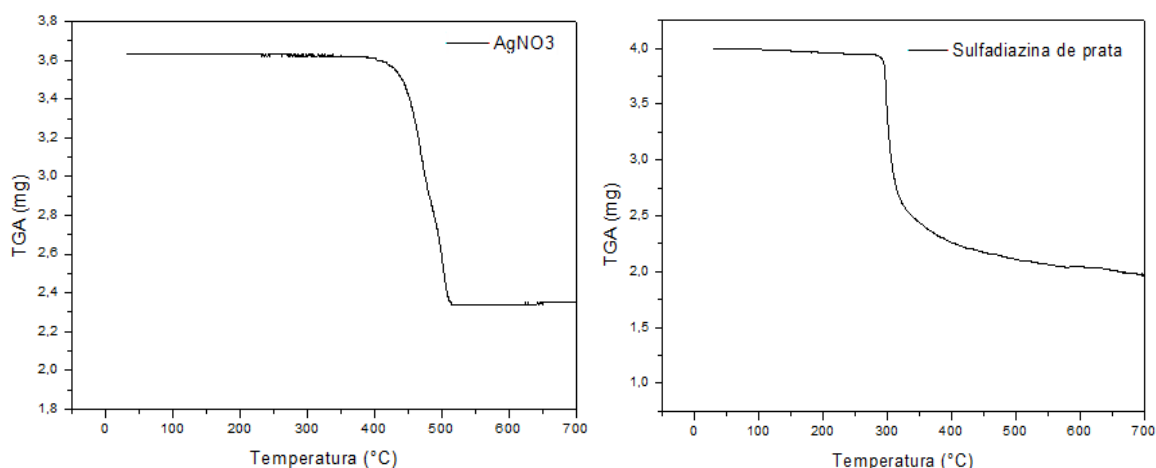
A Tabela 7 apresenta os valores da variação de entalpia correspondentes aos picos endotérmicos encontrados. O valor de  $\Delta H_1$  para a zeólita NaA-B foi substancialmente maior que os valores obtidos para as demais. Não foi encontrada nenhuma justificativa na literatura pesquisada.

**Tabela 7-** Temperaturas e entalpias obtidas por calorimetria diferencial de varredura para amostras zeolíticas A.

Amostra	T <sub>1</sub> (°C)	T <sub>2</sub> (°C)	$\Delta H_1$ (J/g)	$\Delta H_2$ (J/g)
NaA-B	132,81		483,96	
5AgA-TI-B	126,00		245,66	
NaA-O	125,33	257,21	212,66	16,12
5AgA-TI-O	120,68	282,53	194,31	57,38

#### 4.1.7 Análise Termogravimétrica (ATG)

A estabilidade térmica do nitrato de prata, da sulfadiazina de prata e das zeólitas utilizadas neste trabalho foi analisada por termogravimetria. Os resultados obtidos podem ser visualizados nas Figuras 36 a 38. A Tabela 8 apresenta a perda de massa cumulativa total (%) até a temperatura de 700°C observada para as zeólitas puras e as submetidas aos procedimentos de troca iônica e impregnação.



(a) Nitrato de prata

(b) Sulfadiazina de prata

**Figura 36**-Curva termogravimétrica de (a) nitrato de prata e (b) sulfadiazina de prata.

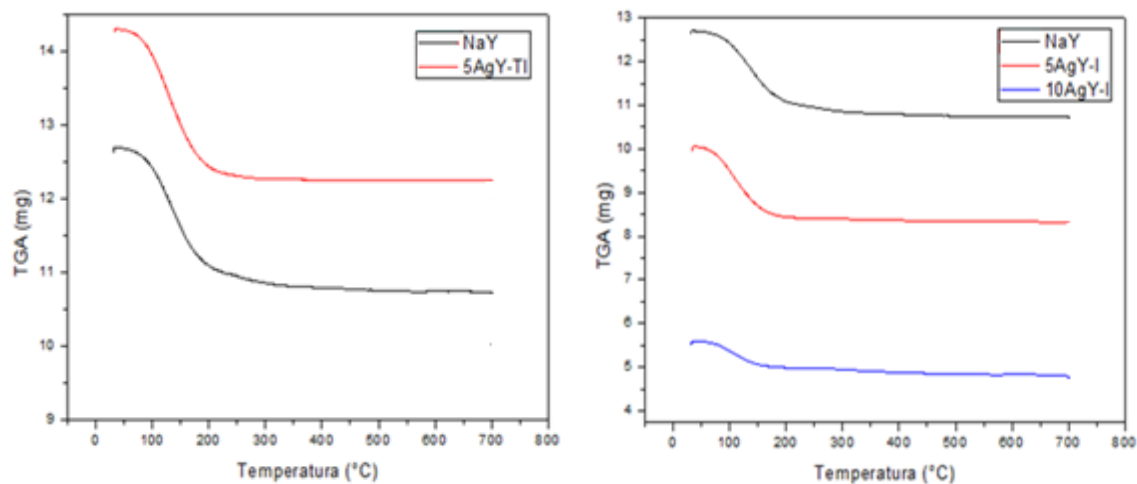
O nitrato de prata apresentou perda de massa entre 400 e 550°C com uma perda total de 35,35% referente à sua decomposição. Já a sulfadiazina de prata apresentou sua maior perda de massa na faixa de temperatura de 250-350°C, com uma perda total de 51% referente a sua decomposição.

Para as zeólitas foi observado apenas um patamar de perda de massa, geralmente entre 50 e 200°C para todas as amostras.

Observa-se que para as amostras 5AgY-TI, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O, houve uma menor perda de massa final quando comparada com as zeólitas de partida. Este fato se deve ao procedimento de incorporação de prata no suporte zeolítico, troca iônica, no qual a prata se encontra na forma de íons e em quantidade superior ao encontrado nos suportes impregnados, o que confere menor higroscopicidade à amostra, resultando em menor retenção de água e maior estabilidade.

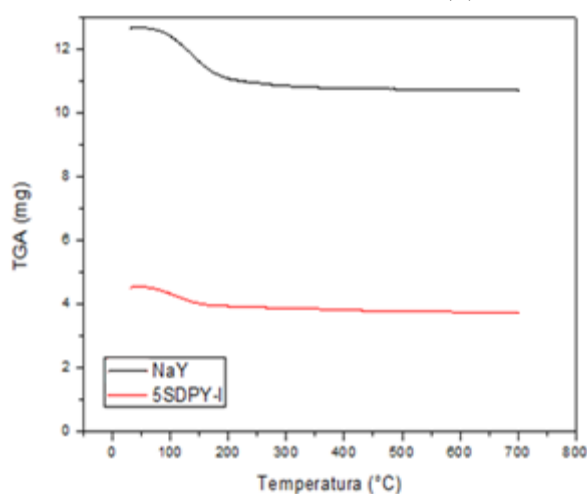
**Tabela 8**-Perda de massa cumulativa para as amostras zeolíticas

Amostra	Perda de massa total (%)
NaY	15,17
5AgY-TI	14,09
5AgY-I	16,73
10AgY-I	15,19
5SDPY-I	17,16
NaA-B	19,30
5AgA-TI-B	8,42
NaA-O	14,35
5AgA-TI-O	14,15



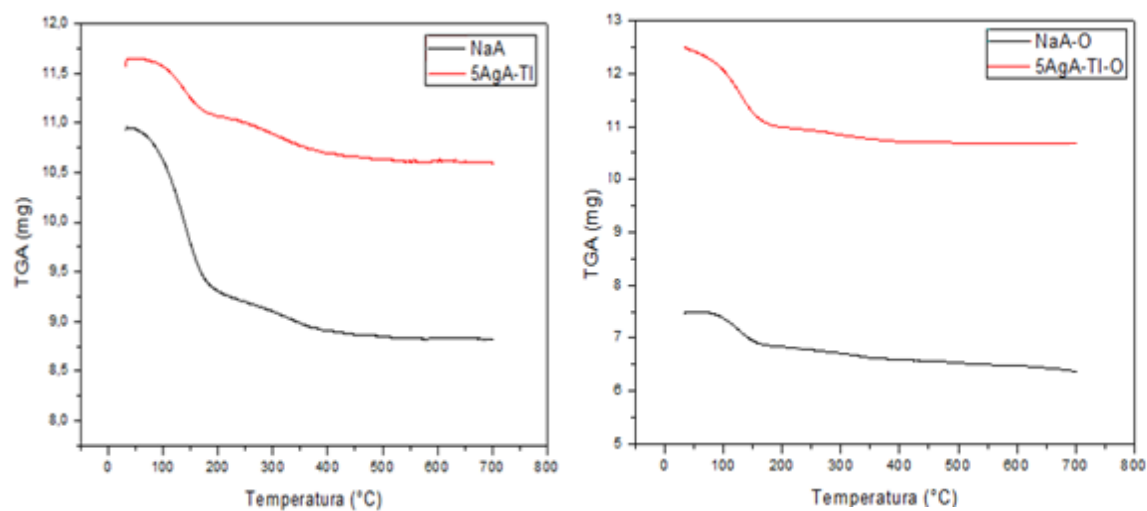
(a) NaY e 5AgY-TI

(b) NaY, 5AgY-I e 10AgY-I



(c) NaY e 5SDPY-I

**Figura 37**-Curva termogravimétrica da NaY pura e trocada ou impregnada com prata.



(a) NaA e 5AgA-TI-B

(b) NaA-O e 5AgA-TI-O

**Figura 38**-Curva termogravimétrica da zeólita A e trocada com prata.

#### 4.1.8 Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho tem provado ser uma técnica muito informativa e poderosa para a caracterização de materiais zeolíticos. A maioria dos espectrômetros de infravermelho mede a absorção de radiação na região do infravermelho médio do espectro eletromagnético ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ). Nesta região do espectro, a absorção é devida a vários modos de vibração da amostra. A análise destas bandas de absorção de vibração fornece informações sobre as espécies químicas presentes. Isto inclui informação sobre a estrutura da zeólita, bem como outros grupos funcionais que possam estar presentes como um resultado da forma como o material foi sintetizado e tratado (por exemplo, troca iônica, impregnação, calcinação, etc.) (KULPRATHIPANJA, 2010, SHAMELI *et al.*, 2011; LOIOLA *et al.*, 2012).

Flanigen *et al.* (1971 *apud* WEITKAMP, 1999) mostraram que o espectro infravermelho na região  $1300$  a  $300 \text{ cm}^{-1}$  é uma ferramenta importante para indicar mudanças estruturais na zeólita. As bandas nesta região podem ser classificadas em duas categorias:

- 1) Insensíveis à estrutura da zeólita, correspondendo às vibrações internas em tetraedros  $\text{TO}_4$ .
- 2) Sensíveis à topologia da rede, correspondendo a vibrações das ligações externas entre tetraedros.

Em relação às vibrações insensíveis à estrutura, as bandas mais proeminentes ocorrem em:  $1250-950 \text{ cm}^{-1}$ ,  $720-650 \text{ cm}^{-1}$  e  $500-420 \text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento assimétrico, estiramento simétrico e deformação angular, respectivamente. Similarmente, bandas em  $650-500 \text{ cm}^{-1}$  e  $420-300 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às ligações externas, e são referentes aos anéis duplos de quatro membros (DR4) ou anéis duplos de seis membros (DR6) e vibrações de abertura de poros, respectivamente. Vibrações de estiramento simétrico e assimétricos sensíveis à estrutura (ligações externas) podem ser observadas nas bandas de absorção entre  $820$  a  $750 \text{ cm}^{-1}$  e  $1150$  a  $1050 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente (FLANIGEN *et al.*, 1971 *apud* WEITKAMP, 1999; YAMADA *et al.*, 2005). Um resumo dos modos de vibrações é apresentado na Tabela 9.



Nas zeólitas, a região entre 3700 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  caracteriza-se pela presença de grupos T-OH, sendo uma hidroxila da molécula de água ligada ao oxigênio da estrutura (BRECK, 1974; LIN *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2012). A presença característica de água na estrutura zeolítica origina uma banda de absorção na região de 1600 a 1650  $\text{cm}^{-1}$  (MOZGAWA, 2000).

**Tabela 9**-Bandas vibracionais características das zeólitas.

	Modo de vibrações	Frequência ( $\text{cm}^{-1}$ )
Ligações internas	Estiramento assimétrico	1250-950
	Estiramento simétrico	720-650
	Deformação angular	500-420
Ligações externas	Anéis duplos	650-500
	Abertura de poros	420-300
	Estiramento simétrico	820-750
	Estiramento assimétrico	1150-1050 (ombro)

FONTE: Flanigen *et al.* (1971) *apud* WEITKAMP (1999).

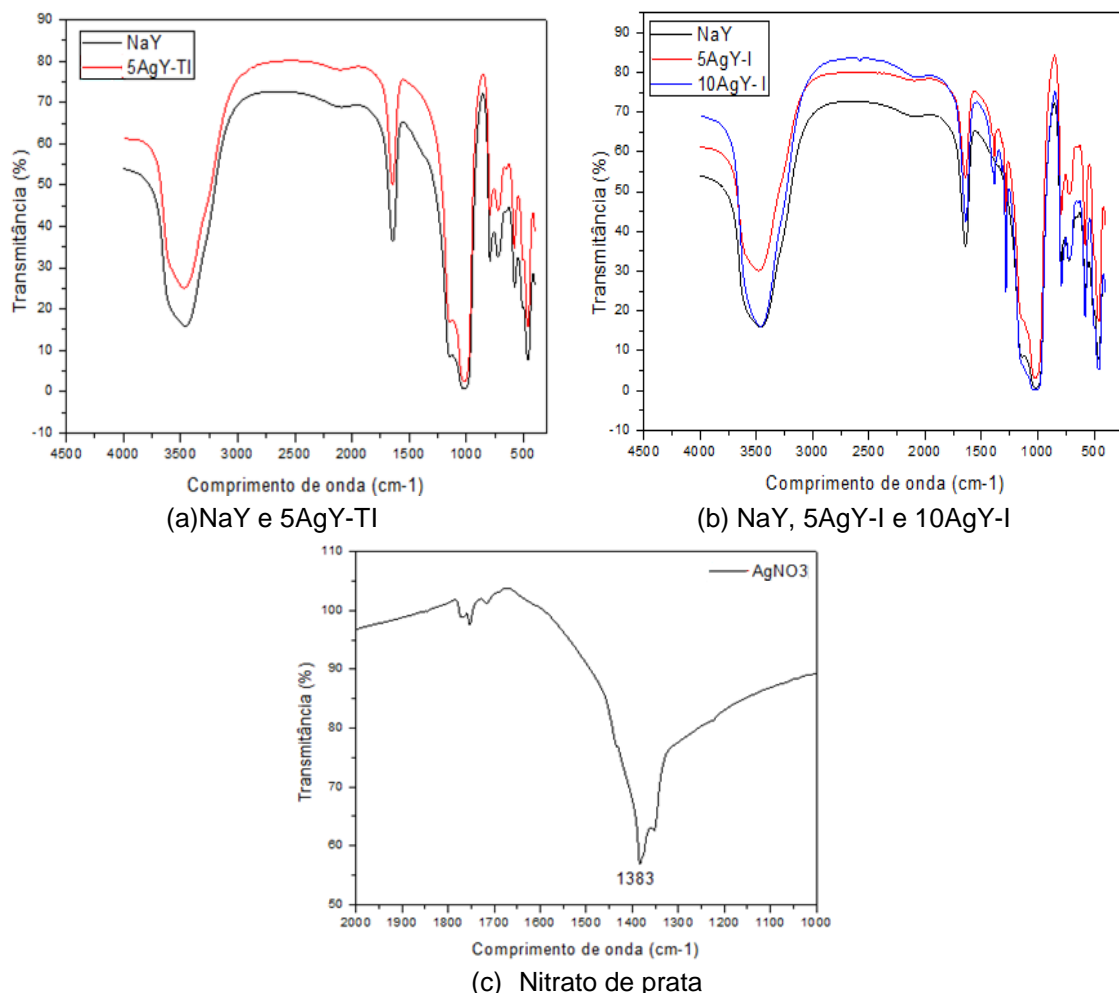
Os espectros de absorção na região do infravermelho, mostrando as mudanças estruturais das zeólitas Y e A antes e após as trocas iônicas ou impregnações são apresentadas nas Figuras 39-41.

A Tabela 10 ilustra os principais picos obtidos referentes às vibrações encontradas na zeólita de partida NaY e nas zeólitas Y submetidas aos procedimentos de troca iônica e impregnação. Todas as bandas correspondentes às vibrações da rede observadas por Flanigen *et al.* (1971 *apud* WEITKAMP, 1999) na região espectral de 1300-400  $\text{cm}^{-1}$  foram identificadas. Nenhuma mudança brusca nesta região espectral foi observada após a incorporação de prata para a amostra submetida ao procedimento de troca iônica, 5AgY-TI, o que fornece mais evidências de que a estrutura permanece inalterada, de acordo com resultados de DRX e MEV.

**Tabela 10**-Bandas vibracionais obtidas para zeólita NaY e amostras trocadas e impregnadas.

	Atribuições	NaY	5AgY-TI	5AgY-I	10AgY-I	5SDP-I
	T-OH superficiais	3470	3470	3470	3470	3470
	Água zeolítica	1643	1643	1650	1650	1650
Internos	E. assimétrico	1143	1143	1143	1143	1140
	E. simétrico	720	721	721	720	720
	Deformação angular	501/461	501/461	501/461	502/460	502/460
Externos	Anéis duplos (D6R)s	577	579	580	575	580
	E. simétrico	791	791	792	788	792
	E. assimétrico	1026	1026	1026	1027	1027

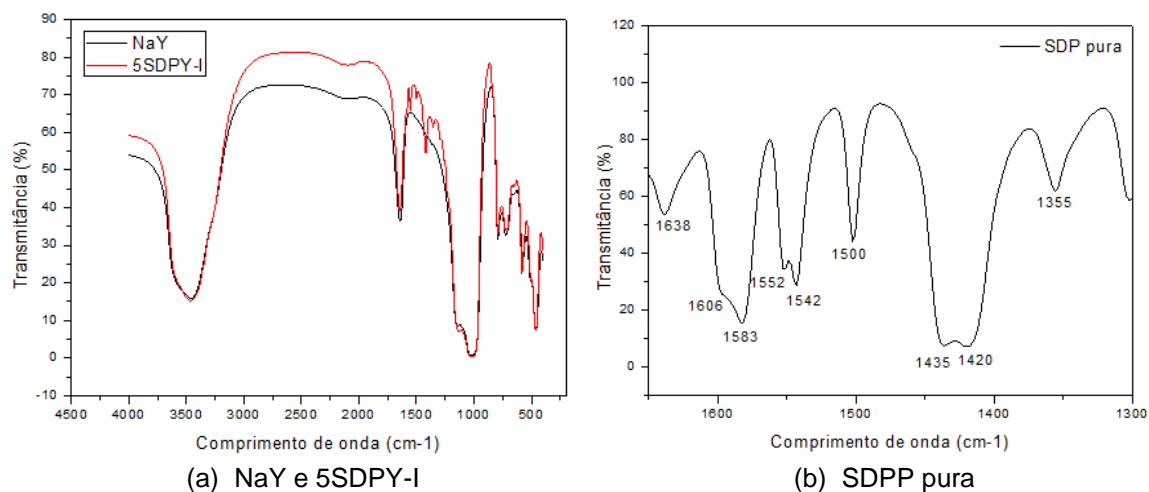
Outros autores também verificaram que após a incorporação de prata não houve alteração na estrutura faujasítica das zeólitas estudadas, pois tanto as zeólitas impregnadas como as de partida apresentaram as mesmas bandas de absorção zeolíticas (FERREIRA *et al.*, 2012; LIN *et al.*, 2011; SHAMELI *et al.*, 2011).



**Figura 39**-Espectro de FTIR da zeólita NaY, trocadas e impregnadas com prata e nitrato de prata.

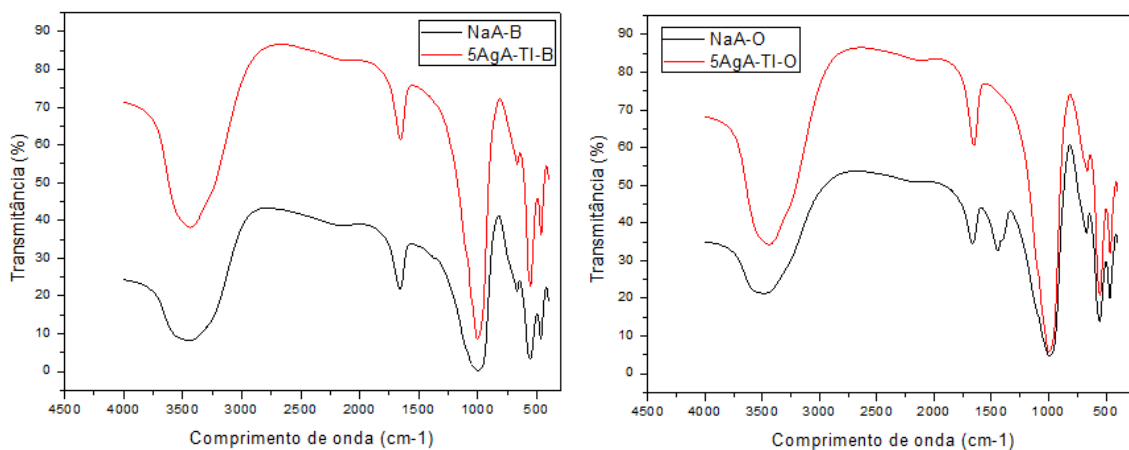
Mesmo não sendo observadas alterações nas regiões espectrais de 1300-400  $\text{cm}^{-1}$ , para as duas zeólitas submetidas ao procedimento de impregnação, 5AgY-I e 10 AgY-I (Figura 39 b) observou-se o aparecimento de três picos localizados em 1300, 1320 e 1383  $\text{cm}^{-1}$ . Os dois primeiros são bandas de vibração de  $\text{NO}_3^-$  em 1400-1300  $\text{cm}^{-1}$ , ou seja, no procedimento de calcinação não houve decomposição completa do  $\text{AgNO}_3$ . A banda em 1383  $\text{cm}^{-1}$  também foi identificada no espectro de IR do nitrato de prata sendo atribuída à vibração de grupos N-O (Figura 39c) (GARZA *et al.*, 2000). A

presença do íon nitrato não era esperada, uma vez que a calcinação ocorreu a 500°C, valor que corresponde à perda de massa do nitrato de prata encontrado na análise de termogravimetria à temperatura programada.



**Figura 40**-Espectro de FTIR da zeólita NaY, 5SDPY-I e SDP pura.

Para a amostra 5SDPY-I (Figura 40a) observa-se claramente que não ocorreram mudanças na região espectral de 1300-400  $\text{cm}^{-1}$  e não houve deslocamentos nem alargamentos bruscos nas bandas características, não ocorrendo quedas elevadas de cristalinidade quando comparada com a zeólita de partida Y, fato este que corrobora os resultados obtidos por DRX. No entanto, assim como observado para as amostras impregnadas com nitrato de prata, as amostras impregnadas com sulfadiazina de prata apresentam picos que também podem ser identificados no espectro de IR da sulfadiazina de prata em pó (Figura 40b), sendo estes 1552, 1500, 1420 e 1356  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes à ligação S=O sugerindo que a molécula de sulfadiazina está adsorvida na superfície zeolítica (SZEJTLI, 1998 *apud* CAMARGO, 2011).



(a) NaA-B e 5AgA-TI-B

(b) NaA-O e 5AgA-TI-O

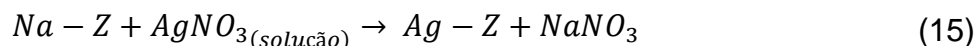
**Figura 41-** Espectro de FTIR da zeólita A e trocada com prata.

As zeólitas NaA-B e 5AgA-TI-B (Figura 41a) apresentaram os picos característicos da água em 3500 e 1650 cm<sup>-1</sup>, estiramento simétrico e estiramento assimétrico em 1011 e 670 cm<sup>-1</sup>, a presença de anéis duplos de 4 membros (DR4) em 557 cm<sup>-1</sup> e deformação angular em 461 cm<sup>-1</sup>, estando em conformidade com Breck (1974). Não houve a presença de nenhum pico adicional, porém observou-se um aumento da banda característica referente ao estiramento assimétrico dos tetraedros internos zeolíticos (1011 cm<sup>-1</sup>). Isto pode mostrar indícios de que se o tratamento térmico fosse por um tempo mais prolongado ou com uma temperatura mais alta poderia levar à amorfização da amostra. Fato este estudado por Yamada *et al.* (2005) que verificaram que após tratamento térmico as bandas em 560 cm<sup>-1</sup> para anéis duplos de quatro membros, 1010, 660 e 460 cm<sup>-1</sup> para a vibração interna das ligações T-O foram ou ampliadas ou desapareceram e houve também o aparecimento de bandas amplas a 710 e 470 cm<sup>-1</sup>, que são característicos de silicato de alumínio amorfo.

As zeólitas NaA-O e 5AgA-TI-O (Figura 41b) apresentaram os picos característicos da água em 3500 e 1664 cm<sup>-1</sup>, estiramento simétrico e estiramento assimétrico em 992 e 671 cm<sup>-1</sup>, deformação angular em 458 cm<sup>-1</sup> e a presença de anéis duplos de 4 membros (DR4) em 556 cm<sup>-1</sup>, estando em conformidade com Breck (1974). A zeólita de partida apresentou um pico em 1436 cm<sup>-1</sup>. Não foi encontrada nenhuma atribuição a ela na literatura pesquisada. Como após a troca iônica com prata este pico não está mais presente e as análises de TXRF e EDX não apresentam componentes que não

sejam os esperados (Si, Al, Na, Ag, O), sugere-se que este pico era decorrente de algum material contaminante e com as sucessivas lavagens para a retirada de  $\text{NaNO}_3$  tenha sido retirado também este material. No espectro de RMN de  $^{27}\text{Al}$  foi identificado alumínio tetraédrico relacionado a impurezas de síntese na zeólita de partida NaA-O, fato que corrobora os resultados obtidos no espectro de infra-vermelho desta zeólita.

Observa-se que após a troca iônica, todas as amostras submetidas a esse tratamento não apresentaram banda de vibração do  $\text{NO}_3^-$  entre 1400 e 1300  $\text{cm}^{-1}$  (GARZA *et al.*, 2000). Por este motivo, supõe-se que a prata esteja na rede zeolítica ocupando sítios de troca iônica e que todo nitrato foi retirado do suporte zeolítico através das etapas de lavagem, sob a forma de nitrato de sódio, obedecendo a seguinte reação (Equação 15):



Onde Z é a zeólita.

Com exceção da amostra 5SDPY-I, quando a zeólita sódica foi impregnada com prata, observou-se um leve deslocamento das bandas de vibração. Este fato pode ser atribuído à natureza dos íons na rede zeolítica, pois a posição de um cátion na zeólita é influenciada pelo seu potencial iônico (RODRIGUEZ-FUENTES *et al.*, 1998).

#### 4.1.9 Atividade antimicrobiana em meio sólido- Difusão em placa

Os agentes patogênicos isolados mais comuns de uma ferida de queimadura são *Staphylococcus aureus* (75%), *Pseudomonas aeruginosa* (25%), *Streptococcus pyogenes* (20%), e vários bacilos coliformes (5%). Outros estreptococos, organismos anaeróbios e fungos como a *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatis* também podem causar infecções (EDWARDS-JONES e GREENWOOD, 2003).

Assim, todos os testes de inibição microbiana foram realizados utilizando as bactérias *P. aeruginosa* e *E. coli* como representantes das bactérias Gram-negativas e *S. aureus* como Gram-positiva. Como *Candida albicans* também apresenta potencial para causar infecções, esta também foi utilizada.

Considera-se colonização microbiana quando a contagem de colônias não ultrapassa 100.000 por grama de tecido ( $10^5$  col/g tecido ou  $10^5$  UFC/mL) (RUSSO, 1976; GOMES *et al.*, 2001). A partir deste valor, considera-se infecção, ou potencial de invasão. Assim, os experimentos foram realizados com uma quantidade de  $10^6$  UFC/mL a fim de avaliar se os materiais confeccionados são realmente ativos contra as linhagens testadas.

O método utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana das zeólitas com prata sintetizadas foi o método de Difusão em Ágar, comumente utilizado em análises rotineiras de susceptibilidade antimicrobiana realizadas em hospitais para avaliação da resistência de culturas bacterianas a antibióticos. Este método baseia-se na medição de zonas de não crescimento que podem ser visualizadas ao redor dos discos que possuem propriedades antimicrobianas para a cultura de micro-organismos testados. Essas zonas de não crescimento também podem ser denominadas como zonas de inibição, e quanto maior o diâmetro dessas zonas formadas, maior a característica antimicrobiana do filme para a bactéria testada (HABEEB *et al.*, 2007).

Os resultados encontrados para os experimentos realizados encontram-se na Tabela 11 e uma fotografia para cada zeólita e micro-organismo testado é apresentado no Apêndice B.

Para melhor comparação entre a amostra e o controle, os dois foram sempre colocados na mesma placa para ficarem sob as mesmas condições de incubação, pH, temperatura, e quantidade de micro-organismos, a fim de gerar resultados confiáveis.

Tabela 11-Tamanho dos halos resultantes

Amostra	Diâmetro do halo de inibição (mm)			
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
5AgY-TI	22,80±0,47	20,35±2,25	18,10±2,33	24,01±1,38
5AgY-I	19,95±0,59	19,95±2,15	17,70±1,11	18,90±0,97
10AgY-I	23,05±1,62	19,10±1,80	20,00±1,12	24,45±1,60
5AgA-TI-B	23,20±0,75	21,20±1,93	21,20±0,87	23,87±0,59
5AgA-TI-O	17,70±0,36	16,75±0,35	16,30±0,90	18,21±0,80

Não foi realizada a análise de Difusão em ágar para as zeólitas de partida, NaY, NaA-B e NaA-O, pois, vários autores demonstraram que estas não exibem atividades antimicrobianas sugerindo que o comportamento antimicrobiano é devido à presença de prata na estrutura das zeólitas

(KWAKYE-AWUAH *et al.*, 2008; KAWAHARA *et al.*, 2000; FERREIRA *et al.*, 2012). A zeólita é então, a responsável pela liberação lenta e sustentada dos íons de prata da estrutura para o meio onde se encontram os microrganismos.

Para todas as zeólitas testadas observa-se que as espécies Gram-negativas (*P. aeruginosa* e *E. coli*) foram mais suscetíveis à ação da prata do que a bactéria Gram-positiva (*S. aureus*), ou seja, o diâmetro do halo de inibição foi o seguinte: *P. aeruginosa* (Gram -) > *E. coli* (Gram -) > *S. aureus* (Gram +). Este fato é atribuído a diferenças na composição das paredes celulares destas bactérias. As Gram-positivas apresentam maior resistência aos íons  $\text{Ag}^+$  devido a sua parede celular conter uma maior quantidade de peptidoglicanos (3-20 vezes), fornecendo uma barreira adicional contra os agentes antimicrobianos (KAWAHARA *et al.*, 2000; LALUEZA *et al.*, 2011b).

*C. albicans* se mostrou sensível à ação de Ag-zeólitas. Estes resultados também foram obtidos por Ferreira *et al.* (2012) que atribuíram esse fato à complexa organização celular das células eucarióticas e/ou à estrutura da parede celular. A prata ataca a membrana plasmática da levedura resultando na formação de poros o que interrompe o potencial de membrana, inativa o processo de brotamento e subsequentemente ocorre morte celular.

Deve-se observar que como os meios nutritivos TSB ou TSA apresentam em sua composição proteínas e cloreto de sódio (5,00 g/L) estes provavelmente inativaram uma parcela significativa do íon  $\text{Ag}^+$  liberado a partir de zeólita (KAWAHARA *et al.*, 2000; MATSUMURA *et al.*, 2003).

Para as zeólitas com a mesma quantidade de prata trocada teórica e mesmo procedimento (troca iônica), 5AgY-TI, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O, contra os mesmos micro-organismos, observou-se uma diferença no diâmetro do halo de inibição, pois sugere-se que o estado de oxidação da prata desempenha um importante papel na atividade antimicrobiana. Através da análise de XPS, Ferreira *et al.* (2012) verificaram uma maior atividade antimicrobiana da zeólita AgY contra *E. coli* e *Bacillus subtilis* por apresentar prata na forma iônica quando comparada com AgX na forma de prata metálica.

O efeito antimicrobiano da prata depende da sua biodisponibilidade. Muitos materiais incluem prata em forma de íon (ou seja, a sulfadiazina de prata, nitrato de prata, tiossulfato de prata, zeólitas trocadas com prata, etc), outros contêm prata na forma metálica. Outros materiais, como o óxido de

prata (I) tiram proveito de sua baixa solubilidade em ambientes aquosos para liberar lentamente íons de prata, como os  $Ag(OH)_2^-$  (LALUEZA *et al.*, 2011b).

Os elevados valores encontrados para o diâmetro do halo de inibição do nitrato de prata utilizado como controle positivo são decorrentes da alta dose e da biodisponibilidade imediata de prata iônica. Para todas as zeólitas testadas, a quantidade de prata impregnada ou trocada na zeólita é menor do que a quantidade do controle positivo devido aos processos de difusão dentro dos poros zeolíticos e/ou difusão-meio que controlam a quantidade de prata iônica liberada. No entanto, para muitas aplicações práticas, inclusive para a formulação de curativos para queimaduras, é desejável um reservatório de material a partir do qual a prata é liberada lentamente, para se obter um efeito bactericida controlado e prolongado.

Observa-se que para todas as bactérias testadas a amostra 5AgA-TI-O apresentou o menor diâmetro de halo de inibição quando comparada com as outras amostras zeolíticas com prata. Apesar do grande teor de prata obtido por TXRF e EDX (seção 4.1.2), esta amostra apresentou uma ação antimicrobiana reduzida devido aos grandes *clusters* metálicos presentes liberarem  $Ag^+$  muito lentamente, fato também verificado por LALUEZA *et al.* (2011b), ao passo que nas demais amostras a presença destes foi mínima e até mesmo não observada através da análise de microscopia eletrônica de varredura (seção 4.1.3).

Segundo Lalueza *et al.* (2011b) muitas vezes a quantidade total de prata em contato com as bactérias não é importante, fato este que pode ser observado neste trabalho contra *E. coli*, na qual a amostra 5AgY-I apresentou um maior halo de inibição quando comparada com 10AgY-I, sendo que a primeira apresenta metade da concentração de prata teórica da segunda. No entanto, a capacidade com que a prata gera íons  $Ag^+$  parece ser o principal fator de atividade antimicrobiana. No caso deste trabalho, maior quantidade de  $Ag^+$  foi liberada a partir da zeólita com menor quantidade de prata. Provavelmente as zeólitas com menores teores apresentaram *clusters* menores.

Para as amostras zeolíticas sintetizadas neste trabalho a ordem obtida de eficiência antibacteriana contra *P. aeruginosa* e *S. aureus* foi: 5AgA-TI-



B>10AgY-I>5AgY-TI>5AgY-I>5AgA-TI-O. Esta ordem pode ser explicada como um resultado da facilidade com que os íons  $\text{Ag}^+$  são gerados em cada material.

Um fator adicional que aumenta a eficiência das zeólitas nas quais não houve a formação de *clusters*, principalmente para a zeólita 5AgA-TI-B, é que os íons  $\text{Ag}^+$  estão presentes ao longo da estrutura. Desta forma, mesmo que alguns poros ou até mesmo um cristal inteiro tornem-se bloqueados pela formação de biofilme bacteriano, a liberação de  $\text{Ag}^+$  pode se dar através de outras faces cristalinas, usando uma rede porosa 3D dentro do cristal da zeólita (LALUEZA *et al.*, 2011b).

As amostras 5AgY-I e 10AgY-I apesar de serem calcinadas para a fixação de  $\text{Ag}_2\text{O}$  na superfície e nos poros e cavidades da zeólita, podem se solubilizar e liberar íons livres de prata (COTTON e WILKINSON, 1996; *apud* LALUEZA *et al.*, 2011b). Esta ação bactericida foi anteriormente demonstrada em  $\text{Ag}_2\text{O}$  dopada em vidros bioativos (BELLANTONE *et al.*, 2002). Observa-se também que na análise de FTIR foi verificado que ainda havia a presença de nitrato de prata. Este fato sugere que estas amostras podem apresentar prata na forma de íons.

## 4.2 Caracterização dos filmes poliméricos

Com base em ensaios preliminares, verificou-se que era necessário a adição de agente plastificante para reduzir a fragilidade dos filmes de quitosana com zeólitas. Os plastificantes têm a função de reduzir as forças intermoleculares suavizando a rigidez da estrutura do filme e aumentando a mobilidade das cadeias biopoliméricas, melhorando assim as propriedades mecânicas. Foi adicionado glicerol em todos os filmes biopoliméricos por este ser indicado em aumentar a flexibilidade do filme, reduzir a resistência, aumentar a elasticidade e melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água (GONTARD *et al.*, 1993).

Como se utiliza ácido acético para a solubilização da quitosana é prática comum realizar uma etapa de neutralização dos filmes com uma solução de hidróxido de sódio (DALLAN, 2005). Porém, esta etapa não é indicada quando a aplicação é destinada ao uso como curativos para queimaduras, úlceras de perna ou até mesmo em processos de regeneração de pele, pois traços de hidróxido de sódio podem retardar a cicatrização ou causar reações alérgicas nos pacientes (CERVERA *et al.*, 2004; KWEON *et al.*, 2001; SHU *et al.*, 2001; CANER *et al.*, 1998). Dessa forma esta etapa não foi realizada neste trabalho, pois, além disso, foi constatado que, quanto maior a quantidade de glicerol na composição das membranas, mais facilmente ocorre a saída do ácido acético. Outra importante observação se faz quanto às interações existentes entre a quitosana e o glicerol, que são do tipo ligação de hidrogênio (BROWN *et al.*, 2001). Uma possível explicação para a maior estabilidade das membranas quando da adição de glicerol se faz pela facilidade quanto à retirada do ácido acético residual durante a etapa de secagem dos materiais, não ocorrendo, posteriormente, a dissolução das membranas quando estas são imersas em meios aquosos pela acidificação dos mesmos (BROWN *et al.*, 2001).

Outro motivo de não se ter utilizado a etapa de neutralização é que depois dessa seriam necessárias sucessivas lavagens, a fim de retirar o excesso de NaOH. Essas sucessivas lavagens poderiam comprometer diversas propriedades dos filmes bem como lixiviar parcialmente a prata retida nos filmes.

Agentes reticulantes são moléculas com pelo menos dois grupos funcionais reativos, que permitem a formação de pontes entre as cadeias poliméricas da quitosana (BERGER *et al.*, 2004; BEPPU *et al.*, 2007; MARTINEZ *et al.*, 2007). Muitos artigos relatam o uso de glioxal e glutaraldeído. Entretanto, a principal desvantagem desses reagentes é que são considerados tóxicos. Por exemplo, o glutaraldeído é conhecido por ser neurotóxico e o glioxal é conhecido por ser mutagênico (BERGER *et al.*, 2004; BEPPU *et al.*, 2007; MARTINEZ *et al.*, 2007).

A principal limitação da aplicação de agentes reticulantes químicos é a possível presença de traços de materiais livres, gerados pela não reação com o polímero, acarretando o risco de formação de produtos tóxicos por reação entre o substrato e o agente reticulante, durante o processo de biodegradação *in vivo* (BERGER *et al.*, 2004; FIDÉLES, 2010; WANG *et al.*, 2010a; CAMPOS *et al.*, 2009). Pelos motivos apresentados, os agentes reticulantes não foram utilizados para a síntese dos filmes poliméricos.

Todas as zeólitas caracterizadas anteriormente foram adicionadas nos filmes de quitosana e para efeitos de comparação foram sintetizados alguns filmes adicionais:

- Filme de quitosana pura
- Filme com NaY pura
- Filme com sulfadiazina de prata pura

Os filmes de quitosana com ou sem zeólitas foram caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas, mecânicas e de barreira.

#### **4.2.1 Avaliação macroscópica e avaliação da cor**

Na Figura 42 são mostradas as zeólitas de partida, NaA-B, NaA-O, e NaY e na Figura 43 são apresentadas as zeólitas impregnadas ou trocadas e dos filmes sintetizados, todos fotografados com uma máquina fotográfica digital tomados sobre um fundo branco (folha de papel).

As espessuras dos filmes de quitosana pura obtidos foram de 0,040-0,055 mm e para os filmes com zeólita de 0,055-0,070 mm.



**Figura 43-Zeólitas impregnadas ou trocadas, puras ou em filmes poliméricos.**

Os filmes de quitosana pura (Figura 43a) apresentaram uma coloração levemente amarelada, transparentes, flexíveis e com boa resistência ao manuseio. Macroscopicamente apresentaram superfície uniforme sem a

presença de defeitos tais como pequenos orifícios, fissuras ou macroporos, resultado este também obtido por Estevam *et al.* (2012), Wang *et al.* (2008a), Wang *et al.* (2008b) e Araújo *et al.* (2012). A adição de zeólitas promoveu um aumento na opacidade dos filmes e sua rigidez. Macroscopicamente a zeólita se encontrava bem dispersa nos filmes poliméricos.

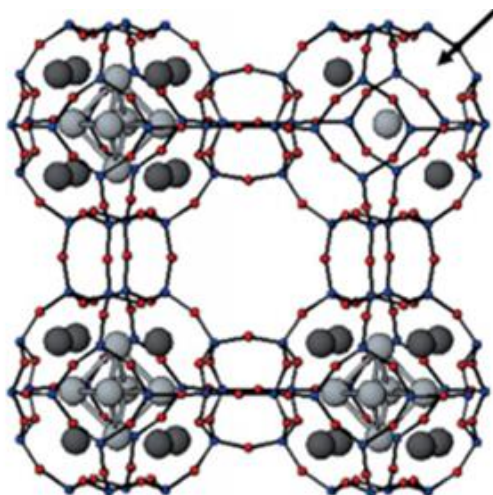
A cor amarelada da maioria dos filmes se deve principalmente à quitosana (Figura 43a) e para os filmes contendo sulfadiazina de prata pura a coloração é mais próxima de cinza (Figura 43b). Pode-se observar que para os filmes com as zeólitas, a cor amarela é intensificada ainda mais quanto maior for a concentração de prata e depende do tipo de processo de incorporação desta na zeólita (impregnação ou troca iônica).

A diferença de cor obtida para os filmes com zeólitas pode ser explicada pela coloração que a zeólita adquiriu depois dos procedimentos de troca iônica ou impregnação.

Quando uma zeólita A ou Y é impregnada com prata, alterações de cor são observadas durante a desidratação destas. As zeólitas A passam da cor branca, na sua forma hidratada, para laranja, totalmente desidratada. A zeólitas Y passam da cor branca para amarelo dourado.

Kim e Seff (1977 *apud* MAYORAL *et al.*, 2013) atribuíram esta mudança de cor à presença de *clusters* de octaedros Ag<sub>6</sub> parcialmente reduzidos na estrutura sodalita (Figura 44). Em contraste, Jacobs *et al.* (1977 *apud* GEILENS *et al.*, 1981) propuseram que a coloração era devida à presença de *clusters* lineares Ag<sub>3</sub> (caixa superior direita na Figura 44). A Figura 44 mostra o modelo proposto para a AgA desidratada, onde os átomos vermelhos correspondem ao oxigênio, os átomos em azul são de silício ou alumínio. Os átomos em cinza são Ag (Figura 44).

Deve-se ressaltar que *Clusters* de prata podem também ser formados no interior de zeólitas do tipo faujasita quando ocorre redução em 400 a 600°C.



**Figura 44**-Representação esquemática dos *clusters* Ag<sub>6</sub> em zeólita A.  
FONTE: MAYORAL *et al.*, 2011.

Independente das duas teorias apresentadas, a intensificação da cor amarela aumenta com o número de *clusters* formados para a zeólita Y (GEILENS *et al.*, 1981). Como neste trabalho a zeólita NaY foi impregnada com 5 e 10% de prata em uma temperatura de calcinação acima de 400°C, 5AgY-I e 10Ag-I, respectivamente (Figuras 43m e 43o), houve a formação de *cluster* o que conferiu às zeólitas forte coloração amarelo-dourada e assim aumento do parâmetro croma  $b^*$  (Tabela 12).

Na zeólita 5AgY-TI preparada pelo processo de troca iônica, como não houve a etapa de calcinação, não se observou a formação de *cluster*, permanecendo assim na coloração branca como a zeólita de partida NaY. Para as demais zeólitas submetidas ao processo de troca iônica, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O, também não houve mudança em sua coloração, permanecendo da cor de suas zeólitas de partida (Figuras 43b e 43c). Assim, todas as zeólitas submetidas ao procedimento de troca iônica apresentaram parâmetro croma  $b^*$  menor do que o obtido pelo filme de quitosana puro e os menores valores de diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) ficando apenas atrás do filme com NaY pura e 5SDPY-I.

Cabe ressaltar que o valor obtido do parâmetro croma  $b^*$  para o filme com 5SDPY-I é porque esta zeólita, mesmo modificada pelo procedimento de impregnação, não foi calcinada devido à baixa temperatura de decomposição da sulfadiazina de prata, resultando em não formação de *cluster* e não obtenção de forte cor amarelada.

Os filmes poliméricos sintetizados com zeólita 5AgY-I e 10AgY-I mesmo apresentando uma coloração amarelo escuro não apresentam uma coloração que ocasionaria um problema sob o ponto de vista de aceitação pelo paciente.

**Tabela 12-**Parâmetros croma e diferença total de cor dos filmes de quitosana com zeólita ou sulfadiazina de prata em relação ao filme somente com quitosana

Filmes de quitosana com:	Parâmetros de Croma			Diferença total de Cor ( $\Delta E^*$ )
	L*	a*	b*	
Quitosana Pura	92,5±0,23	-1,75±1,94	12,53±0,87	-
5AgY-TI	92,79±0,02	0,74±0,02	2,06±0,375	11,41
5AgA-TI-B	90,74±0,02	1,18±0,08	3,74±0,25	10,09
5AgA-TI-O	88,48±0,12	1,72±0,235	6,60±0,02	8,59
5AgY-I	83,07±0,91	2,08±4,12	35,88±0,51	25,94
10AgY-I	84,51±0,99	2,69±4,17	38,02±0,39	27,53
SDP Pura	90,95±0,09	0,82±0,04	-0,46±0,59	13,95
5SDPY-I	90,65±0,02	1,19±0,13	7,07±0,06	7,16
NaY pura	91,89±0,02	-0,02±0,13	6,03±0,06	7,39

#### 4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

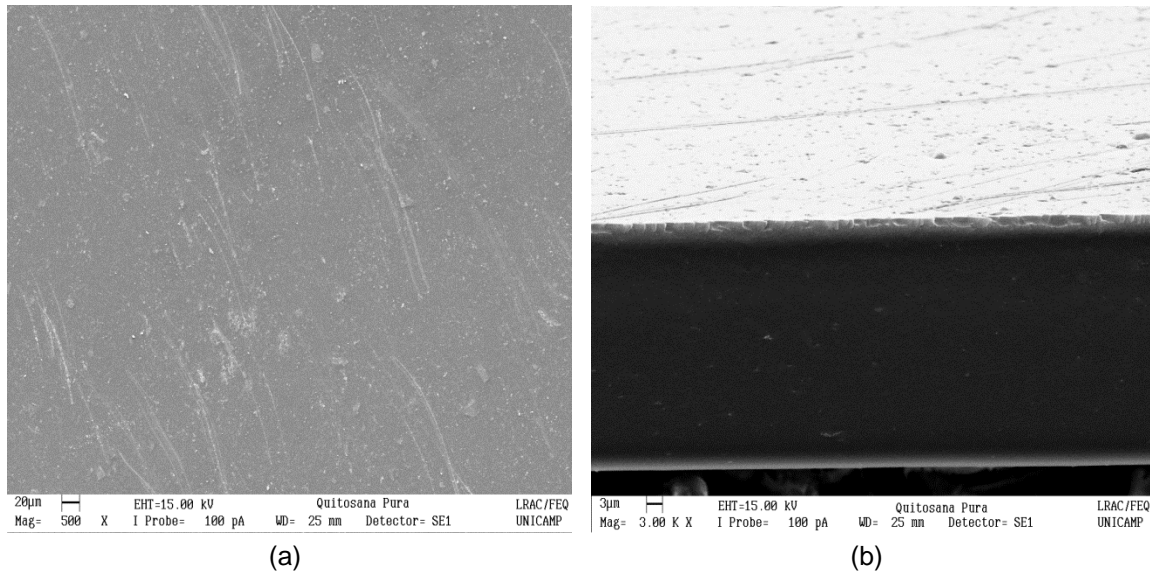
As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície dos filmes poliméricos com aumento de 500 vezes e da seção transversal das mesmas com um aumento de 3000 vezes são apresentadas nas Figuras 45-48.

Observa-se pela Figura 45 que o filme de quitosana pura apresentou-se como uma matriz compacta, sem defeitos apreciáveis e ausência de macroporos, resultados estes também condizentes com os obtidos por Estevam *et al.* (2012), Wang *et al.* (2008a), Wang *et al.* (2008b) e Araújo *et al.* (2012).

Os dois lados dos filmes poliméricos apresentaram-se com superfícies distintas. A superfície inferior (contato com a placa durante a secagem do filme) foi expressamente mais rugosa quando comparada com a superfície exposta. Assim, as micrografias tanto superficiais como as da seção transversal foram propositalmente realizadas na superfície rugosa de cada amostra.

Nos filmes com zeólitas foi observado que em todas as amostras houve alguma aglomeração das partículas de zeólita, indicando que os diâmetros das partículas eram demasiadamente grandes, havendo sedimentação das mesmas. Assim, ocorreu a separação de fases da zeólita e da quitosana, formando um filme compósito que se constituiu de duas camadas, uma

orgânica de quitosana e uma inorgânica de zeólita. Wang *et al.* (2008b) também incorporou zeólita beta em filmes de quitosana e verificou que para partículas com diâmetro entre 3 e 5  $\mu\text{m}$  pode haver a sedimentação da zeólita, o que influencia diretamente nas propriedades de barreira e superficiais dos filmes poliméricos.



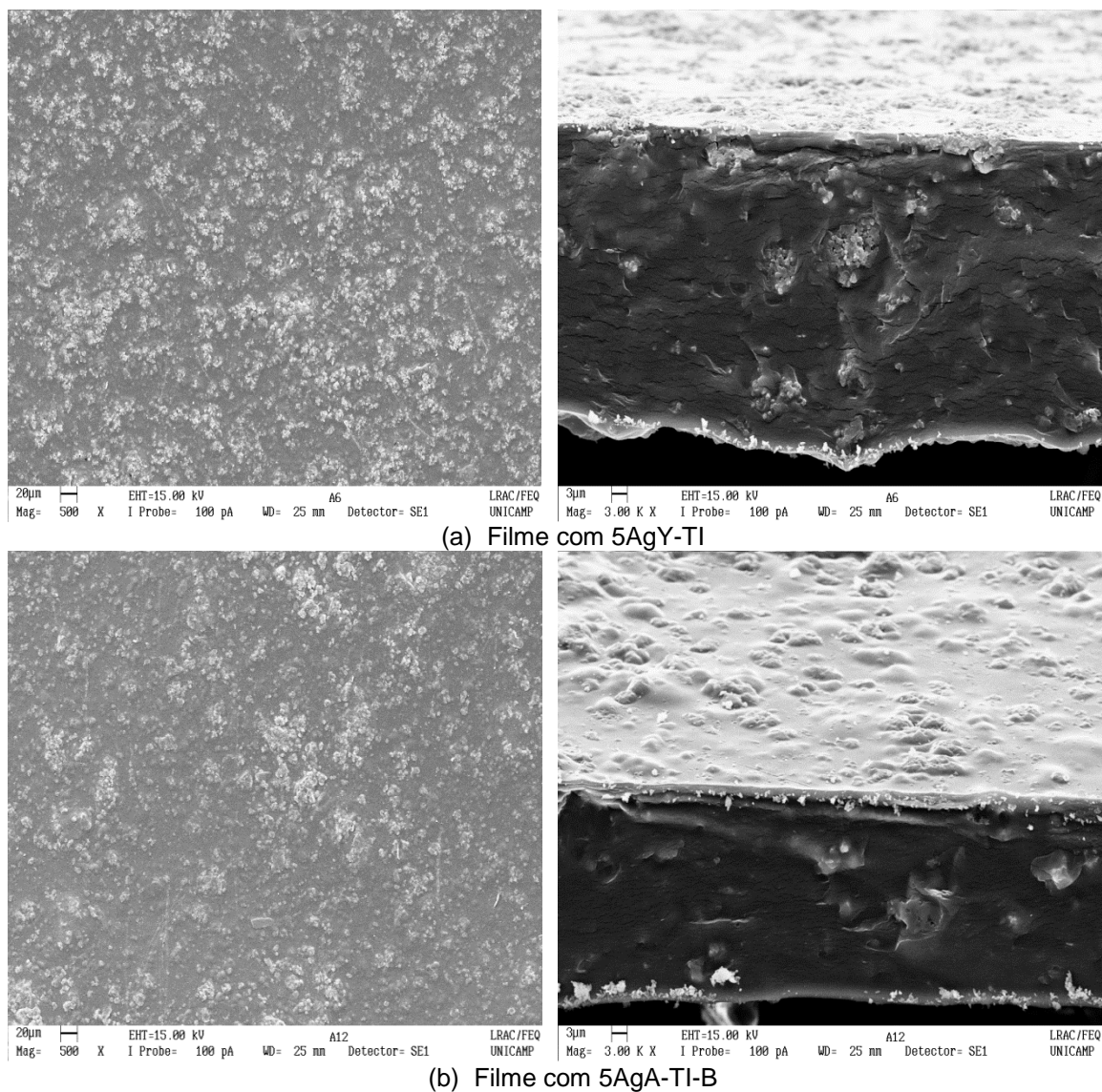
**Figura 45**-Micrografias do Filme de quitosana pura (a) superfície e (b) seção transversal.

Santos *et al.* (2012a) através de micrografias do corte transversal de filmes de quitosana contendo zeólitas ZSM-5 verificaram que cristais de zeólita se encontraram dispersos na matriz polimérica, podendo-se associar à formação de um nanocompósito. A boa eficiência encontrada por estes autores se deve ao fato da zeólita ser adicionada à solução de quitosana e agitada utilizando um ultra-homogeneizador (Ultra-Turrax) por 10 min a 24.000 rpm. Cabe ressaltar que nesta agitação vigorosa há redução granulométrica das partículas de zeólita, sem a formação de vórtice, o que ocasiona uma solução filmogênica com poucas bolhas. Neste trabalho, a agitação foi realizada em agitador mecânico simples a 2.000 rpm e, devido às limitações do equipamento, posteriormente desaerada. Macroscopicamente verificava-se que a homogeneização era eficiente, porém, como as partículas de zeólita eram ainda mais densas do que a solução de quitosana, durante a secagem do filme em estufa ocorria a sedimentação parcial da zeólita.

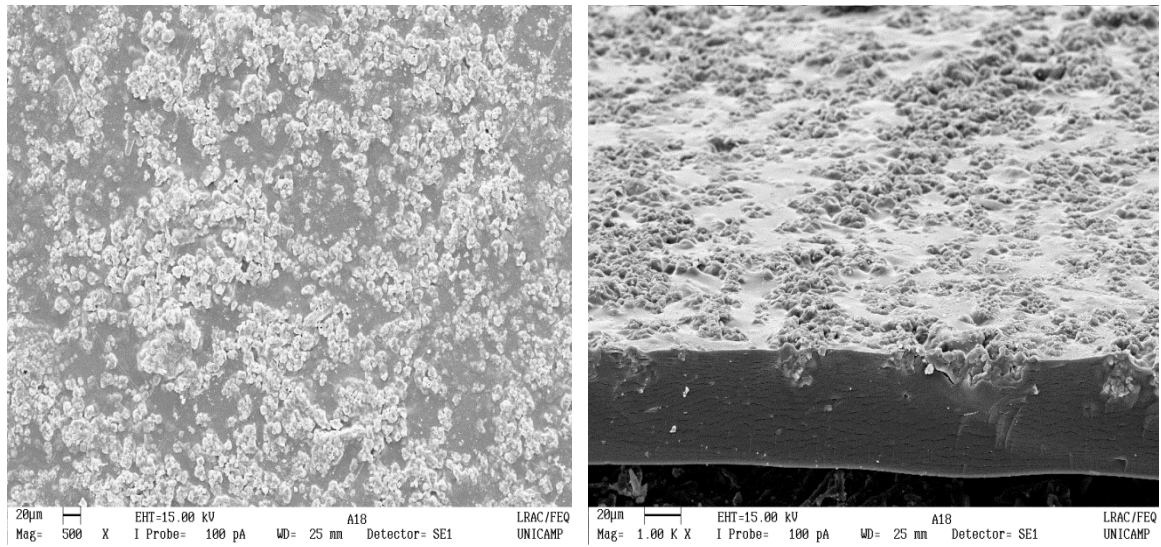
Tentou-se cominuir as partículas de zeólita com o auxílio de um moinho de bolas, porém houve a desestruturação ou colapso da estrutura zeolítica, o



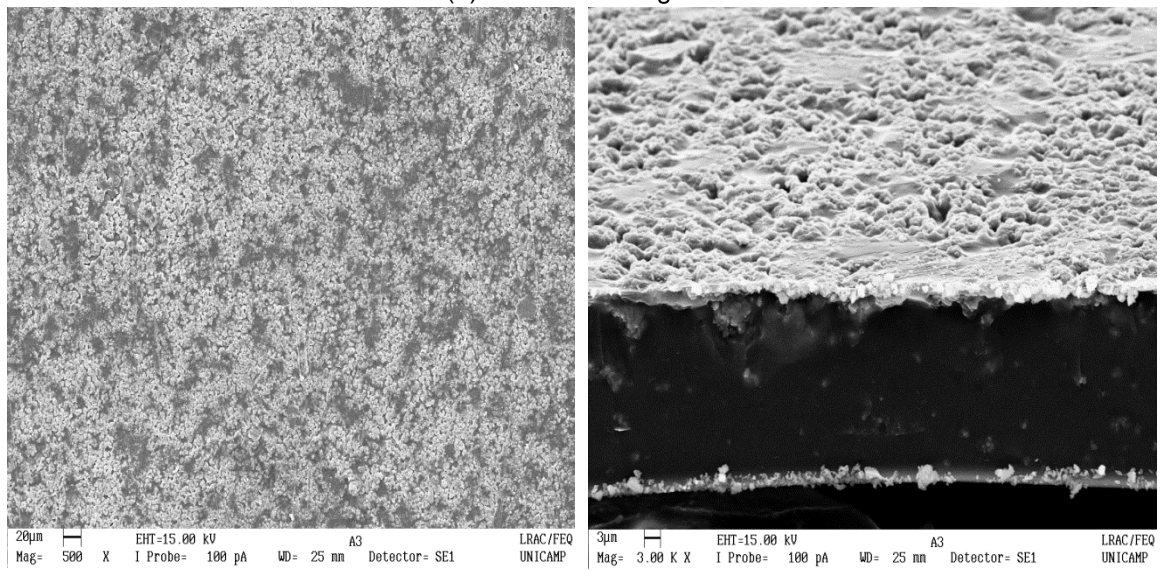
que pôde ser confirmado pela análise de DRX (dados não apresentados). Assim, resolveu-se incorporar as partículas de zeólita mesmo em uma granulometria um pouco elevada, porém, com a certeza de que a zeólita estava perfeitamente estruturada.



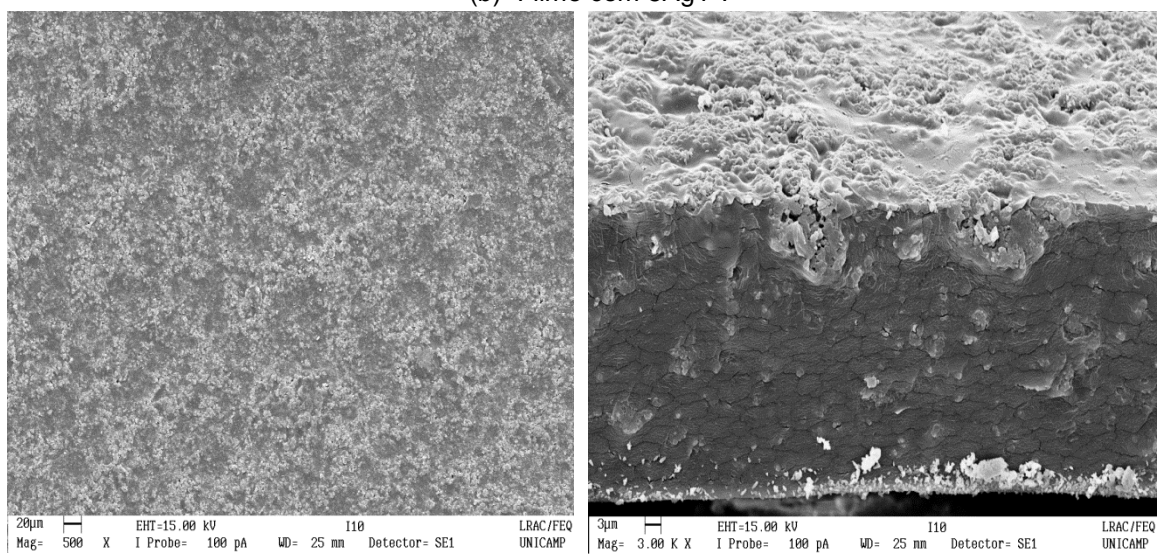
**Figura 46-** Micrografias superficiais e corte transversal das amostras 5AgY-TI e 5AgA-TI-B.



(a) Filme com 5Ag-Ti-O



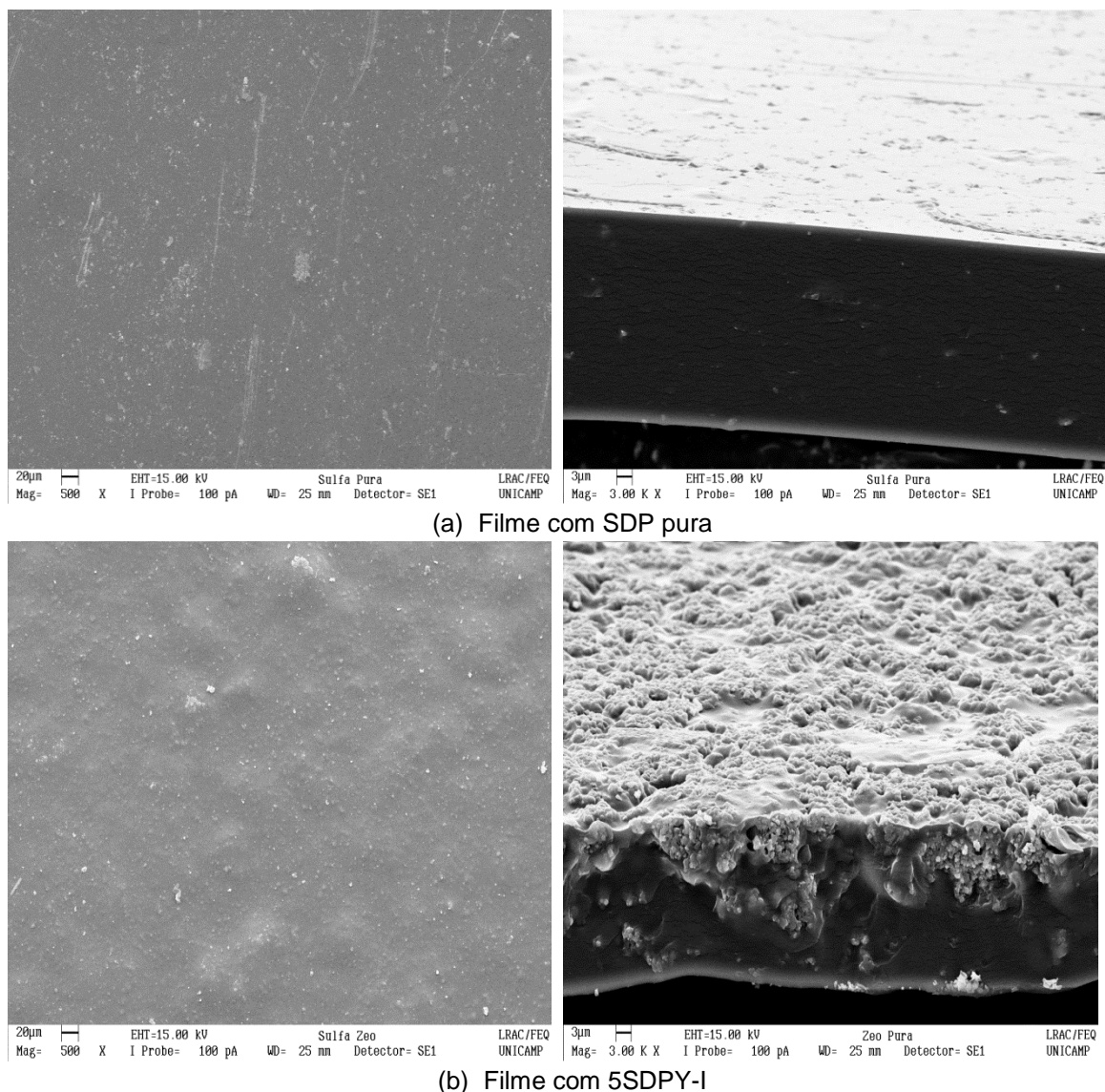
(b) Filme com 5Ag-Y-I



(c) Filme com 10Ag-Y-I

**Figura 47-**Micrografias superficiais e corte transversal das amostras 5Ag-Ti-O, 5Ag-Y-I e 10Ag-Y-I.

A quantidade de sulfadiazina de prata adicionada ao filme polimérico foi calculada em relação à quantidade de sulfadiazina de prata presente na amostra 5SDPY-I. Os dois filmes apresentavam a mesma quantidade de sulfadiazina de prata, sendo a diferença apenas que em uma delas a zeólita está presente.



**Figura 48-**Micrografias dos filmes com sulfadiazina de prata pura e 5SDPY-I.

Observa-se na Figura 48a que para os filmes apenas com sulfadiazina de prata, pela quantidade ser muito pequena, não houve formação de defeitos ou aglomerados de sulfadiazina de prata, assemelhando-se aos filmes de quitosana pura. Para os filmes com 5SDPY-I (Figura 48b), assim como para os

demais filmes com zeólita, houve a formação de grandes aglomerados de zeólita observados nas micrografias transversais dos filmes.

Praticamente todas as micrografias dos filmes com zeólitas incorporadas apresentaram fissuras que podem ser atribuídas à possível mudança física, ou possível interação física entre as partículas de zeólita e as cadeias poliméricas detectada nos difratogramas de DRX que serão mostrados posteriormente (seção 4.2.5).

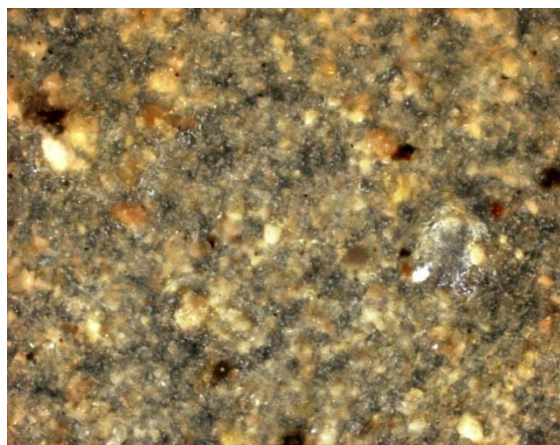
Pelas análises de microscopia eletrônica de varredura, verificou-se que pela sedimentação das zeólitas, apenas um lado dos filmes apresentou uma quantidade apreciável de zeólita. Assim, para verificar a dispersão da zeólita sobre este lado de maior concentração e para avaliar a eficiência da etapa de desaeração, foi realizada microscopia óptica dos filmes poliméricos que são apresentados na seção a seguir.

### **4.2.3 Microscopia óptica**

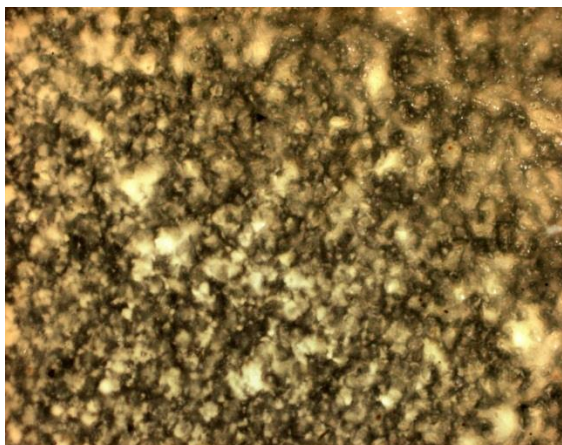
Análises de microscopia óptica foram realizadas sobre a superfície mais rugosa dos filmes (Figura 49 e 50) com aumento de 100 vezes.

Nas Figuras 49 e 50 observa-se uma região de contraste, indicando alguma heterogeneidade na superfície. A interpretação deste contraste é dúbia podendo indicar bolhas de ar na superfície dos filmes ou podendo indicar regiões apenas de quitosana (parte clara, já que esta é translúcida) e zeólita, na parte opaca (parte escura).

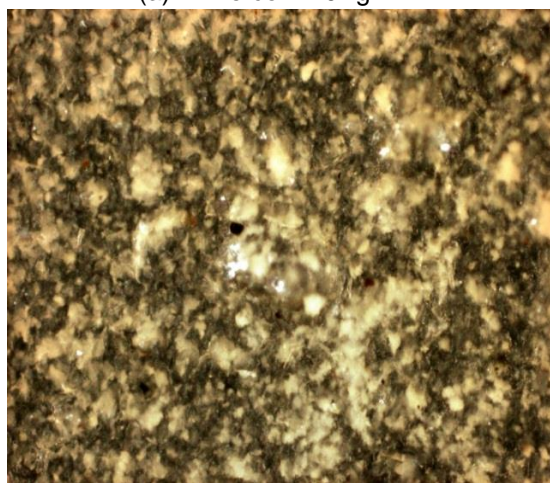
Se for interpretada como bolhas de ar, apesar do processo de obtenção das membranas incluir a etapa de desaeração, observa-se que a zeólita parece dificultar a saída das bolhas de ar, já que nos filmes sem zeólita, filmes de quitosana pura e filmes com sulfadiazina de prata pura, não se verificou a presença de tais imperfeições.



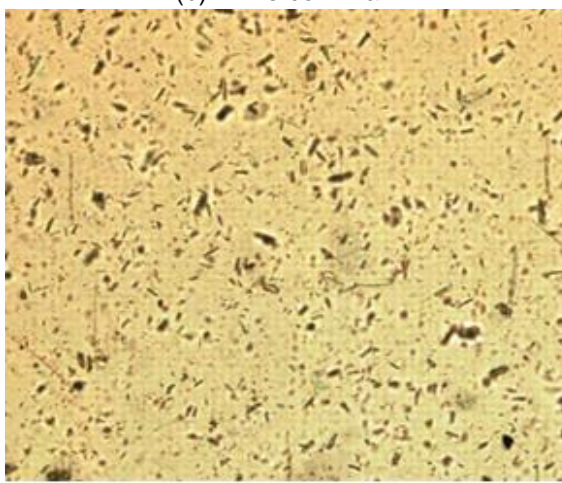
(a) Filme com 10AgY-Tl



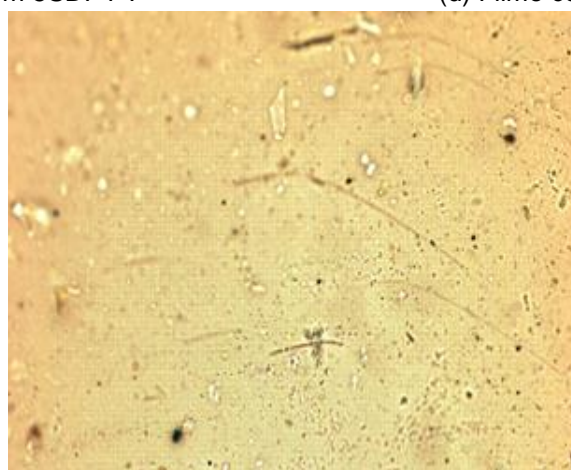
(b) Filme com NaY



(c) Filme com 5SDPY-I



(d) Filme com SDP pura



(e) Filme de quitosana pura

**Figura 49**-Microscopia ótica dos filmes com 5SDPY-I, SDP pura e quitosana pura.

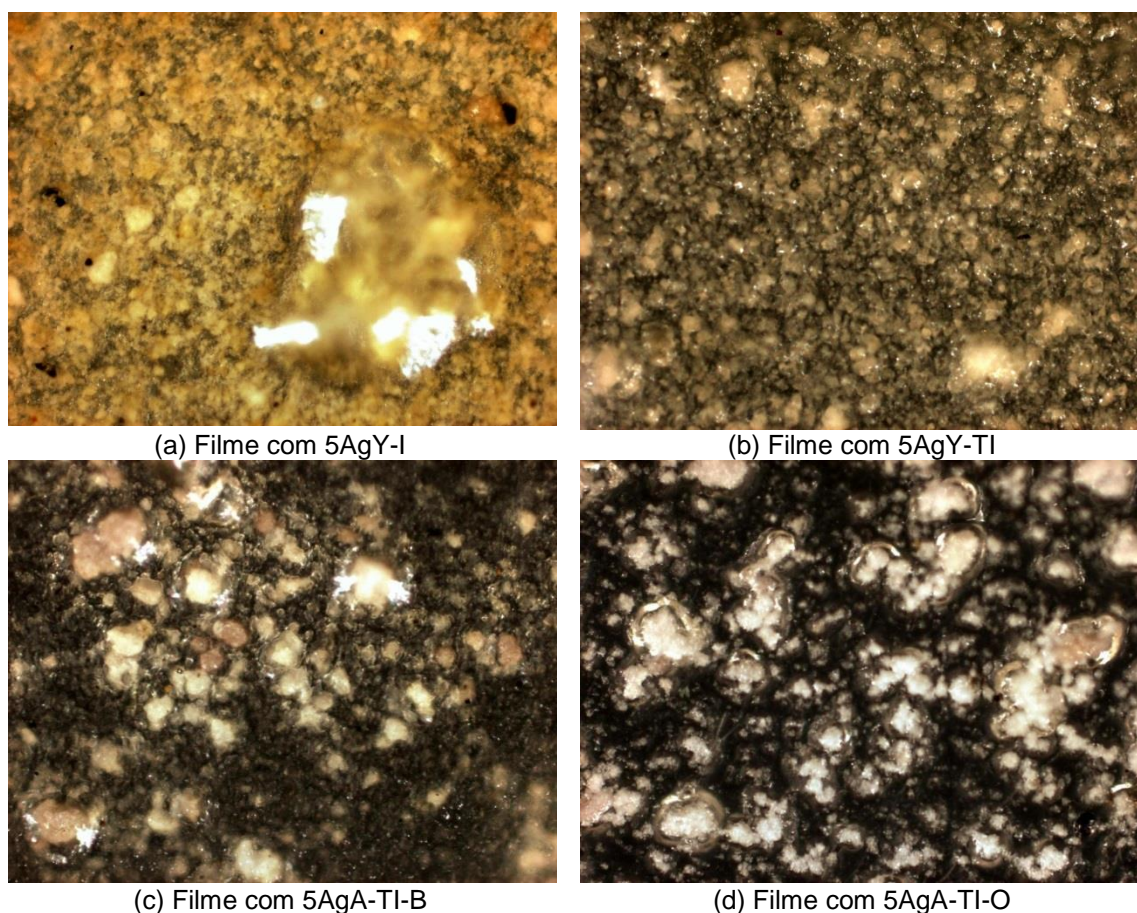


Figura 50-Microscopia ótica dos filmes com 5AgY-I, 5AgY-TI, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O.

#### 4.2.4 Análise textural

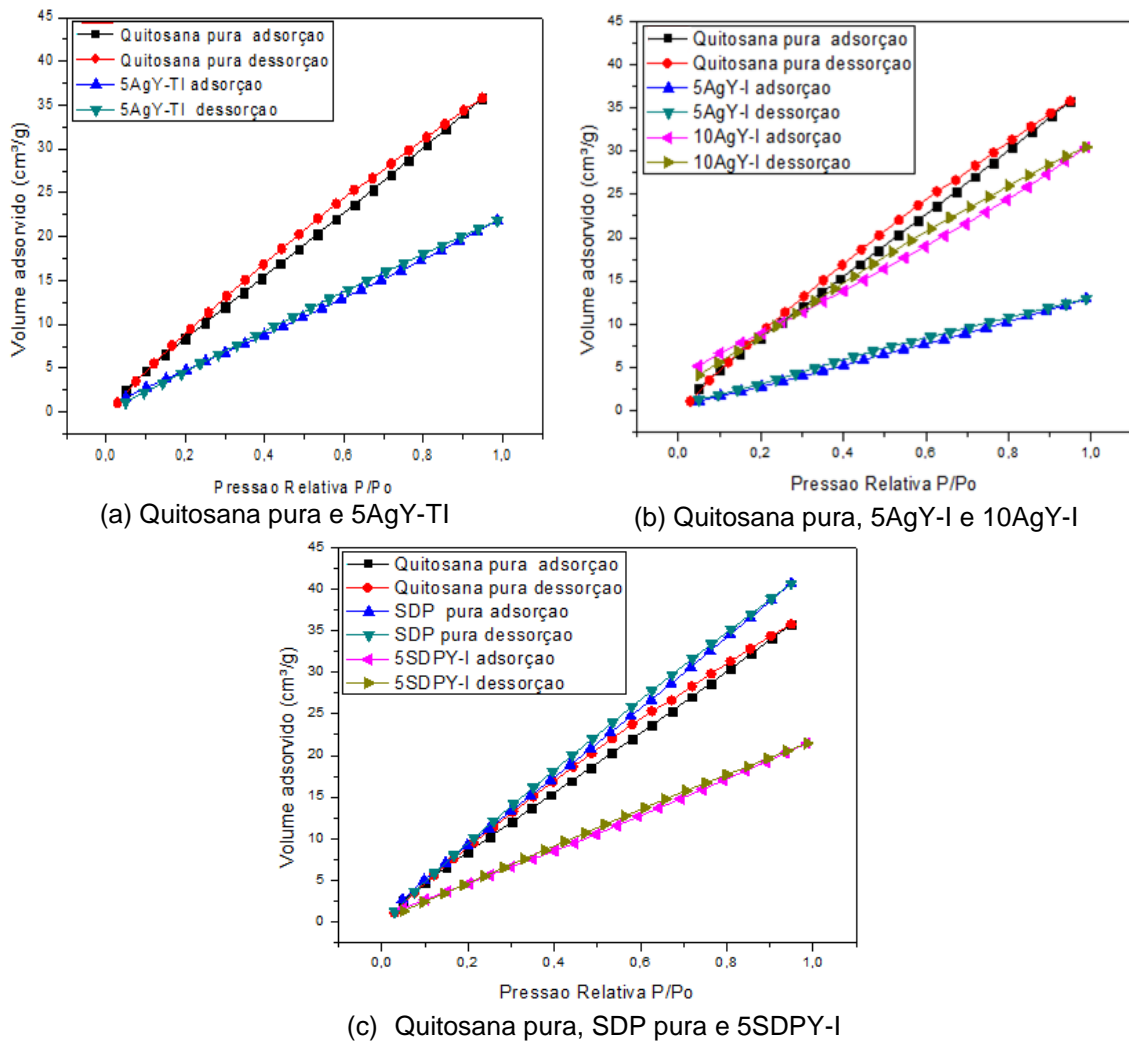
Os resultados obtidos pela análise textural dos filmes são apresentados na Tabela 13 e as isotermas de adsorção/dessorção são dadas pelas Figuras 51 e 52.

Tabela 13-Análise textural dos filmes poliméricos.

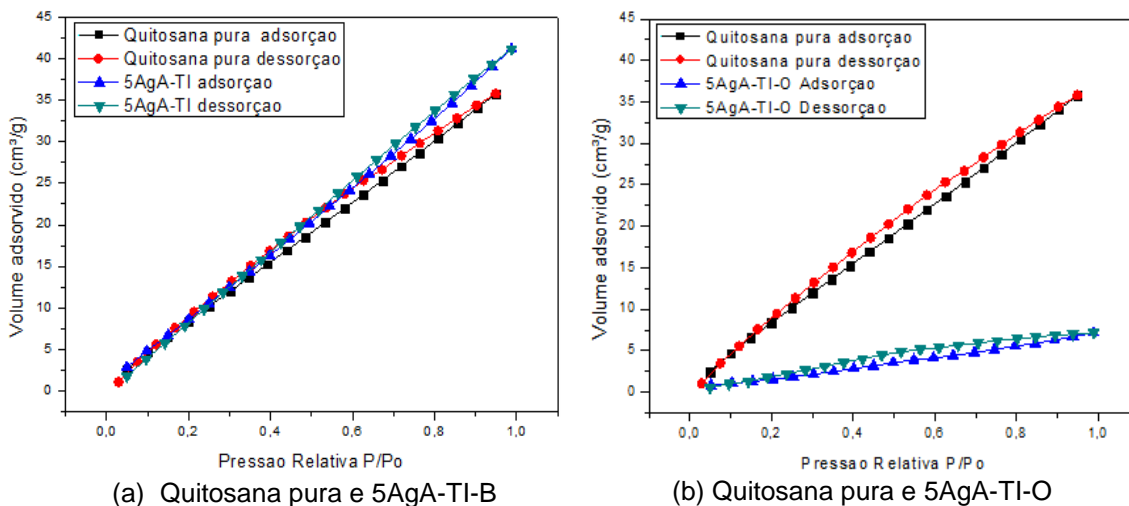
Amostra de filmes poliméricos	Área específica (BET) (m <sup>2</sup> /g)	Constante C <sub>BET</sub>	Volume total de poros (cm <sup>3</sup> /g)	Diâmetro médio do poro (Å)
Quitosana Pura	55,4	4,44	0,05	20,00
NaY	68,8	0,76	0,05	20,97
5AgY-TI	36,6	4,37	0,03	19,58
5AgY-I	16,9	5,47	0,02	23,60
10AgY-I	69,9	4,83	0,08	20,23
5SDPY-I	28,6	5,20	0,01	23,00
SDP pura	53,2	4,12	0,05	19,92
5AgA-TI-B	6,1	13,20	0,01	33,26
5AgA-TI-O	1,7	20,28	0,01	39,65

A área específica obtida para o filme de quitosana foi de 55 m<sup>2</sup>/g estando muito próximo ao obtido por Santos *et al.* (2012a). A adição de sulfadiazina de prata pura no filme não acarretou diferenças significativas nas propriedades texturais do filme de quitosana, apresentado quase o mesmo valor que o filme de quitosana pura.

Observa-se que a adição de zeólitas não elevou consideravelmente o valor da área superficial nem tão pouco o volume de microporos para os filmes com zeólita NaY (volume de microporos igual a zero para todas as amostras). Observa-se que para alguns filmes com zeólitas, o valor da área específica obtida foi menor do que para o filme de quitosana pura. A cadeias de quitosana parecem estar bloqueando os poros das zeólitas, conclusão também obtida por Wang *et al.* (2008a).



**Figura 51**-Isotermas de adsorção de N<sub>2</sub> dos filmes de quitosana pura e filmes com zeólita Y trocada ou impregnada.



(a) Quitosana pura e 5AgA-TI-B (b) Quitosana pura e 5AgA-TI-O  
**Figura 52**-Isotermas de adsorção de N<sub>2</sub> dos filmes de quitosana pura e filmes com zeólita A impregnada com prata.

As isotermas de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub> de todos os filmes poliméricos apresentam sempre a mesma tendência ascendente. As isotermas estão em concordância com o exposto pela Tabela 13 na qual não se verifica a presença de microporos. Observa-se para todas as amostras a presença de histerese que pode ser devida à mesoporosidade presente no filme puro, que se mantém após a incorporação da zeólita.

#### 4.2.5 Difração de raios X (DRX)

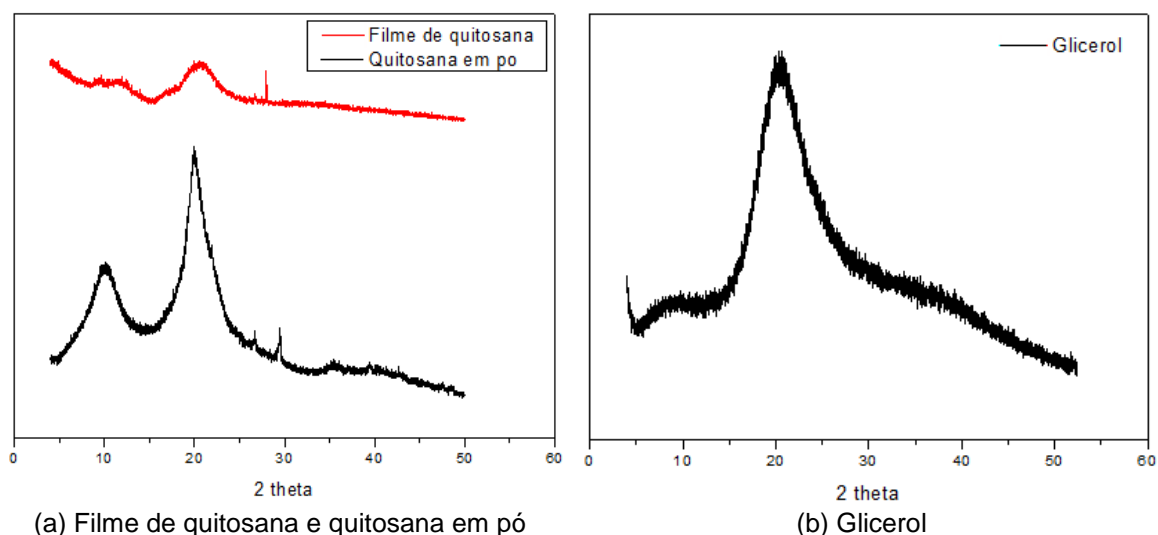
Ensaio de difração de raios X foram realizados para obtenção de informações sobre as estruturas da quitosana em pó, glicerol, do filme de quitosana pura e dos filmes poliméricos com a incorporação de materiais zeolíticos. Os difratogramas obtidos podem ser visualizados nas Figuras 53-55. O Anexo A apresenta tabelas com a correspondência entre  $2\theta$  identificados, distâncias interplanares e intensidades relativas dos filmes sintetizados neste trabalho.

Segundo Wani *et al.* (2010), em uma amostra de quitosana em pó podem ser identificadas três formas estruturais da quitosana, sendo estas: cristal hidratado, cristal anidro e não cristal ou amorfo. O cristal hidratado apresenta uma forte difração em  $2\theta$  igual a  $10^\circ$  e outros picos menos acentuados em  $20^\circ$  e  $22^\circ$ . O cristal anidro exibe um pico forte em  $2\theta$  igual a  $15^\circ$  e um pico suplementar a  $20^\circ$ . Na fase amorfa não se observa nenhum pico, mas esta exibe um amplo halo em  $2\theta$  igual a  $20^\circ$ . Na quitosana utilizada neste



trabalho (Figura 53a), observa-se a presença de cristais hidratados, anidro e uma forte presença de fase amorfa, característica de polímeros semicristalinos (KURITA, 2001; SENEL e MCCLURE, 2004; XU *et al.*, 2005; BEPPU *et al.*, 2007). Picos em  $2\theta$  igual a  $26,83$  e  $29,45^\circ$  obtidos também são picos característicos da quitosana em pó relatados na literatura por Wang *et al.* (2008b).

O perfil semicristalino da quitosana em pó é devido às fortes interações intra e intermoleculares, caracterizadas pelas pontes de hidrogênio formadas entre os grupos amina, álcool, amida e outros grupos funcionais presentes na molécula de quitosana, fornecendo certa organização à estrutura cristalina da quitosana (URAGAMI e TOKURA, 2006, *apud* FIDÉLES, 2010).



**Figura 53**-Difratograma de DRX de (a) quitosana em pó e filme e (b) glicerol puro.

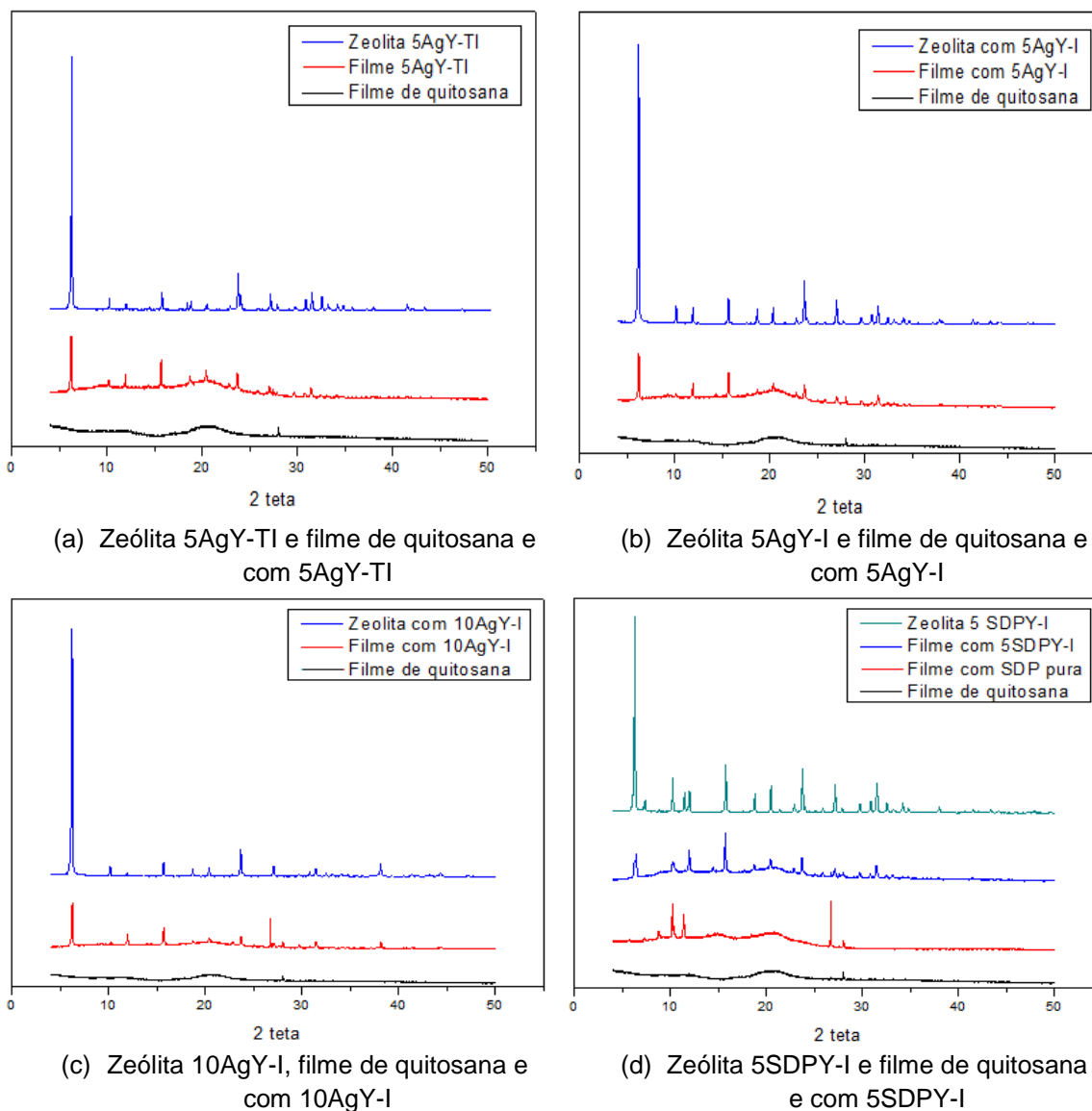
Ainda na Figura 53a, observa-se que a dissolução da quitosana para a formação dos filmes poliméricos resulta na redução do pico  $2\theta$  igual a  $20^\circ$ , fato este comprovado por Wani *et al.* (2010) e Tsai e Wang (2008).

A Figura 53b mostra o difratograma de DRX do glicerol, apresentado por ter sido utilizado como plastificante para a confecção de todos os filmes sintetizados neste trabalho. O mesmo age através da redução das forças intermoleculares, suavizando a rigidez da estrutura do filme e aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas (DALLAN, 2005).

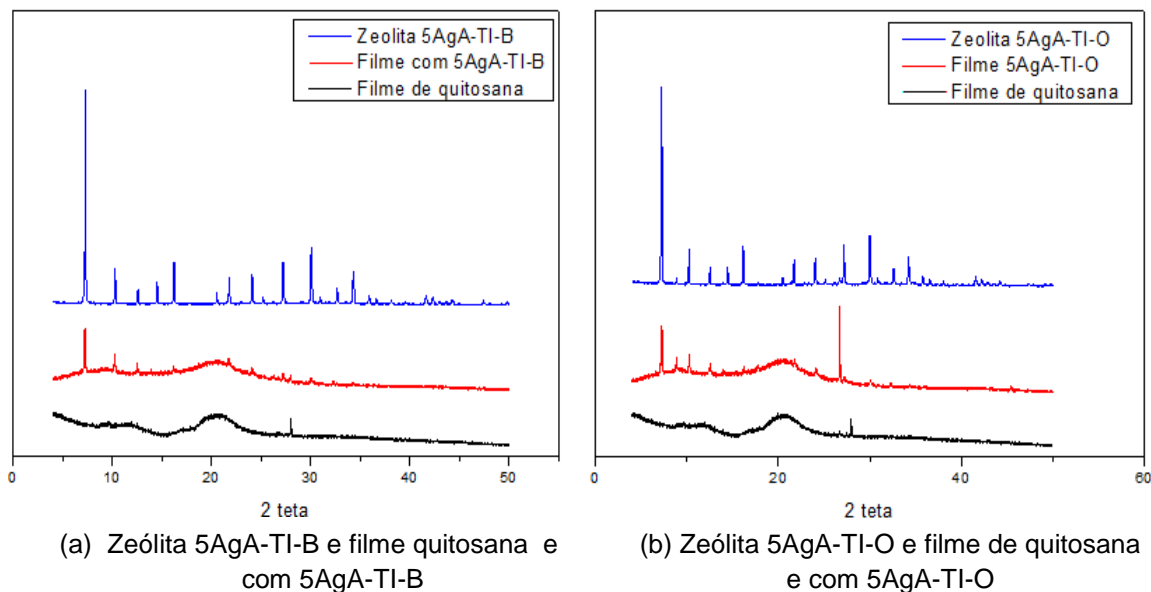
O glicerol apresenta uma estrutura amorfa (Figura 53b) e sua presença nas membranas promove modificações na estrutura polimérica, uma vez que o

mesmo se aloja entre as cadeias da quitosana, o que conseqüentemente enfraquece as ligações intermoleculares do polímero, dificultando o empacotamento das cadeias moleculares, que no caso, se reflete na redução da cristalinidade do produto final (CERVERA *et al.*, 2004).

As Figuras 54 e 55 ilustram a comparação entre os filmes de quitosana pura, filmes de quitosana com zeólita incorporada e a zeólita.



**Figura 54**-Difratograma do filme de quitosana pura e com zeólita Y trocada ou impregnada com prata.



**Figura 55**-Difratograma do filme de quitosana pura e com zeólita A trocada com prata.

Observa-se que a incorporação de material zeolítico na matriz polimérica dos filmes promove o aparecimento de picos característicos das zeólitas nos difratogramas dos filmes sintetizados.

A adição de partículas de zeólita interfere no empacotamento ordenado das cadeias de quitosana tanto por efeitos estéricos como também pela formação de ligações de hidrogênio entre os grupos  $-OH$  superficiais das zeólitas e grupos  $-NH_2$  e  $-OH$  da quitosana. Assim, para todas as amostras ocorre uma diminuição da cristalinidade da quitosana e o aparecimento de picos característicos de zeólita (YUANA *et al.*, 2007; VICENTINI *et al.*, 2010 e WANG *et al.*, 2010a).

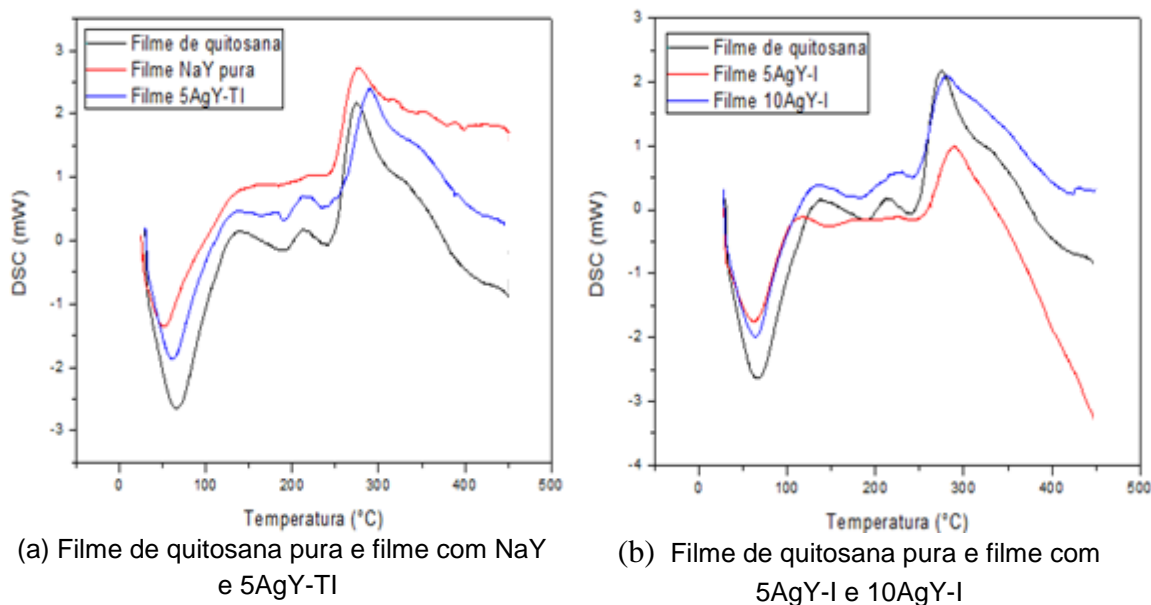
A adição de zeólitas também pode restringir a mobilidade da cadeia de quitosana o que pode afetar diretamente as propriedades de barreira dos filmes (WANG *et al.*, 2008a). Com o aumento da quantidade de zeólita no filme, vários autores observaram aumento dos picos característicos zeolíticos (WANG *et al.*, 2008a; WANG *et al.*, 2008b; YU *et al.*, 2013). Quando a quantidade adicionada for muito pequena, não se verifica picos das zeólitas puras, apenas sendo verificado um leve afinamento no halo em  $2\theta$  igual a  $20^\circ$  (VICENTINI *et al.*, 2010).

#### 4.2.6 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

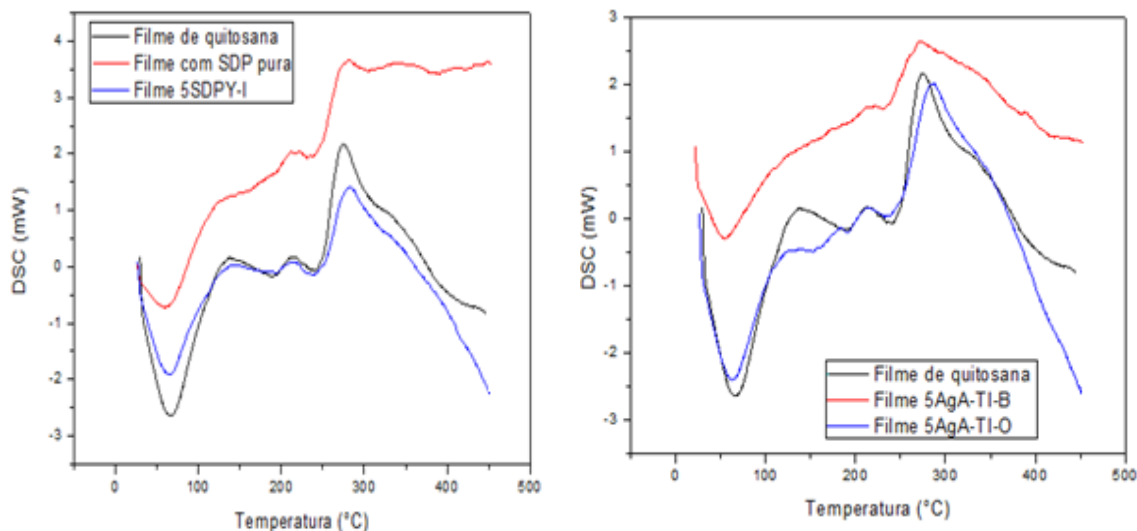
As curvas de aquecimento dos filmes mostraram a presença de dois picos principais tanto para os filmes puros quanto para os filmes contendo zeólitas (Figuras 56 e 57). As temperaturas correspondentes a estes picos, bem como as entalpias relacionadas aos picos estão apresentadas na Tabela 14.

A presença destes dois picos em filmes poliméricos de quitosana é observada por muitos autores (OSTROWSKA-CZUBENKO e GIERSZEWSKA-DRUŻYŃSKA, 2009; MUKOMA *et al.*, 2004; HUANG-SHIAN e YEN-ZEN, 2008). Segundo eles, o primeiro pico observado entre 55 e 200°C ( $T_1$ ), o pico endotérmico, pode ser atribuído à evaporação da água ligada à cadeia de quitosana através de diferentes ligações físicas (ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas). O segundo pico ( $T_2$ ), o pico exotérmico, observado em temperatura acima de 200°C, é resultado da degradação da quitosana.

Esperava-se que a incorporação de zeólitas hidrofílicas deslocasse o pico endotérmico para temperaturas mais elevadas, pois poderia haver interação entre o grupo hidroxila das zeólitas com as moléculas de água aumentando a dificuldade de remoção e eliminação destas. Porém, a pequena quantidade de zeólita adicionada aos filmes pode não ter sido suficiente a ponto de alterar a hidrofilicidade destes.



**Figura 56**—Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para filmes de quitosana pura e filmes com zeólita Y trocada ou impreganda com prata.



(a) Filme de quitosana pura e filme com SDP pura e 5SDPY-I

(b) Filme de quitosana pura e filme com zeólitas A

**Figura 57**-Curva de aquecimento de calorimetria diferencial de varredura para filmes de quitosana pura e filmes com SDP pura, 5SDPY-I, 5AgA-TI-O e 5AgA-TI-B.

Assim como não foram observados picos de decomposição da prata nas amostras zeolíticas, apresentadas na seção 4.1.6, quando estas foram adicionadas aos filmes poliméricos, a decomposição de prata não foi detectada.

Para o filme com 5SDPY-I e para o filme de sulfadiazina de prata pura (Figura 57a) os picos endotérmicos da fusão da sulfadiazina, que normalmente ocorrem em torno de 285°C (apresentado na seção 4.1.6), parecem ter sido somados ao calor de decomposição da quitosana promovendo um aumento na entalpia ( $\Delta H_2$ ), conforme pode ser visto na Tabela 14.

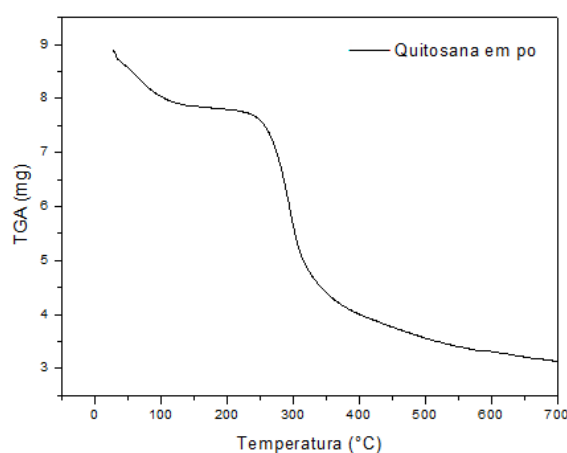
Mesmo que as duas amostras 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O sejam sintetizadas a partir do suporte zeolítico A, os picos endotérmicos e exotérmicos apresentaram-se bem distintos, principalmente para a entalpia de decomposição. O maior valor da entalpia de decomposição para o filme com 5AgA-TI-B, pode ser devido ao fato de que nesta amostra há adicionalmente a decomposição dos ligantes ou aglutinantes, já que a zeólita NaA-B foi adquirida comercialmente na forma de grãos com diâmetro de 0,045 mm.

**Tabela 14-** Temperaturas e entalpias para os filmes de quitosana com e sem zeólitas pela análise de DSC.

	$T_1(^{\circ}\text{C})$	$T_2(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H_1(\text{J/g})$	$\Delta H_2(\text{J/g})$
Pura	65,63	274,58	352,31	-142,60
5AgY-TI	61,52	288,96	251,77	-161,20
5AgY-I	65,63	274,58	352,31	-142,60
10AgY-I	63,70	280,76	308,63	-102,37
5SDPY-I	65,05	283,04	348,10	-234,73
SDP pura	59,03	281,41	211,74	-200,65
5AgA-TI-B	54,48	271,55	418,92	-211,27
5AgA-TI-O	62,30	287,31	320,27	-156,07

#### 4.2.7 Análise termogravimétrica (ATG)

A estabilidade da quitosana em pó e de todos os filmes sintetizados neste trabalho foi avaliada através da análise termogravimétrica. As Figuras 58-60 apresentam os gráficos obtidos e a Tabela 15 apresenta a perda de massa cumulativa total (%) até 700°C.

**Figura 58-** Curva termogravimétrica para a quitosana em pó.

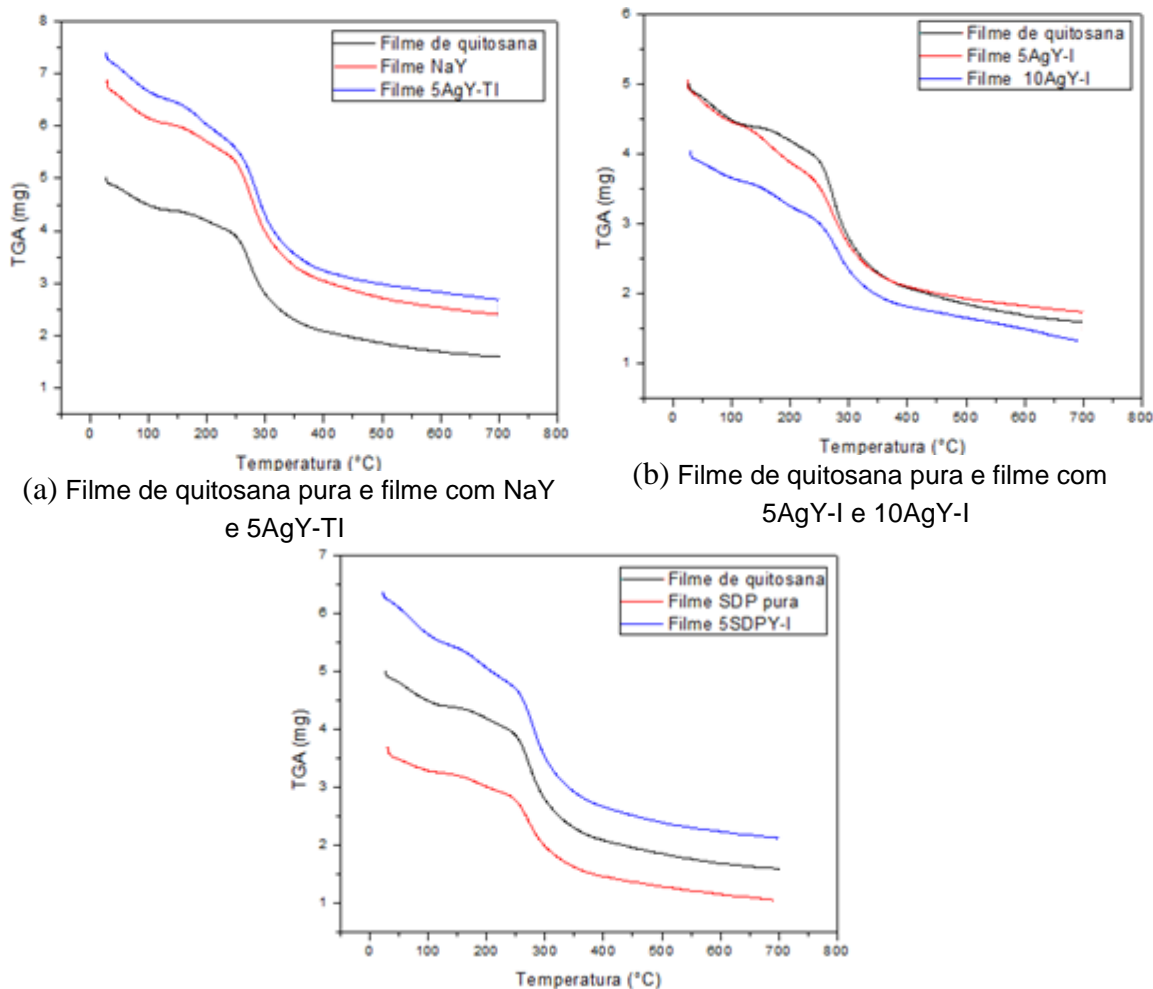
A quitosana apresentou dois patamares de perda de massa. O primeiro é referente à perda de água (11,75%) e o segundo patamar é referente à degradação das cadeias de quitosana (37,78%), que corroboram os resultados de DSC obtidos para a quitosana (seção 4.2.6).

Observa-se que para todos os filmes foram observados três estágios principais de perda de massa, a 30-250°C, 250-400°C e 400-700°C. O primeiro estágio é referente à evaporação de água adsorvida, o segundo estágio é devido à degradação da cadeia principal da quitosana e o último é atribuído à

decomposição de grupos orgânicos residuais (MUKOMA *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2008a; WANG *et al.*, 2010b; TSAI e WANG, 2008).

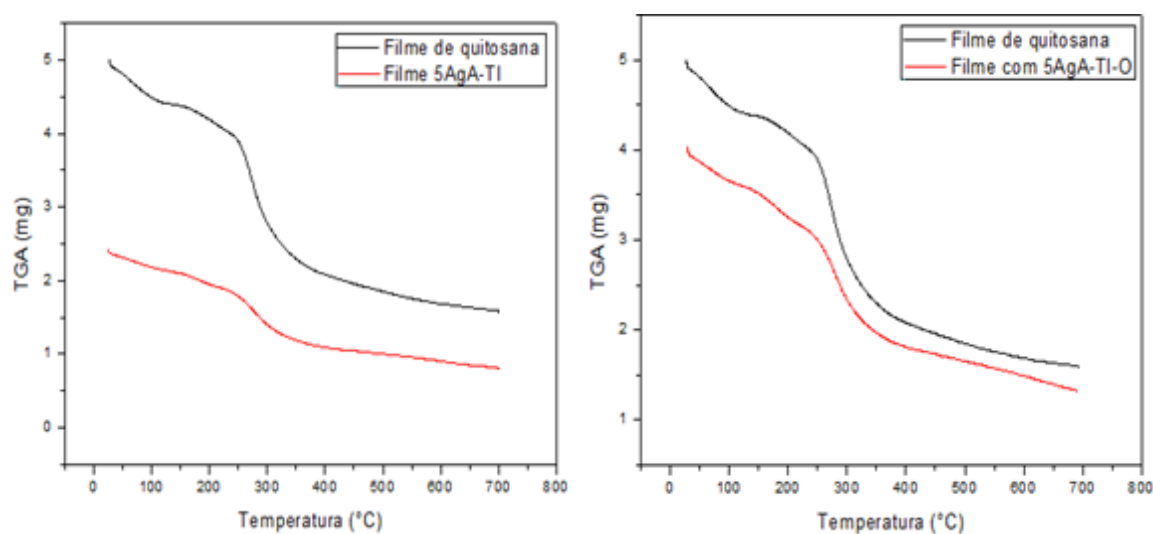
O segundo estágio apresentou a maior perda de massa para todas as amostras. Além da degradação da quitosana, neste estágio também pode estar ocorrendo o início da degradação do glicerol, que segundo Dallan (2005) ocorre na faixa de 180-289°C.

O filme com sulfadiazina de prata pura (Figura 59c) apresentou a maior perda de massa cumulativa. Este fato corrobora o obtido na seção 4.1.7 na qual se observou que a perda de massa total da sulfadiazina de prata é quase 20% maior do que a do nitrato de prata. A presença de sulfadiazina de prata nos filmes poliméricos fornece maior hidrofobicidade, conseqüentemente há maior retenção de água na matriz polimérica, resultando em menor estabilidade térmica do filme.



(c) Filme de quitosana pura e filme com SDP pura e 5SDPY-I  
**Figura 59**-Curva termogravométrica para o filme de quitosana e filme com zeólita Y trocada ou impregnada.

Ao incorporar zeólitas nos filmes poliméricos, as interações de ligação de hidrogênio entre a cadeia da quitosana e as zeólitas aumentaram a rigidez das cadeias de quitosana, o que resultou na redução da sua capacidade de adsorver as moléculas de água e como estas zeólitas são menos hidrofílicas que a quitosana, acabou-se conferindo um caráter levemente mais hidrofóbico, pois a perda de massa cumulativa total foi menor do que para o filme com quitosana pura. Assim, a adição de zeólitas 5AgY-TI, 5AgY-I, NaY, 5AgA-TI-B conferiram uma maior estabilidade térmica aos filmes.



(a) Filme de quitosana pura e filme com 5AgA-TI-B

(b) Filme de quitosana pura e filme com 5AgA-TI-O

**Figura 60**-Curva termogravométrica para o filme de quitosana e filme com zeólita A trocada com prata.

**Tabela 15**-Resultados da análise termogravimétrica para os filmes.

Amostra de filme	Perda de massa cumulativa total (%)
Quitosana Pura	66,29
5AgY-TI	61,92
5AgY-I	62,45
10AgY-I	68,95
NaY	62,78
5SDPY-I	67,90
SDP pura	71,48
5AgA-TI-B	64,26
5AgA-TI-O	66,49



#### 4.2.8 Espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Em um espectro de infravermelho típico de filmes de quitosana verificam-se algumas bandas características (Tabela 16).

**Tabela 16**-Principais bandas dos filmes de quitosana

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3570-3200	Estiramento de O-H e N-H do grupo NH <sub>2</sub>
2955-2845	Estiramento do grupo C-H assimétrico
2878-2874	Estiramento do grupo C-H simétrico
1900-1500	Deformação axial de RHN-C= O
1650	Estiramento C=O do grupo acetil (Amida I)
1550	Flexão das ligações NH- do grupo N-acetil (Amida II)
1420-1400	Estiramento simétrico de grupos C-H e O-H
1380-1312	Deformação angular do C-H de CH <sub>3</sub>
1155	Estiramento assimétrico da ligação C-O-C
1250-1000	Estiramento C-O de alcoóis e fenóis.
900	Presença de - C-H

FONTE: Adaptado de BEPPU *et al.* (1999); FIDÉLES, (2010); WANG *et al.* (2008a); WU *et al.* (2007) e KARAKEÇILI *et al.* (2007).

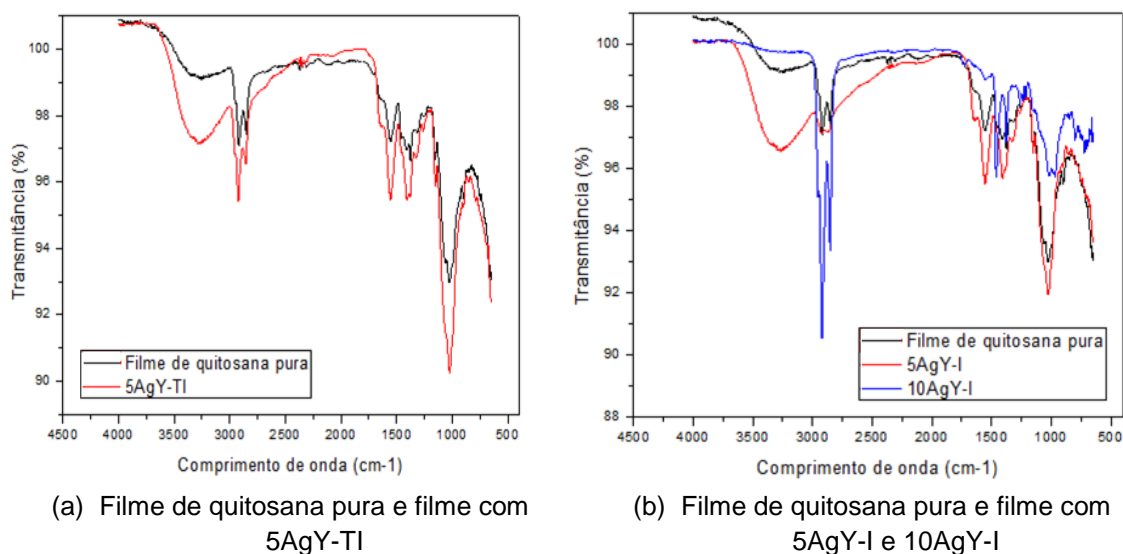
As bandas localizadas em 3570-3200 cm<sup>-1</sup> são atribuídas às vibrações de estiramentos dos grupos funcionais O-H e/ou N-H, assim como ligações de hidrogênio intermoleculares das cadeias do polissacarídeo. Bandas em 2955-2845 cm<sup>-1</sup> (menor intensidade) e 2874-2878 cm<sup>-1</sup> (maior intensidade) são atribuídas às vibrações de estiramento do grupo C-H assimétrico e simétrico, respectivamente, dos grupos metila pertencente aos radicais da quitosana, que não foram desacetilados e os radicais metileno existentes na estrutura da quitosana (WU *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2008a, KARAKEÇILI *et al.*, 2007).

As bandas encontradas na região de 1900-1500 cm<sup>-1</sup> estão relacionadas ao modo de vibração de estiramento da ligação C=O e à deformação da ligação N-H, respectivamente. A existência dessas duas bandas (C=O e N-H) conjuntamente indica a presença de grupos amida I apresentando-se como uma banda média/forte e larga. As bandas localizadas em 1650 e 1550 cm<sup>-1</sup> são atribuídas ao estiramento C=O do grupo acetil (Amida I) e flexão das ligações NH- do grupo N-acetil (Amida II), respectivamente (WU *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2008a, KARAKEÇILI *et al.*, 2007). A banda em 1420 cm<sup>-1</sup> pode ser detectada como um sinal referente à absorção de estiramento simétrico de sais de ácido carboxílico. A banda localizada na faixa 1380-1312 cm<sup>-1</sup> é atribuída à deformação simétrica de C-H. As vibrações C-O-C podem ser

detectadas em  $1155\text{ cm}^{-1}$ . As vibrações entre  $1250\text{ cm}^{-1}$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento C-O de álcoois e fenóis. A banda localizada em  $900\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à presença de grupos -C-H (BEPPU *et al.*, 1999; FIDÉLES, 2010; WANG *et al.*, 2008a).

As Figuras 61 e 62 ilustram os espectros de FTIR obtidos para os filmes de quitosana pura e para os filmes com zeólitas incorporadas. As Tabelas 17 e 18 mostram os picos obtidos para todos os filmes juntamente com suas respectivas atribuições.

Observa-se na Tabela 17 e na Figura 61 que a incorporação de partículas de zeólita nos filmes poliméricos acarretou algumas mudanças nos espectros de IR quando comparados com os espectros do filme de quitosana pura. Estas alterações na intensidade das bandas do grupo hidroxila, amida I e amida II dos filmes podem ter sido causadas pelas ligações de hidrogênio entre os grupos -OH das zeólitas com os grupos -OH e -NH<sub>2</sub> da quitosana (VICENTINI *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2008a; WANG *et al.*, 2010a). As duas bandas presentes em  $1061\text{ cm}^{-1}$  e  $1015\text{ cm}^{-1}$  no filme de quitosana pura se fundem em uma só banda em  $1026\text{ cm}^{-1}$  para os filmes com zeólitas 5AgY-I e 5AgY-TI e em  $1017\text{ cm}^{-1}$  para 10AgY-I. Segundo Wu *et al.* (2007), essa alteração é devida à sobreposição da banda Si-O da zeólitas com a banda de estiramento -C-O da quitosana.



**Figura 61-** Espectro de infravermelho para o filme de quitosana e zeólitas Y trocadas ou impregnadas com prata.

**Tabela 17**-Bandas vibracionais obtidas para o filme de quitosana e filmes com 5AgY-TI, 5AgY-I e 10AgY-I

Atribuição	Banda (cm <sup>-1</sup> )			
	Filmes			
	Quitosana	5AgY-TI	5AgY-I	10AgY-I
Estiramento de O-H e N-H	3320	3319	3319	-
Estiramento C-H	2919/2845	2919/2845	2919/2945	2919/2845
Amida I	1650	1648	1648	-
Amida II	1550	1564	1560	1542
Estiramento C-H e O-H	1411	1411	1417	1411
Deformação angular do C-H	1365	1365	1304	1304
Estiramento C-O-C	1155	1156	1156	1156
Estiramento C-O	1015/1061	1026	1026	1017
Presença de -C-H.	893	964	893	964

No filme com zeólita 10AgY-I (Figura 61b) o pico em 3320 cm<sup>-1</sup> presente no filme de quitosana puro desapareceu devido às fortes ligações da zeólita com as cadeias poliméricas da quitosana. No entanto apresentou picos extras em 1235 e 1201 cm<sup>-1</sup> correspondendo às vibrações internas aos tetraedros TO<sub>4</sub> da zeólita (WANG *et al.*, 2009; VICENTINI *et al.*, 2010).

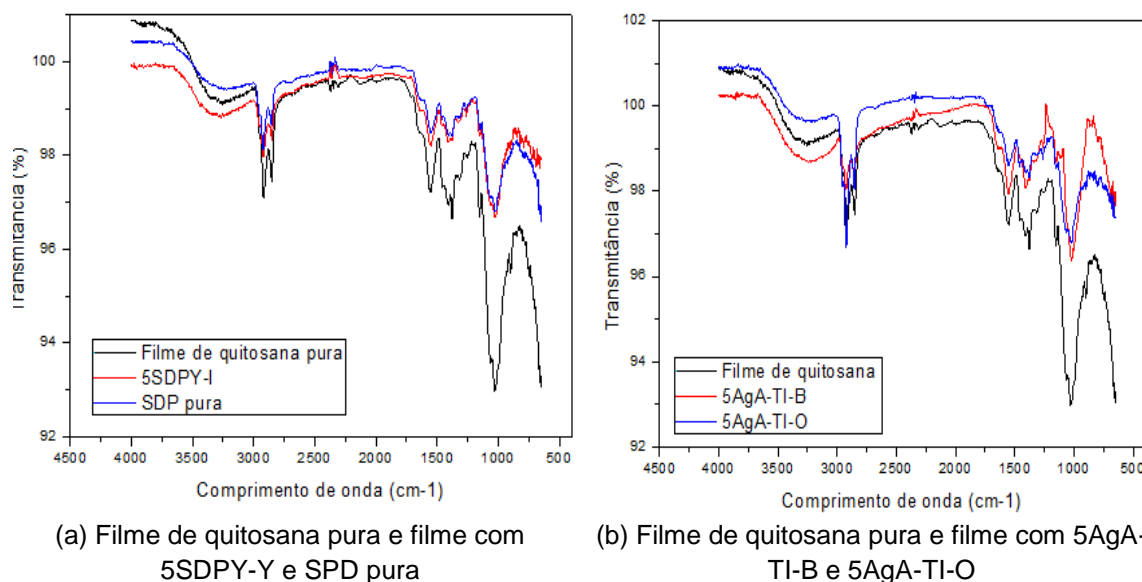
A adição de sulfadiazina de prata pura nos filmes não acarretou em nenhuma alteração nos espectros de IR quando comparados com os da quitosana pura (Figura 62a).

Observa-se na Tabela 18 e na Figura 62 que a adição de zeólitas 5AgA-TI-B, 5AgA-TI-O e 5SDPY-I nos filmes acarreta a junção das bandas 1061 cm<sup>-1</sup> e 1015 cm<sup>-1</sup> do filme de quitosana pura para 1014 cm<sup>-1</sup> nos filmes com zeólita, sendo decorrente também da sobreposição da banda Si-O das zeólitas com a banda de estiramento -C-O da quitosana.

**Tabela 18**-Bandas vibracionais obtidas para os filmes com SDP pura e filmes com 5SDPY-I, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O

Atribuição	Banda (cm <sup>-1</sup> )			
	Filmes			
	SDP pura	5SDPY-I	5AgA-TI-B	5AgA-TI-O
Estiramento de O-H e N-H	3320	3319	3319	-
Estiramento C-H	2919/2845	2919/2845	2919/2945	2919/2845
Amida I	1650	1648	1648	-
Amida II	1550	1564	1560	1542
Estiramento C-H e O-H	1411	1411	1417	1411
Deformação angular do C-H	1365	1365	1304	1304
Estiramento C-O-C	1155	1156	1156	1156
Estiramento C-O	1015/1061	1017	1014	1014
Presença de -C-H.	893	890	893	964

Observou-se a presença de um pico em  $1104\text{ cm}^{-1}$  no filme com 5AgA-TI-B que pode ser atribuído ao estiramento assimétrico das ligações internas dos tetraedros da zeólita, resultado também obtido por Vicentini *et al.* (2010).



**Figura 62**-Espectro de infravermelho para o filme de quitosana e zeólitas 5SDPY-I e zeólitas A trocadas com prata.

Em todos os espectros de IR não foi observada a presença de glicerol nos filmes poliméricos, pois segundo Dallan (2005) sua estrutura é constituída apenas de ligações carbono-hidrogênio, carbono-oxigênio, carbono-carbono e oxigênio-hidrogênio, as quais também podem ser encontradas na quitosana. Como a análise de espectroscopia por infravermelho permite a identificação de tipos de ligações e grupos funcionais de um composto e o glicerol não possui nenhum grupamento específico para sua caracterização, este não foi identificado nos filmes sintetizados neste trabalho, porém, segundo Brown *et al.* (2001) pode ser observada uma mudança no pico a  $1560\text{ cm}^{-1}$  para  $1590\text{ cm}^{-1}$  conforme o conteúdo de glicerol no filme aumenta. Como não houve alteração nos filmes sintetizados neste trabalho, sugere-se que a quantidade de glicerol adicionada não foi significativa.

#### 4.2.9 Capacidade de movimentação de fluidos (FHC)

As queimaduras geram descompensação hídrica no organismo humano pela grande perda de líquidos, assim se faz necessária a utilização de curativos que regulem a perda de fluidos corpóreos e ao mesmo tempo controlem o teor

de umidade do tecido novo ou vulnerável uma vez que mudanças no teor de umidade de uma ferida e da pele ao redor da mesma podem afetar o processo de cicatrização. O acúmulo de fluidos em excesso pode causar maceração ou infecção, por outro lado, se a ferida se torna muito seca, a cicatrização pode ser atrasada ou comprometida. O ambiente ótimo de cicatrização é atingido pela aplicação de um curativo adequado que deve ser removido no tempo apropriado para evitar a maceração ou aderência (THOMAS e YOUNG, 2008; DALLAN, 2005).

A Tabela 19 apresenta os valores obtidos para a Taxa de Permeação de Vapor Úmido (TPVU ou *Moisture Vapour Permeation Rate - MVPR*), Capacidade de Absorção (CA ou *Absorbency*) e a Capacidade de Movimentação de Fluidos (CMF ou *Fluid Handling Capacity - FHC*) para os filmes de quitosana pura e para os filmes com zeólitas.

Os valores de taxa de permeação de vapor úmido para os filmes de quitosana e para os filmes com zeólita incorporada apresentaram valores entre  $2,41 \pm 0,48$  e  $3,11 \pm 0,65$  g/10cm<sup>2</sup>/24h, não sendo observada diferença significativa entre os filmes sintetizados neste trabalho.

Os valores de TPVU obtidos neste trabalho estão coerentes com os relatados na literatura na qual variam de  $1,67g \pm 0,11$  g/10cm<sup>2</sup>/24h a  $12,35 \pm 0,42$  g/10cm<sup>2</sup>/24h para os curativos ActivHeal® e Allevyn Adhesive® (THOMAS e YOUNG, 2008). Outros curativos comerciais, como o Allevyn Gentle Mepilex®, Tielle Plus®, Allevyn Adhesive Border®, Allevyn Gentle®, Biatain Adhesive®, também apresentam valores de TPVU nesta faixa (PHILLIPS, 2009; AICKIN *et al.*, 2010, *apud* SANTOS *et al.*, 2012b).

A perda de água por evaporação de peles que sofreram queimaduras de primeiro grau é de  $0,279 \pm 0,026$  g/cm<sup>2</sup>/24 h e para feridas em estágio de granulação é de  $5,138 \pm 0,202$  g/cm<sup>2</sup>/24h (KIM *et al.*, 2007). Desta forma, um curativo visando aplicação em queimaduras deve apresentar taxas de permeabilidade entre 2,0 e 2,5 g/cm<sup>2</sup>/24h para promover um adequado nível de umidade sem risco de desidratar o leito da ferida (KIM *et al.*, 2007; MI *et al.*, 2001). Outros autores (LAMKE *et al.*, 1977 *apud* THOMAS e YOUNG, 2008) sugerem que a taxa de permeação de vapor úmido deve ser maior que a produção de exsudato variando entre 3,4 e 5,1g de exsudato/10cm<sup>2</sup>/24h. Os

valores de TPVU para as membranas sintetizadas apresentaram valores intermediários, o que lhes permite aplicação como curativos para queimaduras, principalmente para as amostras 5AgY-I, 10AgY-I e 5SDPY-I, as quais apresentaram os maiores valores de TPVU.

**Tabela 19**-Taxa de Permeação de Vapor Úmido (TPVU), Capacidade de Absorção e Capacidade de Movimentação de Fluidos (CMF) para os filmes de quitosana pura e com zeólitas

Filmes de quitosana	TPVU ou TPEF*	CA*	CMF*
Pura	2,52±1,03 <sup>a</sup>	1,57±0,44 <sup>a</sup>	4,09±1,47
5AgY-TI	2,61±1,56 <sup>a</sup>	1,36±0,24 <sup>a</sup>	3,82±0,41
5AgY-I	3,03±0,85 <sup>a</sup>	1,06±0,15 <sup>a</sup>	4,09±1,14
10AgY-I	2,46±0,17 <sup>a</sup>	1,16±0,13 <sup>a</sup>	4,26±0,78
NaY	2,41±0,48 <sup>a</sup>	1,07±0,35 <sup>a</sup>	3,59±0,57
5SDPY-I	2,52±0,22 <sup>a</sup>	4,25±1,15 <sup>b</sup>	7,29±2,23
SDP-pura	3,04±1,49 <sup>a</sup>	2,34±0,67 <sup>a</sup>	5,15±0,87
5AgA-TI-B	2,81±0,20 <sup>a</sup>	0,96±0,17 <sup>a</sup>	3,57±1,73
5AgA-TI-O	3,11±0,65 <sup>a</sup>	0,77±0,05 <sup>a</sup>	3,18±0,53

Diferentes sobrescritos na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações ( $p < 0,05$ ); \* Expressos em g/10cm<sup>2</sup>.24h

Analisando-se os valores obtidos de capacidade de absorção (CA) para os filmes sintetizados observa-se que a adição de zeólitas, de uma maneira geral, com exceção do filme com 5SDPY-I, não altera significativamente as propriedades de CA. Alguns autores verificaram um resultado diferente ao obtido neste trabalho, no qual a adição de zeólitas em filmes de quitosana aumenta a rigidez das cadeias de quitosana, resultando na redução da sua capacidade de adsorver as moléculas de água e como estas zeólitas são menos hidrofílicas que a quitosana, acabam conferindo um caráter mais hidrofóbico ao filme resultando em menor capacidade de absorção (VICENTINI *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2008b; WU *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2010b).

A diferença significativa encontrada dos filmes de sulfadiazina de prata impregnada na zeólita com os demais filmes se deve à menor estabilidade térmica dos filmes com 5SDPY-I. Este fato é decorrente da grande hidrofílicidade da sulfadiazina de prata em pó (seção 4.1.7). Conseqüentemente houve uma maior retenção de água na matriz polimérica fazendo com que este filme apresentasse uma maior capacidade de absorção de água quando comparado com os outros filmes sintetizados.

Segundo THOMAS e YOUNG (2008), a taxa de produção de exsudato varia durante o processo de cicatrização de uma ferida, ou seja, é maior no começo e vai diminuindo até cessar quando a ferida finalmente fecha-se. Assim, a utilização do filme 5SDPY-I é indicada para processos iniciais logo após a formação da ferida e os demais filmes podem ser usados na fase final onde não é necessária uma elevada capacidade de absorção.

#### **4.2.10 Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)**

Para fins de esclarecimento, a análise do tópico anterior, 4.2.9, é referente à taxa de permeação ao vapor úmido (TPVU), ou seja, a solução de exsudato entra em contato com o filme, pois naquele teste o copo de Paddington modificado é colocado na posição invertida dentro do dessecador (topo virado para baixo). A atribuição “úmido” é referente ao contato direto da solução com o filme. Na taxa de permeação de vapor d'água (TPVA), no interior do copo de Paddington modificado há sílica em gel seca e este sistema na posição normal (boca virada para cima) é colocado dentro do dessecador a uma temperatura (37°C) e umidade controlada (75%). A sílica em gel absorverá a umidade do ambiente devido a permeação de vapor de água que atravessou o filme e não pelo contato do filme com algum líquido. Assim, a atribuição “seco” é devido ao não contato direto de líquido com o filme.

Os resultados das análises de taxa de permeação de vapor d'água (seco) e da permeabilidade ao vapor d'água dos filmes de quitosana com e sem zeólitas incorporadas estão apresentadas na Tabela 20.

Comparando os dados da taxa de permeação de vapor d'água (TPVA) com a taxa de permeação ao vapor úmido (TPVU), observa-se uma grande diferença entre os valores obtidos. Os valores da taxa de permeação de vapor d'água são inferiores aos valores observados para a taxa de permeação ao vapor úmido (TPVU), resultados também observados por Thomas e Young (2008). Nos testes de permeação “úmida”, maiores quantidades de moléculas de água estão em contato direto com o filme ocorrendo maiores interações com a matriz polimérica resultando em uma maior velocidade de permeação (PASCAT, 1986 *apud* SRINIVASA *et al.*, 2007) e o contato com as moléculas de água leva ao intumescimento e inchaço dos filmes, decorrente da

capacidade de difusão da água, ionização dos grupos amino e carboxílico e relaxação do polímero (MATHEW *et al.*, 2006) o que pode ser um fator adicional para aumentar a diferença entre os valores obtidos de TPVU e TPVA.

A pele humana normal possui permeabilidade ao vapor d'água de  $0,204 \pm 0,012$  g/10 cm<sup>2</sup>.24 h, ou seja, a pele perdeu 0,204 g de água em uma área de 10 cm<sup>2</sup> durante 24 horas. Para a pele com lesão por queimaduras de primeiro grau ou quando a ferida está formando o tecido de granulação as permeabilidades são  $0,279 \pm 0,026$  e  $5,138 \pm 0,202$  g/10 cm<sup>2</sup>.24h, respectivamente (RUIZ-CARDONA *et al.*, 1996). Em relação à permeabilidade ao vapor d'água de um curativo ideal (YANNAS e BURKE, 1980 *apud* DALLAN, 2005), este deve possuir permeabilidade ao vapor d'água de 1,200 g/10 cm<sup>2</sup>.24h enquanto que para Wu *et al.* (2004) e Mi *et al.* (2001) o ideal é de 2,500 g/10 cm<sup>2</sup>.24 h. KIM *et al.* (2007) encontraram valores de permeabilidade de 1,938-2,212 g/10 cm<sup>2</sup>.24h enquanto outros autores encontraram permeabilidades mais baixas semelhantes ao obtido neste trabalho, como Wang *et al.* (2002) e Remuñán-López e Bodmeier (1997) que obtiveram, 0,560-0,658 g/10 cm<sup>2</sup>.24 h e 0,288-1,008 g/10 cm<sup>2</sup>.24h, respectivamente.

**Tabela 20**-Taxa de permeação ao vapor d'água

Filme de quitosana	TPVA (g/10 cm <sup>2</sup> .24 h)*	PVA (g/m.s.Pa)*
Pura	0,46±0,03 <sup>a</sup>	7,03±0,46 <sup>a,b</sup>
5AgY-TI	0,49±0,03 <sup>a</sup>	8,46±0,42 <sup>a,b</sup>
5AgY-I	0,50±0,01 <sup>a</sup>	9,26±0,02 <sup>a,b</sup>
10AgY-I	0,49±0,03 <sup>a</sup>	8,17±0,52 <sup>a,b</sup>
NaY	0,49±0,05 <sup>a</sup>	9,17±0,84 <sup>a</sup>
5SDPY-I	0,49±0,04 <sup>a</sup>	8,05±0,66 <sup>a,b</sup>
SDP pura	0,46±0,20 <sup>a</sup>	7,11±0,31 <sup>b</sup>
5AgA-TI-B	0,46±0,04 <sup>a</sup>	8,42±0,75 <sup>a</sup>
5AgA-TI-O	0,56±0,08 <sup>a</sup>	10,70±0,15 <sup>a</sup>

\*Diferentes sobrescritos na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações ( $p < 0,05$ ).

Os valores de TPVA dos filmes sintetizados variaram entre 0,46 e 0,56 g/10cm<sup>2</sup>.24h não mostrando diferença significativa entre eles. Observa-se que muitos curativos disponíveis comercialmente apresentam valores ainda mais baixos variando entre 0,1360 e 0,476 g/10cm<sup>2</sup>.24h para os curativos



Comfeel®, Dermiflex®, Granuflex E®, IntraSite®, Restore Cx®, Tegaserb® e Bioclusive® (WU *et al.*, 1995).

Observa-se que ocorreu um aumento da permeação ao vapor d'água (PVA) dos filmes após a incorporação de zeólitas. Diferenças significativas foram obtidas apenas quando comparados os filmes SDP pura com NaY e 5AgA-TI-O com SDP pura.

Após a incorporação de zeólita nos filmes de quitosana houve um aumento dos valores de PVA supostamente devido ao fato das zeólitas apresentarem um maior caminho de difusão para as moléculas de água, quando comparadas com o filme de quitosana pura.

#### 4.2.11 Solubilidade em água

A solubilidade dos filmes é uma propriedade importante para avaliar o comportamento dos mesmos quando em contato com soluções. Os filmes destinados a aplicações como curativos de queimadura devem apresentar certa insolubilidade, visando garantir uma matriz estruturada durante a liberação da prata ou da sulfadiazina de prata durante o período de contato com a queimadura.

Filmes com características hidrofílicas tendem a ser mais susceptíveis à ação da água. A solubilidade em água dos filmes é definida como a quantidade de matéria seca que é solubilizada após 24 h de imersão (GALIETTA *et al.*, 1998).

Em todos os filmes sintetizados neste trabalho foi utilizado glicerol. A adição de glicerol promove um leve acréscimo no teor de umidade e na solubilização dos filmes. Isto se deve ao fato de que o plastificante utilizado pode se desprender da matriz polimérica, gerando com isto lacunas no material, tornando-o mais acessível às moléculas de água. Outro fator importante a ser considerado é a característica higroscópica do glicerol, contribuindo para o aumento da umidade dos filmes (CERVERA *et al.*, 2004). Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 21.

A pequena quantidade de sulfadiazina de prata adicionada ao filme polimérico não acarretou em diferenças significativas quando comparado com o filme de quitosana pura, porém, há diferenças significativas quando comparado

com os filmes 5AgY-I, NaY, 5AgA-TI-B devido à sua característica mais higroscópica.

**Tabela 21-Solubilidade em água**

Filme	Solubilidade em água (%) <sup>*</sup>
Quitosana Pura	25,07 ±0,86 <sup>a</sup>
5AgY-TI	24,02 ±0,26 <sup>a,b</sup>
5AgY-I	21,56 ±0,79 <sup>b,c,d</sup>
10AgY-I	25,30 ±0,74 <sup>a</sup>
NaY	19,66 ±1,28 <sup>c</sup>
5SDPY-I	25,95 ± 0,45 <sup>a</sup>
SDP pura	25,88 ± 0,89 <sup>a</sup>
5AgA-TI-B	22,27 ±0,66 <sup>d,b,c</sup>
5AgA-TI-O	25,04 ±0,84 <sup>a</sup>

\*Diferentes sobrescritos na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações ( $p < 0,05$ ).

Os filmes com zeólitas 5AgY-TI, 5AgY-I, NaY, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O apresentaram menor solubilidade em água do que os filmes de quitosana pura. Este fato pode ser decorrente das interações de ligação de hidrogênio entre a cadeia de quitosana e as zeólitas que conseqüentemente aumentaram a rigidez das cadeias de quitosana, resultando em um caráter mais higroscópico e menor facilidade das cadeias de quitosana tornarem-se solúveis. Cabe ressaltar que na análise de ATG (seção 4.2.7) os filmes com estas zeólitas apresentaram também maiores estabilidades térmicas por absorverem menores quantidades de moléculas de água.

#### 4.2.12 Propriedades mecânicas

Entre os métodos clássicos utilizados na avaliação mecânica de filmes poliméricos para aplicação como curativos se destacam os testes de tensão na ruptura e a porcentagem de alongação, os quais fornecem evidências da integridade esperada do filme sob condições de tensão que poderiam ocorrer durante o processamento, manuseio e estocagem, e estão diretamente relacionadas com as ligações presentes na matriz (ROBERTSON, 1993 *apud* SEIXAS, 2011).

A resistência à tração é a máxima tensão suportada pelo filme até o momento de sua ruptura. A porcentagem de alongação é um dado importante, pois uma alta alongação indica que um material pode absorver uma grande

quantidade de energia antes do rompimento (ROBERTSON, 1993 *apud* SEIXAS, 2011), sendo que baixos valores deste parâmetro implicam em filmes quebradiços (MACLEOD *et al.*, 1997).

A magnitude da tensão e da elongação na ruptura está diretamente associada com a quantidade de plastificante presente no filme. Geralmente, o aumento da quantidade de plastificante resulta em filmes com menor resistência à tração e maior porcentagem de elongação. O módulo de Young indica a rigidez do filme, quanto maior o módulo de Young, mais rígido é o material (ROBERTSON, 1993 *apud* SEIXAS, 2011).

A Tabela 22 apresenta as propriedades mecânicas obtidas para os filmes poliméricos sintetizados neste trabalho. Todos os filmes sintetizados com a incorporação de zeólita Y apresentaram mudanças significativas semelhantes em todas as propriedades analisadas. Observa-se um aumento no módulo de Young e da tensão de ruptura e uma diminuição da porcentagem de elongação. Resultados semelhantes foram encontrados por Vicentini *et al.* (2010) e Cua *et al.* (2009) que sugerem que a presença de zeólitas promoveu interações eletrostáticas entre os polímeros e as zeólitas, restringindo a mobilidade das cadeias poliméricas.

Segundo Dallan (2005) a presença de grumos de quitina causou uma desorganização local no empacotamento das cadeias poliméricas da quitosana fazendo com que a estrutura polimérica se rompesse mais facilmente próximos aos pontos onde os grumos de quitina se encontram inseridos, reduzindo a porcentagem de elongação dos filmes de quitosana com quitina quando comparados com os filmes compostos apenas de quitosana. Estes resultados corroboram o observado na análise de microscopia óptica (seção 4.2.3) onde os filmes com zeólita Y apresentaram muitos grumos de zeólita na superfície do filme, o que pode ter causado os baixos valores de porcentagem de elongação encontrados para estas amostras.

Os filmes de quitosana com 5AgA-TI-O e 5AgA-TI-B não apresentaram diferença significativa nos valores de tensão de ruptura quando comparado com o filme de quitosana pura e maiores valores de porcentagem de elongação quando comparados com os filmes com zeólita Y. Estas alterações nas propriedades mecânicas podem ser decorrentes das poucas interações dessas

zeólitas com as cadeias poliméricas da quitosana, resultado também obtido por Vicentini *et al.* (2010).

Através da análise de MEV dos filmes sintetizados (seção 4.2.2) observa-se na micrografia da seção transversal a presença de pequenas fissuras em todos os filmes com zeólitas e no filme com sulfadiazina de prata. Como na micrografia da seção transversal estas não se encontram presentes nos filmes de quitosana pura, sugere-se que nos demais filmes a presença destas fissuras e falhas facilitam o rompimento do filme reduzindo consequentemente a porcentagem de alongação.

A presença de glicerol nos filmes poliméricos resultou em filmes com melhor maleabilidade (menor módulo de Young) e melhor flexibilidade (maior porcentagem de alongação) do que os filmes confeccionados por Santos *et al.* (2012b) que adicionaram zeólita ZSM-5 em filmes de quitosana sem a presença de glicerol.

**Tabela 22-**Propriedades mecânicas dos filmes poliméricos

Filme	Módulo de Young (MPa)*	Tensão de Ruptura (MPa)*	Porcentagem de Alongação (%)*
Quitosana pura	4,17±0,97 <sup>a</sup>	13,26±0,71 <sup>a</sup>	19,60±0,38 <sup>a</sup>
5AgY-TI	11,00±0,81 <sup>b</sup>	27,83±1,18 <sup>b</sup>	8,94±1,70 <sup>b</sup>
5AgY-I	5,07±0,39 <sup>a</sup>	15,39±2,08 <sup>a,c</sup>	10,35±2,45 <sup>c,b</sup>
10AgY-I	5,10±1,08 <sup>a,e</sup>	16,69±1,97 <sup>c</sup>	12,43±2,40 <sup>d,b</sup>
NaY	5,36±0,99 <sup>a</sup>	14,87±1,91 <sup>a</sup>	12,52±1,32 <sup>e,d</sup>
5SDPY-I	5,08±1,55 <sup>a</sup>	15,81±1,12 <sup>a,c</sup>	12,74±3,03 <sup>f,b,e</sup>
SDP pura	6,85±1,91 <sup>c,e</sup>	15,16±2,71 <sup>a,c</sup>	8,71±1,97 <sup>g,b</sup>
5AgA-TI-B	1,45±0,29 <sup>d</sup>	12,60±1,63 <sup>a,c</sup>	15,81±2,02 <sup>a,d</sup>
5AgA-TI-O	4,03±1,41 <sup>a</sup>	13,20±2,52 <sup>a,c</sup>	13,75±0,53 <sup>h,d,f</sup>

\*Diferentes sobrescritos na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.13 Permeabilidade microbiana

O curativo para o tratamento de queimaduras deve ser impermeável aos micro-organismos expostos no meio ambiente. Assim, foi realizado um teste para avaliar se há ou não permeação microbiana através dos filmes poliméricos sintetizados.

Os controles positivos foram montados a fim de se assegurar que o meio de cultura era capaz de promover o crescimento microbiano, sendo qualquer turvação do meio identificada como uma contaminação microbiológica, e como resultado uma permeabilidade positiva do filme a micro-organismos. Os

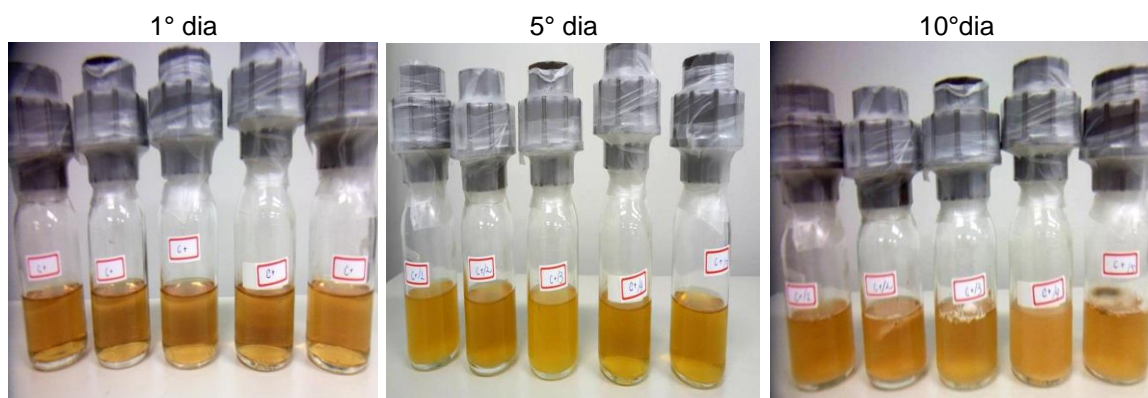
controles negativos foram realizados a fim de se garantir que não ocorreu contaminação nas condições a que foram expostos os materiais e meios utilizados.

As Figuras 63-69 apresentam as fotografias digitais dos sistemas utilizados nos testes de permeação microbiana. O início da turvação do meio contido nos sistemas de controle positivo foi observado macroscopicamente a partir do quarto dia de exposição ao ambiente, sendo observado pela Figura 63.

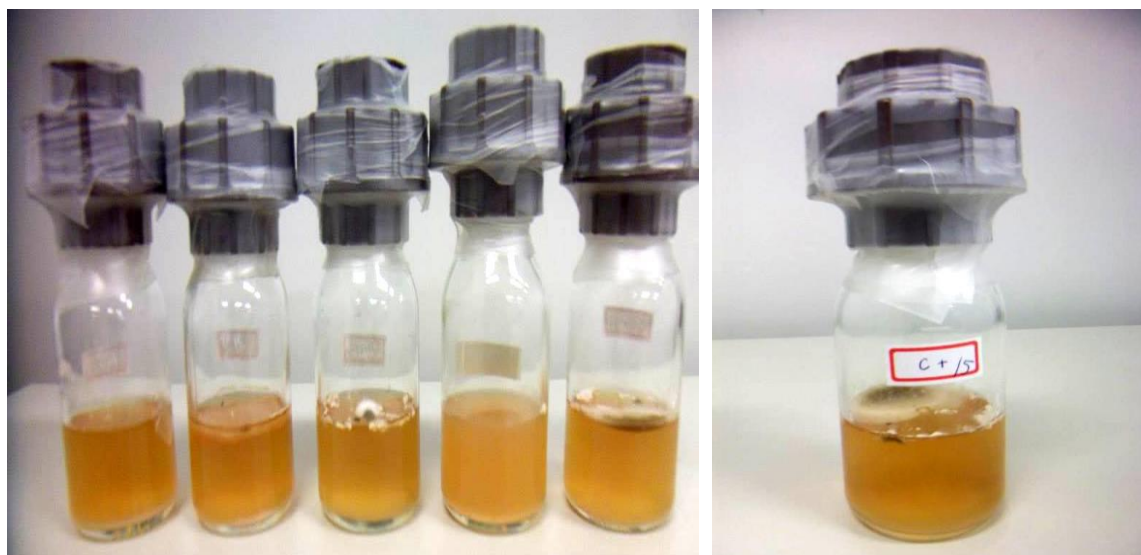


**Figura 63**-Controle positivo no 4º dia de teste.

A partir do 9º dia de exposição ao ambiente foi observada no controle positivo a formação de aglomerados de fungos sobre a superfície do meio, dada pela Figura 64 e pela Figura 65 que apresentam fotografias para melhor visualização da turbidez do meio decorrente do crescimento microbiano.

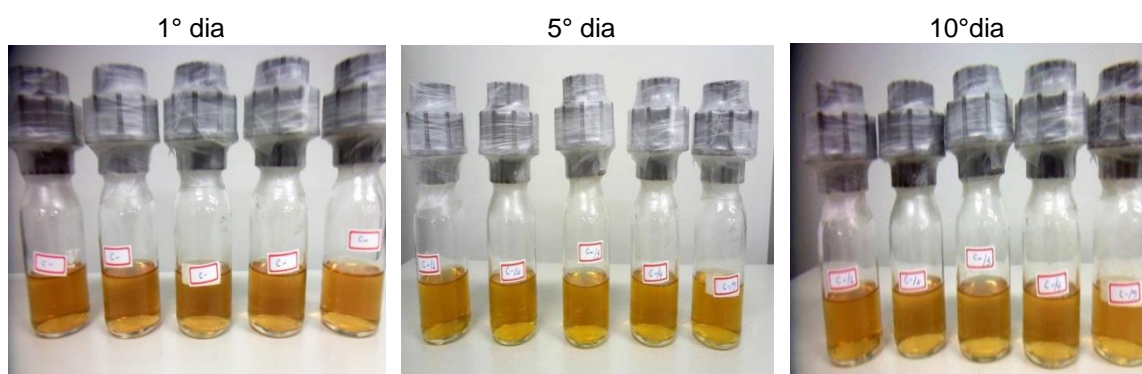


**Figura 64**-Controle positivo.



**Figura 65-**Controle positivo no 10° dia.

Contrário aos controles positivos, os controles negativos (Figuras 66 e 67), assim como esperado, não apresentaram qualquer turvação perceptível macroscopicamente após 10 dias de exposição, pois estes são vedados com *parafilme*, apenas para representar uma condição livre de contaminação microbiológica intrínseca.

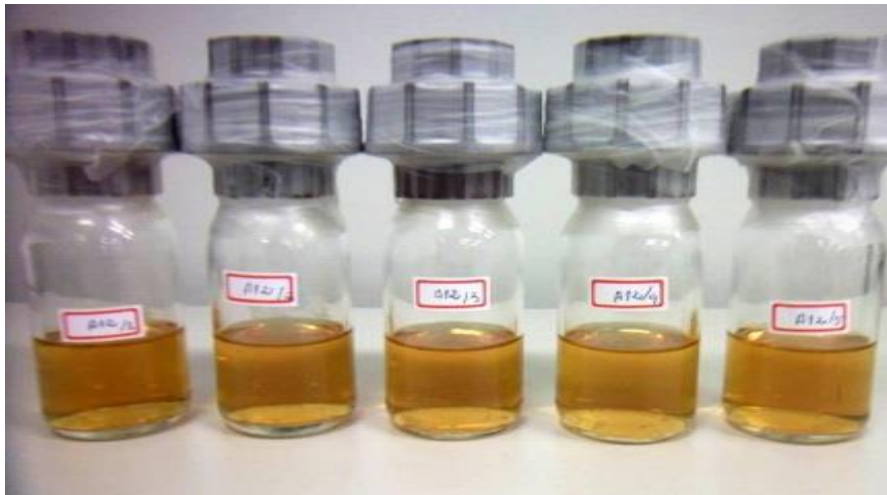


**Figura 66-**Controle negativo.

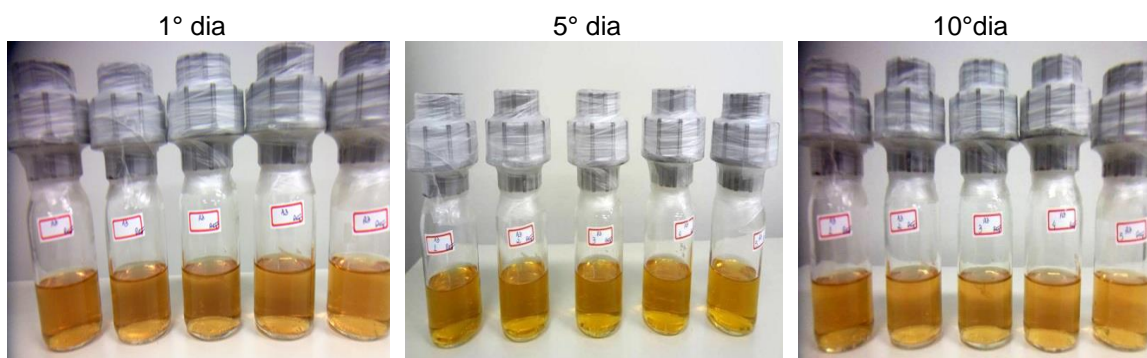


**Figura 67-**Ampliação do controle negativo no 10° dia.

Foi observado que para todas as amostras de filmes de quitosana contendo ou não zeólitas com prata ou sulfadiazina de prata, não houve qualquer turvação perceptível macroscopicamente no 10º dia de exposição ao ambiente. Este fato, coerente com os resultados obtidos pela análise textural, mostram que não houve permeação microbiana devido ao fato das amostras de filme de quitosana não apresentarem quantidade significativa de microporos ou poros compatíveis para a passagem de micro-organismos, fatos estes que podem dificultar a permeação microbiana através do filme para o meio de cultura. A Figura 68 apresenta uma ampliação do décimo dia da amostra de filme com 5AgA-TI-B, já a Figura 69 apresenta o teste de permeabilidade microbiana da amostra de filme 5AgY-I no primeiro dia, quinto e décimo. As fotografias das demais amostras encontram-se no anexo C.



**Figura 68-**Teste de permeabilidade microbiana para o filme com 5AgA-TI-B no décimo dia.



**Figura 69-**Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgY-I.

Na análise de microscopia óptica foi constatada a presença de pequenas bolhas na superfície do filme decorrente de seu processo de síntese. As bolhas

não promoveram fragilidade na estrutura polimérica devido à espessura reduzida na área da bolha, o que felizmente não possibilitou a passagem de bactérias e fungos.

Os filmes poliméricos sintetizados apresentam uma grande capacidade de impedir infecções de bactérias e fungos na ferida de queimadura. A impermeabilidade encontrada para os filmes poliméricos de quitosana é possivelmente decorrente da ligação dos grupos aminos carregados positivamente da cadeia polimérica com a membrana celular das bactérias carregadas negativamente, enquanto que o não crescimento de fungos é devido à barreira física que os filmes proporcionaram (PEREDA *et al.*, 2011).

#### 4.2.14 Liberação de prata

A Figura 70 apresenta os perfis de liberação de prata a partir dos filmes poliméricos sintetizados neste trabalho.

Para os filmes poliméricos com zeólitas Y (Figura 70a), o filme com 5AgY-TI apresentou uma taxa de liberação de prata maior do que os filmes com 5AgY-I e 10AgY-I. Este fato é decorrente da maior concentração de prata superficial na zeólita 5AgY-TI observada pelas análises elementares de EDX e TXRF (seção 4.1.2).

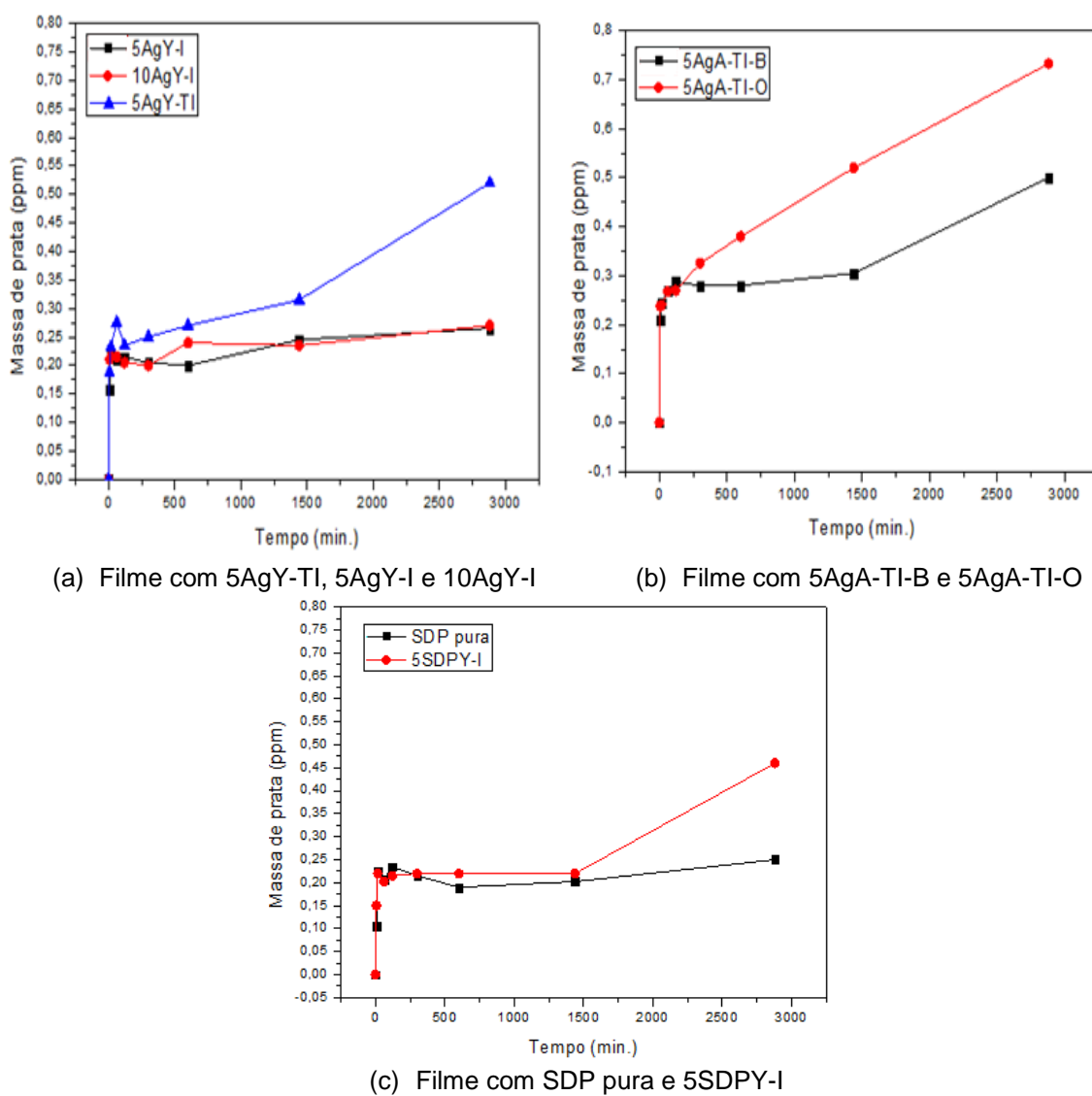
Similarmente ao observado para as zeólitas Y, na Figura 70b observa-se que a maior taxa de liberação de prata, para todos os filmes testados, foi a partir do filme com zeólita 5AgA-TI-O devido à sua considerável quantidade de *clusters* de prata superficial formados observados pelas análises de MEV. Boschetto *et al.* (2012) observaram também que quanto maior a quantidade de prata na superfície da zeólita, maior é a quantidade de prata lixiviada a partir de filmes de poliestireno.

Pela Figura 70c observa-se que até 1500 minutos não há diferença em termos de liberação de prata dos filmes com 5SDPY-I e com sulfadiazina de prata. Porém, a partir deste ponto observa-se que o suporte zeolítico continua sua liberação contínua, enquanto o filme com sulfadiazina pura quase não sofre alteração no conteúdo de prata lixiviada. Este resultado afirma a boa utilização de zeólitas na liberação controlada de fármacos.

Observa-se que a quantidade de prata liberada é muito baixa, o que poderia ser um fato positivo em relação à sua citotoxicidade e mesmo após



dois dias de liberação ainda estava ocorrendo a liberação da prata, isto é, a quantidade de prata liberada ainda não havia se tornado constante para todas as amostras na qual a prata havia sido incorporada à zeólita pelo procedimento de troca iônica, 5AgY-TI, 5AgA-TI-B e 5AgA-TI-O. Para as zeólitas impregnadas com prata, já se esperava uma menor concentração de prata na solução, justamente porque o procedimento de impregnação visa a fixação da prata no suporte através da decomposição do sal  $\text{AgNO}_3$ .



**Figura 70**-Teste de liberação de prata a partir dos filmes poliméricos.

Todos os filmes sintetizados apresentaram uma liberação de prata menor que 1 ppm. No entanto, Walker *et al.* (2006 *apud* GAISFORD *et al.*, 2009) verificaram que os curativos comerciais Aanticoat® e Aquacel-Ag Hydrofiber® lixiviam 55 e 1 ppm de  $\text{Ag}^+$  respectivamente. Ou seja, Aquacel-Ag

Hydrofiber® libera tão pouca prata quanto os filmes sintetizados neste trabalho. No entanto, a baixa concentração de prata obtida também foi obtida por outros autores que realizaram o experimento tanto em salmoura como em fluido exsudato de ferimento e observaram que as concentrações de prata iônica caem para 1 ppm em todos os casos (DEMLING e DESANTI, 2001; WALKER *et al.*, 2006 *apud* GAISFORD *et al.*, 2009).

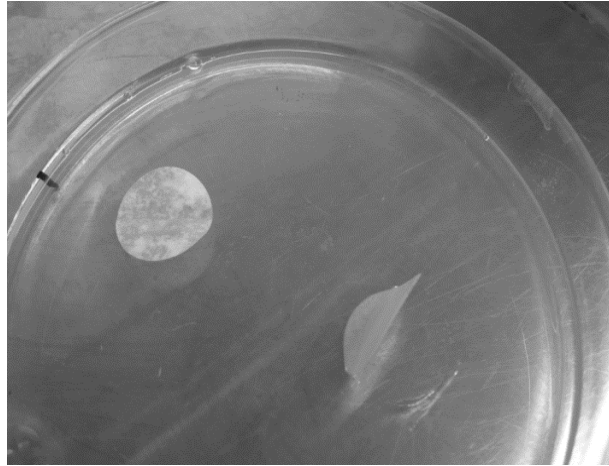
Em termos de perfil de liberação os filmes poliméricos com 5AgY-I e 10AgY-I apresentam um perfil de saturação (Figura 70a), ou seja, a quantidade máxima de prata liberada é atingida em cerca de 0,25 ppm, onde é provável que toda a prata “liberável” (passível de liberação) já tenha sido liberada. Por outro lado, a 5AgY-TI não atinge esta saturação, apresentando um perfil de liberação lento, o que é bastante desejável já que a prata pode ser citotóxica. O mesmo raciocínio aplica-se na Figura 70b, as duas não atingiram um máximo de liberação, provavelmente continuariam liberando mais depois da interrupção do teste, mas o filme com zeólita 5AgA-TI-B libera mais lentamente que o filme com 5AgA-TI-O.

Optou-se por realizar esta análise em solução simulada de exsudato de ferida por esta ser uma solução mais próxima da situação real encontrada em uma queimadura mesmo sabendo que íons cloreto nesta solução podem inibir parcialmente os íons prata. O teste não foi realizado apenas em água deionizada, pois, segundo Matsumura *et al.* (2003) e Kawahara *et al.* (2000) nenhuma quantidade de prata considerável foi detectada não simulando uma condição real, pois não há troca iônica para liberar a prata presente na estrutura da zeólita.

#### **4.2.15 Atividade antimicrobiana em meio líquido**

Inicialmente foi proposto realizar o teste de Difusão em ágar para avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos sintetizados neste trabalho, porém, estes testes não foram realizados com sucesso devido à repulsão entre os filmes poliméricos e o meio de cultura. A fim de tentar solucionar esta repulsão, as soluções dos filmes foram colocadas para secar sobre papel sulfite dentro das placas de petri utilizadas normalmente para a confecção dos mesmos. Após a secagem, os filmes foram cortados da mesma maneira e colocados sobre o meio de cultura com a face da sulfite voltada para cima.

Esperava-se que o peso do papel sulfite fizesse com que o filme não se enrolasse sobre o meio. Porém, essa tentativa também não obteve sucesso, conforme observado na Figura 71.

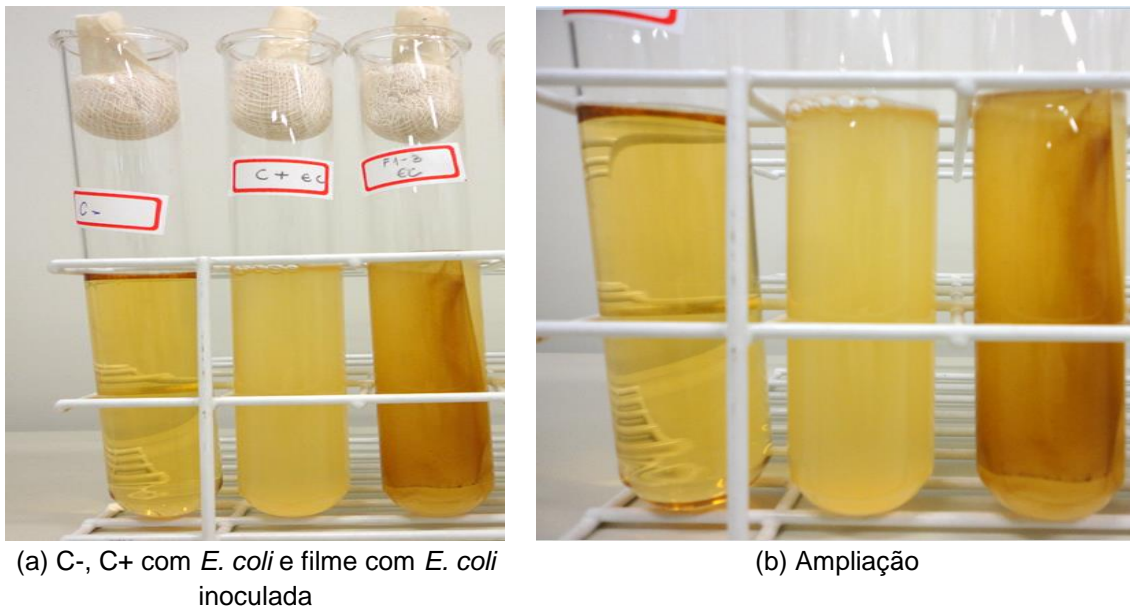


**Figura 71**-Teste de atividade antimicrobiana- Difusão em ágar para o filme de quitosana pura.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes sintetizados foram realizados testes de inibição em meio líquido. Cada micro-organismo testado foi inoculado em tubos de ensaio com capacidade de 50 mL ( $10^6$  UFC/mL de *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*). Este método apresenta a vantagem de propiciar um contato direto entre o meio de cultura e o filme polimérico com prata possibilitando uma maior difusão da mesma para o meio.

Para a realização do teste se fazia necessária a esterilização dos filmes. Usualmente os filmes são esterilizados por radiação UV durante 5 min de cada lado e depois incubados nos tubos de ensaio. Porém, como a prata é fotossensível optou-se por radiação UV apenas por 1 min de cada lado. Esse procedimento foi adotado com cautela, porém, sua utilização foi justificada por Guibal *et al.* (2013) que realizaram testes complementares com fibras de quitosana e celulose contendo prata para verificar a influência da reação de foto-redução nas propriedades antimicrobianas da prata. Os testes foram realizados nas mesmas condições para as fibras com prata reduzida e não reduzida. Não foram observadas diferenças significativas na eficiência antibacteriana após a prata ser foto-reduzida, demonstrando que o estado de oxidação da prata (reduzido ou não) sobre os materiais compósitos teve pouco efeito sobre a sua propriedade antibacteriana.

A Figura 72 representa apenas de forma ilustrativa uma parte dos experimentos, três tubos de ensaios utilizados no teste de inibição em meio líquido. Da esquerda para a direita na Figura 72a os tubos representam: controle negativo, controle positivo com *E. coli* inoculada e uma amostra de filme com *E. coli* inoculada. A Figura 72b é apenas uma ampliação da 72a que mostra que o filme ficou totalmente imerso no meio.



**Figura 72**-Teste antimicrobiano em meio líquido.

As Figuras 73-76 apresentam os testes de inibição em meio líquido dos filmes poliméricos sintetizados neste trabalho contra os micro-organismos patogênicos *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*.

Observou-se que contra todos os micro-organismos testados não houve inibição microbiana significativa dos filmes de quitosana pura. Outros autores, como Pranoto *et al.* (2005), Rodrigues (2008) e Fernandez-Saiz *et al.* (2009) também não observaram atividade inibitória dos filmes de quitosana contra *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* e *B. cereus*. Estes autores atribuíram este resultado ao fato de que não ocorreu migração de agentes ativos, ou seja, a fração solúvel protonada da quitosana, que é liberada da partícula sólida em contato com uma fase líquida, em um teste antimicrobiano que deveria atuar como biocida não foi liberado. Assim, a atividade microbiana dos filmes de quitosana insolúveis é muito pequena porque a interação dos

grupos protonados da quitosana com os grupamentos negativos da parede celular microbiana são muito fracos (PELLISSARI *et al.*, 2009).

Segundo Fernandez-Saiz *et al.* (2009) a quitosana apresenta propriedades biocidas ótimas apenas na forma de gel ou em soluções, pois nestas condições os grupos amina do biopolímero estão quase totalmente protonados. López-Caballero *et al.* (2005) também investigaram o efeito antimicrobiano da quitosana sobre o crescimento de bactérias Gram-negativas e verificaram que a adição de quitosana na cultura bacteriana resultou na não inibição do crescimento microbiano, resultado atribuído à fraca solubilidade da quitosana em pH neutro e à presença de grupos amina não carregados (PEREDA *et al.*, 2011).

Há outros fatores que devem ser considerados para que a quitosana apresente propriedades antimicrobianas, tais como a massa molar (10000 a 100000 Da), o grau de desacetilação ou aumento dos grupos aminos ionizáveis, do hospedeiro, solventes ácidos, a disponibilidade de lípidos e proteínas como interferências, o pH, o pKa, a carga de superfície, a concentração da quitosana, a força iônica da matriz, o tempo de reação, a capacidade quelante e os tipos de bactérias (RABEA *et al.*, 2003).

A liberação de prata a partir dos curativos em contato com o meio pode ocorrer por meio de três mecanismos: pela troca dos íons prata com os íons sódio e cálcio encontrados no exsudato, pela quelação dos íons prata com moléculas de proteínas presentes no exsudato, e pela migração das partículas de prata, que podem se destacar da matriz do curativo e serem transportadas para o exsudato (QIN, 2005 *apud* GIRATA, 2011).

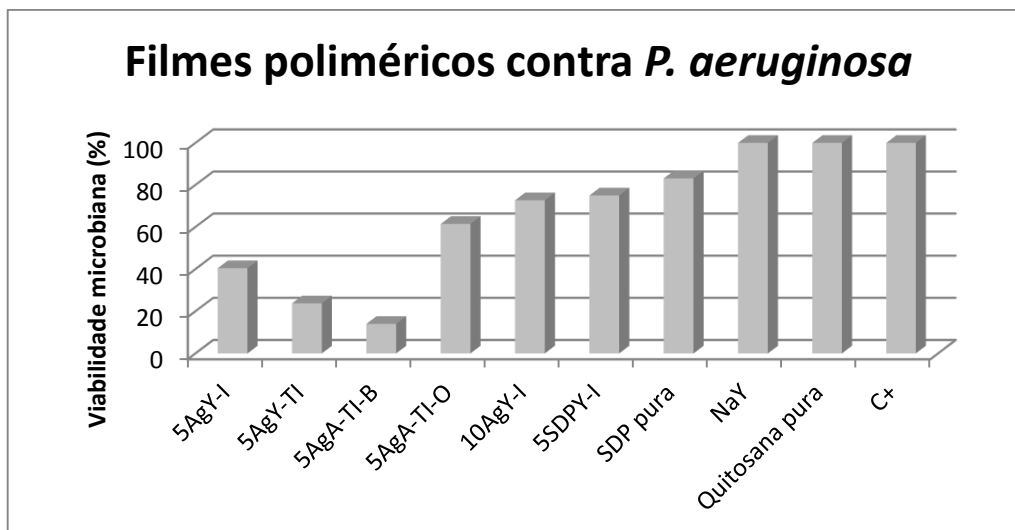


Figura 73-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra *P. aeruginosa*.

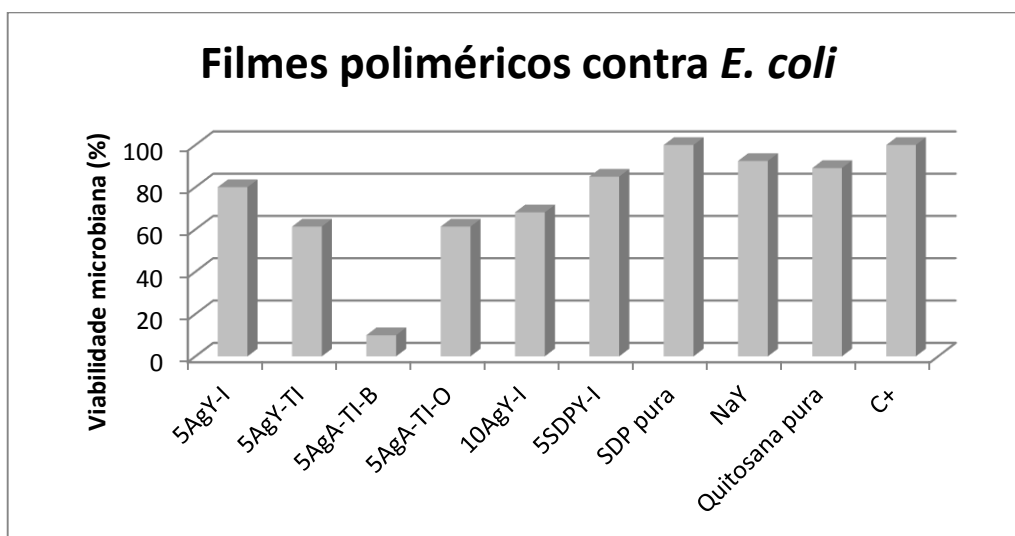


Figura 74-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra *E. coli*.

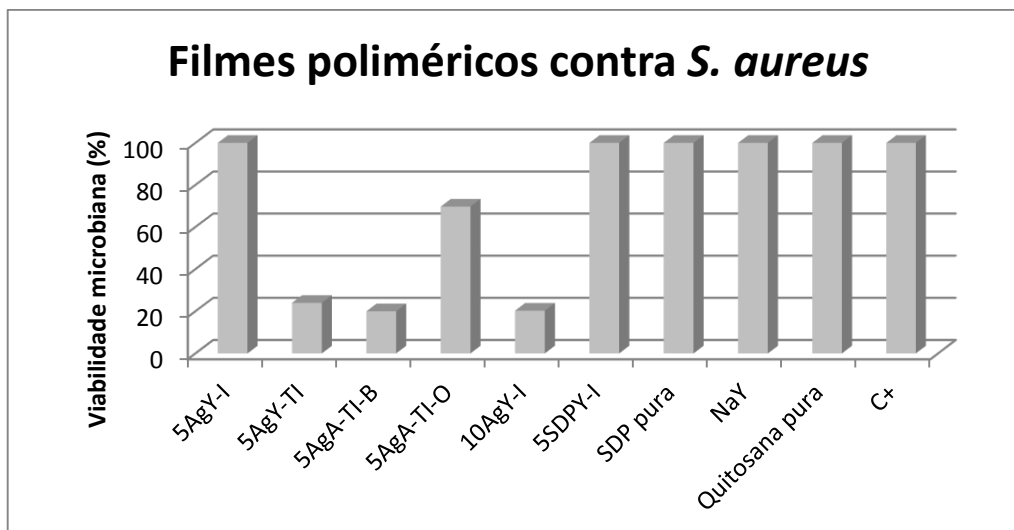


Figura 75-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra *S. aureus*.

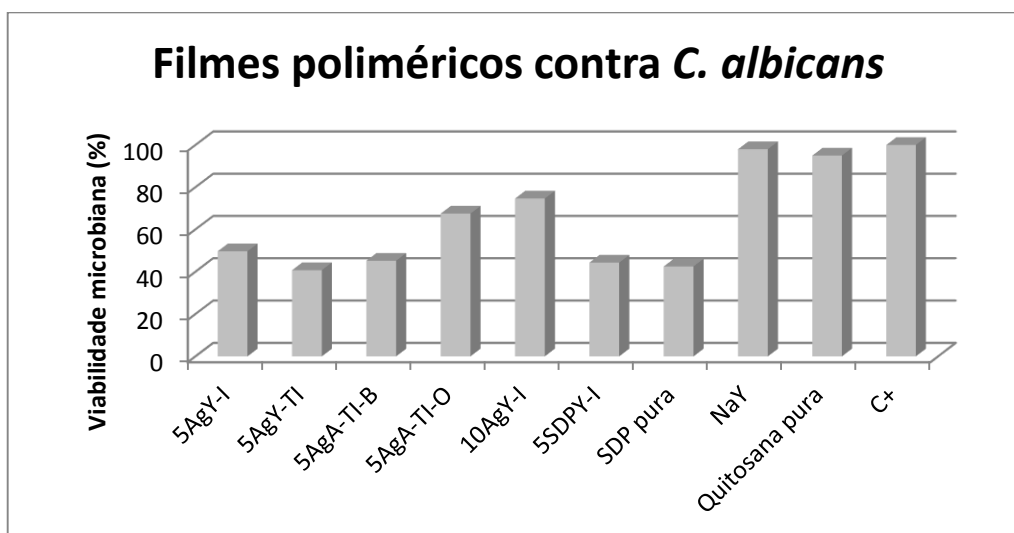


Figura 76-Teste de inibição em meio líquido de filmes contra *C. albicans*.

Na seção 4.2.14 observou-se que em solução simulada de exudato de ferida o filme com 5AgA-TI-O apresentou a maior taxa de liberação de prata devido aos seus grandes *clusters* de prata formados na superfície da zeólita que foi incorporada à solução filmogênica. Observa-se que o efeito antimicrobiano deste filme foi menor do que para os filmes com 5AgA-TI-B, 5AgY-TI e 5AgY-I para a maioria das linhagens testadas. Essa diferença se deve ao fato de que o meio de cultura influencia na forma como a prata é liberada a partir dos materiais contendo prata. Lalueza *et al.* (2011b) estudaram a influência do meio de cultura, YNB e TSB, na taxa de liberação de prata. Observou que como o meio YNB contém uma composição definida de sais,

vitaminas, aminoácidos e uma fonte de nitrogênio para o crescimento da levedura e TSB é um caldo de cultura utilizado para cultivar as bactérias aeróbias contendo caseína enzimática hidrolisada, papaína da soja, dextrose e uma alta quantidade de cloreto de sódio e fosfato dipotássico, a quantidade de prata libertada é entre 6 e 7 vezes superior em meio TSB do que YNB, a qualquer momento.

Matsumura *et al.* (2003) afirmaram que diversas substâncias influenciam na ação antimicrobiana da zeólita com prata e do nitrato de prata, por exemplo, a presença de cloreto de sódio inibe substancialmente a atividade da prata. Porém, Gupta *et al.* (1998 *apud* MATSUMURA *et al.*, 2003) relataram um efeito bactericida sinérgico entre a prata e altas concentrações de íons clorídrico contra *E. coli* resultando na formação de  $\text{AgCl}_2^-$  e  $\text{AgCl}_3^-$  solúveis, com um aumento da atividade. Neste trabalho, não foi observada essa sinergia.

Outros fatores que devem ser levados considerados quando se compara a quantidade de prata liberada pelo teste dado na seção 4.2.14 e pelo teste de atividade antimicrobiana em meio líquido é que neste segundo teste, o crescimento bacteriano altera a viscosidade do meio e, por conseguinte, altera a taxa de difusão de  $\text{Ag}^+$  a partir da zeólita. O meio TSB pode interferir com o sequestro de íons  $\text{Ag}^+$  através de quelação ou pela interação com proteínas (LALUEZA *et al.*, 2011a).

Os filmes com zeólitas 5AgA-TI-B, 5AgY-TI e 5AgY-I foram os que apresentaram as maiores inibições para todos os micro-organismos testados. O filme com zeólita 5AgA-TI-B foi o que apresentou a maior atividade antimicrobiana devido ao elevado teor de prata, não estando este apenas em sua superfície na forma de *clusters*, mas também dentro dos canais e cavidades zeolíticas indicando uma liberação controlada de íons prata para o meio de cultura, e conseqüentemente inibindo maiores taxas de micro-organismos patogênicos.

Observa-se que contra *C. albicans* e *P. aeruginosa* o filme com zeólita 10AgY-I apresentou menor inibição do que o filme com zeólita 5AgY-I. Pode-se constatar que a eficiência de um curativo feito a partir de filmes poliméricos que contêm prata é determinada pela quantidade total solubilizável de prata e não pela quantidade no curativo (DUNN e EDWARDS-JONES, 2004 *apud* GIRATA, 2011). A quantidade de prata adicionada na zeólita não necessariamente é a



quantidade de prata liberada na ferida e, para que esteja biologicamente ativa, ela deve estar na sua forma solúvel como  $Ag^+$  ou aglomerados de  $Ag^0$  (DUNN e EDWARDS-JONES, 2004 *apud* GIRATA, 2011).

Como esperado, já que o filme de quitosana não apresentou atividade antimicrobiana, o filme com zeólita NaY também não apresentou atividade contra nenhum micro-organismo testado, reforçando a afirmação de que a prata é a responsável pela atividade biocida dos filmes confeccionados.

Filmes com sulfadiazina de prata ou zeólitas impregnadas com sulfadiazina de prata apresentaram atividade contra a proliferação de *C. albicans* e uma atividade mais reduzida contra as linhagens bacterianas. Fajardo *et al.* (2013) sintetizaram curativos à base de sulfadiazina de prata/quitosana/sulfato de condroitina e observaram alta atividade antimicrobiana frente a *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Assim, constata-se que a quantidade de sulfadiazina de prata adicionada foi relativamente baixa, sendo necessária uma maior quantidade a fim de se obter uma maior atividade antimicrobiana.

O teor de 5% de prata nas zeólitas foi adicionado mediante prévia revisão bibliográfica e testes preliminares. O aumento de zeólita, mesmo com a utilização de plastificantes resulta em filmes frágeis e extremamente quebradiços resultando em propriedades mecânicas inviáveis para aplicação como curativos para queimaduras. Porém, como exposto anteriormente, maiores quantidades de prata não necessariamente acarretam maiores quantidades de prata liberada ativa e deve-se atentar ao fato de que um aumento exorbitante da quantidade de prata pode levar a um aumento muito brusco dos custos do filme inviabilizando a produção deste curativo. O ideal seria a realização de mais estudos variando a quantidade de prata ou SDP trocada ou impregnada na zeólita para a síntese dos filmes poliméricos juntamente com os testes de liberação de prata em meio TSB e testes antimicrobianos em meio líquido para se obter uma condição ideal de teor de prata a ser utilizado.

# CAPÍTULO V

## CONCLUSÕES

Os filmes poliméricos de quitosana com Ag-zeólita mostram-se como materiais potenciais e inovadores para o desenvolvimento de um novo curativo para o tratamento de queimaduras com liberação controlada de prata para a erradicação de micro-organismos patogênicos combinado com as propriedades cicatrizantes da quitosana.

O processo de troca iônica ou impregnação não modifica a morfologia das zeólitas de partida, com exceção da zeólita 5AgA-TI-O que apresentou *clusters* superficiais de prata e 5SDPY-I que apresentou a sulfadiazina impregnada na forma de agulhas. A semelhança entre os difratogramas de DRX e os espectros de FTIR das zeólitas de partida e as modificadas após o processo de troca iônica com prata confirmam a não modificação estrutural após a adição de prata em sua estrutura. As amostras impregnadas apresentaram bandas características de nitrato em seus espectros de FTIR.

Para todas as Ag-zeólitas testadas observa-se que as espécies Gram-negativas (*P. aeruginosa* e *E. coli*) foram mais suscetíveis à ação da prata do que a bactéria Gram-positiva (*S. aureus*), sendo esta diferença resultante da maior quantidade de peptidoglicano na parede celular das gram-positivas, a qual confere maior resistência à ação da prata. As amostras zeolíticas sintetizadas neste trabalho contra *P. aeruginosa* e *S. aureus* obedecem a seguinte ordem: 5AgA-TI-B>10AgY-I>5AgY-TI>5AgY-I>5AgA-TI-O. Esta ordem pode ser explicada como um resultado da facilidade com que os íons Ag<sup>+</sup> são gerados em cada material.

O filme de quitosana pura apresentou-se como um filme compacto, sem defeitos apreciáveis e ausência de macroporos. Os filmes com Ag-zeólitas apresentaram-se mais opacos e em algumas formulações apresentaram-se mais rígidos, alterações que puderam ser observadas nas análises de cor e propriedades mecânicas. Pelas análises de microscopia eletrônica de varredura, verificou-se que houve sedimentação parcial das zeólitas adicionadas nos filmes poliméricos. Praticamente todas as micrografias dos

filmes com zeólitas incorporadas apresentaram fissuras que podem ser atribuídas à possível mudança física, ou possível interação física entre as partículas de zeólita e as cadeias poliméricas, que alteraram os difratogramas de DRX e os espectros de FTIR.

Os valores de Taxa de Permeação de vapor úmido para os filmes de quitosana e para os filmes com zeólita incorporados apresentaram valores coerentes com os encontrados para curativos comerciais. A incorporação de zeólitas Y impregnadas ou trocadas com prata aumentou o módulo de Young e a tensão de ruptura e diminuiu a porcentagem de alongação, pois a presença de zeólitas promoveu interações eletrostáticas entre os polímeros e as zeólitas, restringindo a mobilidade das cadeias poliméricas. Como a interação entre zeólita-cadeia de quitosana foi mais fraca para as zeólitas A trocadas com prata observou-se uma diminuição dos valores de resistência à tração e módulo de Young e maiores valores de tensão de alongação em relação ao filme de quitosana pura.

Os filmes com zeólitas 5AgA-TI-B, 5AgY-TI e 5AgY-I foram os que apresentam as maiores inibições para todos os micro-organismos testados. O filme com zeólita 5AgA-TI-B foi o que apresentou a maior atividade antimicrobiana exibindo as maiores taxas de inibição contra os micro-organismos patogênicos mais comuns em infecções de queimaduras. Todos os filmes poliméricos sintetizados neste trabalho mostraram-se muito efetivos como barreira contra micro-organismos patogênicos apresentando uma grande capacidade de impedir infecções de bactérias e fungos na ferida de queimadura proveniente do ambiente externo.

O melhor resultado, de uma maneira geral, foi obtido para o filme com 5AgA-Ti-B por apresentar a maior inibição microbiana, filmes flexíveis e menos rígidos quando comparado com os outros filmes sintetizados e por apresentar uma liberação lenta e controlada de íons prata para o meio.

# CAPÍTULO VI

## REFERÊNCIAS

ACTION- **Software de estatística livre**, <disponível em <http://www.portaction.com.br/>, acessado em 09/03/2014>.

AICKIN, S.; DELBONO, M.; LINDSAY, L.; MISTRY, P.; CLARK, R.; CULLEN, B. Evaluating Current in-vitro Assays for Assessing Fluid Handling Properties of Dressing and their Clinical Relevance. **Wounds UK**, 2010.

ALEMDAROĞLU, C.; DEĞİM, Z.; ÇELEBI, N.; ZOR, F.; ÖZTÜRK, S.; ERDOĞAN, D. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. **Burns**, 32, 319-327, 2006.

ARAÚJO, P. M. A. G.; SANTOS, P. T. A.; SANTOS, P. T. A.; COSTA, A. C. F. M.; ARAÚJO, E. M. **Obtenção de Filmes de Quitosana para Aplicação em Engenharia de Tecido**, Congresso Latino Americano de órgãos artificiais-COLAOB, 2012

ARNAUD, F.; TOMORI, T.; CARR, W.; MCKEAGUE, A.; TERANISHI, K.; PRUSACZYK, K.; McCARRON, R. Exothermic Reaction in Zeolite Hemostatic Dressings: QuikClot ACS and ACS+. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 36, n.10, p. 1708–1713, 2008.

ARSHADY, R. A. **Desk Reference of Function Polymers- Syntheses and Applications**. American Chemical Society, 1996.

ASTM. **Standard test method for relative zeolite diffraction intensity**. American society for testing and material, Designation: D-3906-80, 1991.

ASTM. **Standard test methods of water vapor transmission of materials**. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, E 96-95, 1995b.

ASTM. **Tensile properties of thin plastic sheeting**. Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, D 82, 1995a.

AUERBACH, S. M.; CARRADO, K. A.; DUTTA, P. K. **Handbook of zeolite science and technology**, Marcel dekker, INC, 2003.

AZEVEDO, P. E.; SALDANHA, T. D. P.; NAVARRO, M. V. M.; MEDEIROS, A. C.; GINANI, M. F.; RAFFIN, F. N. Mechanical Properties and Release Studies of Chitosan Films Impregnated with Silver Sulfadiazine. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102 ,p.3462–3470, 2006.

BALASSA L.L.; PRUDDEN J.F. **Applications of chitin and chitosan in wound healing acceleration, in Chitin, Chitosan and Related Enzymes**. Academic Press, San Diego, p.296-305, 1984.

BELLANTONE, M.; WILLIAMS, H. D.; HENCH, L. L. Broad-Spectrum Bactericidal activity of Ag<sub>2</sub>O doped bioactive glass. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 46, n.6, p.1940-1945, 2002.

- BEPPU, M. M.; ARRUDA, E. J.; SANTANA, C. C. Síntese e Caracterização de Estruturas Densas e Porosas de Quitosana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** - p.163-169. 1999.
- BEPPU, M.M.; VIEIRA, R.S.; AIMALI, C.G.; SANTANA, C.C. Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: effect on ion permeability and water absorption. **Journal of Membrane Science**, v. 301, p.126 -130, 2007.
- BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J.M.; FELT, O.; PEPPAS, N.A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.57, p. 19-37, 2004.
- BOSCHETTO, D. L.; LERIN, L.; CANSIAN, R.; PERGHER, S. B. C.; LUCCIO, M. D. Preparation and antimicrobial activity of polyethylene composite films with silver exchanged zeolite-Y. **Chemical Engineering Journal**, v. 204–206, p. 210–216, 2012.
- BRECK DW. **Zeolite molecular sieves: structure, chemistry, and use**. 1ed. NewYork: Wiley; 1974.
- BRITISH STANDARDS BS EN 13726-1, **Test methods for primary wound dressings. In: Part 1: Aspects of Absorbency**, Section 3.3: Fluid Handling Capacity, 2002.
- BROWN, C. D.; KREILGAARD, L.; NAKAKURA, M.; CARAM-LELHAM, N.; PETTIT, D. K.; GOMBOTZ, W. R. e HOFFMAN, A. S. Release of PEGylated granulocyte macrophage colony-stimulating factor from chitosan/glycerol films. **Journal of Controlled Release**, v.72, p.35-46, 2001.
- CAMARGO, F. P. **Inclusão de Sulfadiazina de Prata em  $\beta$ -Ciclodextrina**, Dissertação (Mestrado em Nanociências) – Centro Universitário Franciscano, Santa Maria-RS, 2011.
- CAMPOS, M. G. N.; RAWLS, H. R.; INNOCENTINI-MEI, L. H.; SATSANGI, N. In vitro gentamicin sustained and controlled release from chitosan cross-linked films. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.20, p.537–542, 2009.
- CANER, C.; VERGANO, P.J.; e WILES, J.L. Chitosan film mechanical and permeation properties asaffected byacid, plasticizer, and storage, **Journal of Food Science**, v.63, n.6, p.1049-1053, 1998.
- 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.
- CERVERA, M.F.; KARJALAINEN, M.; AIRAKSINEN, S.; RANTANEN, J.; KROGARS, K.; HEINAMAKI, J.; COLARTE, A.I, YLIRUUSI, J. Physical stability and moisture sorption ofaqueous chitosan–amylose starch films plasticized with polyols. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.58, p.69–76, 2004.
- CHMIELEWSKA, E.; LESNY, J. Selective ion exchange onto Slovakian natural zeolites in aqueous solutions. **Jounal Radioanal Nuclear Chemistry**, v. 293, p. 535–543, 2012.

- CHOI, B. S.; PARK, G. I.; KIM, J. H. Adsorption Equilibrium and Dynamics of Methyl Iodide in a Silver Ion-Exchanged Zeolite Column at High Temperatures. **Adsorption**, v. 7, p. 91–103, 2001.
- COMA, V.; MARTIAL-GROS, A.; GARREAU, S.; COPINET, A.; SALIN, F.; DESCHAMPS, A. Edible Antimicrobial Films Based on Chitosan Matrix. **Journal of food Science**, v.67, n.3,p.1162-1169, 2002.
- CORREIA, P. C.; BRANCO, P. D.; AMARY, A. **Queimaduras: Fisiopatologia, diagnóstico, avaliação e seu tratamento clínico e cirúrgico**. Livraria Atheneu LTDA., São Paulo-SP., 1980.
- COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Advanced Inorganic Chemistry**. 2ed., Interscience, New York, 1996.
- CUIA, Z.; XINGA, W.; LIUA, C.; LIAOA, J.; ZHANG, H. Chitosan/heteropolyacid composite membranes for direct methanol fuel cell. **Journal of Power Sources**, v.188, p.24–29, 2009.
- DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Química- Universidade Estadual de Campinas, 2005.
- DALLAS, P.; SHARMA, V. K.; ZBORIL, R. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.166, p.119–135, 2011.
- DATASUS- **Sistema de Informações Hospitalares do Ministério da Saúde**, <disponível em [www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br), acessado em 08/07/2013>.
- DEDAVID, B. A. **Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores** [recurso eletrônico] – Porto Alegre : EDIPUCRS, 2007. <Disponível em [www.pucrs.br/edipucrs/](http://www.pucrs.br/edipucrs/), acessado em 26 de março de 2014>.
- DEMLING, R.H.; DESANTI, L. **Effects of silver on wound management**. Wounds Suppl. A, p.4–15. 2001.
- DIRIM, S. N.; ÖZDEN, H. O.; BAYINDIRLI, A. Modification of water vapour transfer rate of low density polyethylene films for food packaging, **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 9–13, 2004.
- DUNN K.; EDWARDS-JONES V. Therole of Acticoat TM with nanocrystalline silver in the management of burns. **Burn**, S1–9, p. 3201-3005, 2004.
- ECHER, I. C.; SANTOS, J. B.; PORTO, S. G.; SUZUKI, L. M.; SOSTIZZO, L. R. Z.; ANTONIAZZI, J., L. **Avaliação e tratamento de feridas – orientações aos profissionais de saúde**. Apostila do Hospital de Clínicas- Porto Alegre-RS, 2009.
- EDWARDS-JONES, V.; GREENWOOD, J. E. What's new in burn microbiology? James Laing Memorial Prize Essay 2000, **Burns**, v.29, p.15–24, 2003.

- ESTEVAM, L. S.; DEBONE, H. S.; YOSHIDA C. M. P.; SILVA, C. F. Adsorption of Bovine Serum and Bovine Haemoglobin onto Chitosan Film. **Adsorption Science & Technology**, v.30, n. 8/9, 2012.
- FAJARDO, A. R.; LOPES, L. C.; CALEARE, A. O.; BRITTA, E. A.; NAKAMURA, C. V.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Silver sulfadiazine loaded chitosan/chondroitin sulfate films for a potential wound dressing application. **Materials Science and Engineering C**, v.33, p. 588–595, 2013.
- FERNÁNDEZ, A.; SORIANO, E.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. Migration of Antimicrobial Silver from Composites of Polylactide with Silver Zeolites. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p.183-193, 2010.
- FERNANDEZ-SAIZ, P.; LAGARIN, J. M.; OCIO, M. J. Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.913-921, 2009.
- FERREIRA, E.; LUCAS, R.; ROSSI, L. A.; ANDRADE, D. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v.37, n.1, p.44-51, 2003.
- FERREIRA, L.; FONSECA, A. M.; BOTELHO, G.; ALMEIDA-AGUIAR, C.; NEVES, I. C. Antimicrobial activity of faujasite zeolites doped with silver. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 160, p. 126-132, 2012.
- FIDÉLES, T. B. **Filmes reticulados de quitosana para aplicação com biomaterial**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) –Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2010.
- FIGUEIREDO, J. L.; RIBEIRO, F. R. **Catálise Heterogénea**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1989.
- FLANIGEN, E. D. **Introduction to Zeolite Science and Practice, Studies in Surface Science and Catalysis**. Elsevier, Amsterdam, p. 58, 1991.
- FLANIGEN, E. M.; KHATAMI, H.; SZYMANSKI, H. A. Infrared structural studies on zeolite frameworks. **Advances in Chemistry Series**, v. 101, p.201–228, 1971.
- FONSECA, A. M.; NEVES, I. C. Study of silver species stabilized in different microporous zeolites. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.181, p.83–87, 2013.
- FOTONOSTRA- <disponível em [www.fotonostra.com/grafico/modelncs.htm](http://www.fotonostra.com/grafico/modelncs.htm), acessado em 15/05/2014>
- GAISFORD, S.; BEEZER, A. E.; BISHOP, A. H.; WALKER, M.; PARSONS, D. An in vitro method for the quantitative determination of the antimicrobial efficacy of silver-containing wound dressings. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, p.111–116, 2009.
- GALIETTA, G.; DI, G.; GUILBERT, S.; CUQ, B. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. **Journal of Dairy Science. Savoy**, v.81, n.12, p.3123-3130, 1998.

GARZA, R. M.; OLGUÍN, M. T.; SOSA, I. G.; ALCÁNTARA, D.; FUENTES, G. R. Silver supported on natural Mexican zeolite as an antibacterial material. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.39, p.431-444, 2000.

GEILENS, L. R.; MORTIER, W. J.; UYTTERHOEVEN, J. B. On the nature of the charged silver *clusters* in zeolites of type A, X and Y. **Zeolites**, v.1, p.11-18, 1981.

GIANNETTO PACE, G.; RENDÓN, A. M.; FUENTES, G. R. **Zeólitas: Características, propiedades y aplicaciones industriales**. 2a Ed. Venezuela. Edditorial Innovación Tecnológica – Facultad de Ingeniería, UCV, 2000.

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

GOMES, D. R.; SERRA, M. C.; GUIMARÃES, L. M. J. **Condutas Atuais em queimaduras**. Livraria e Editora REVINTER Ltda, 2001.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten films. **Journal of Food Science**, v.58, p.206–211, 1993.

GUERRA, R.; LIMA, H.; VINIEGRA, M.; GUZMÁN, A.; LARA, V. Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* inhibited by fractal silver nanoparticles supported on zeolites. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.147, p.267–273, 2012.

GUIBAL, E.; CAMBE, S.; BAYLE, S.; TAULEMESSE, J. M.; VINCENT, T. Silver/chitosan/cellulose fibers foam composites: From synthesis to antibacterial properties. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 393, p. 411–420, 2013.

GUISNET, M.; RIBEIRO, F. R. **Zeólitos-um nanomundo ao serviço da catálise**. Fundação Calouste Gulbekian, Lisboa, 2004.

GUPTA, A., M.; MAYNES, A.; SILVER, S. Effects of halides on plasmidmediated silver resistance in *Escherichia coli*. **Apply of Environmental Microbiology**, v.64, p. 5042–5045, 1998.

HABEEB, F.; SHAKI, R. E.; BRADBURY, F.; CAMERON, P.; TARAVATI, M.R.; DRUMMOND, A. J.; GRAY, A. I.; FERRO, V. A. Screening methods used to determine the anti-microbial properties of Aloe vera inner gel. **Methods**, v.42, n. 4, p.315-320, 2007.

HOSSAIN, F.; PERALES-PEREZ, O. J.; HWANG, H.; ROMÁN, F. Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives. **Science of the Total Environment**. v.466–467, p.1047–1059, 2014.

HUANG, L.; DAI, T.; XUAN, Y.; TEGOS, P. G.; HAMBLIN, M. R. Synergistic Combination of Chitosan Acetate with Nanoparticle Silver as a Topical Antimicrobial: Efficacy against Bacterial Burn Infections. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3432–3438, 2011.

HUANG-SHIAN, T.; YEN-ZEN, Z. Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agents. **Polymer Bulletin**, v.60, p. 103–113, 2008.



- INGLEZAKIS, V. J.; HADJIANDREOU, K. J.; LOIZIDOU, M. D.; GRIGOROPOULOU, H. P. Pretreatment of natural clinoptilolite in a laboratory scale ion Exchange packed bed. **Water Research**, v. 35, n. 9, p. 2161-2166, 2001.
- JACOBS, P. A.; UYTTERHOEVEN, J. B.; BEYER, H. K. Some unusual properties of activated and reduced AgNaA zeolites. **Journal of the Chemical Society Faraday Transactions**, v. 73, p.1755-1758, 1977.
- JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; SUDHEESH KUMAR, P. T.; NAIR, S. V., TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v.29, p. 322–337, 2011.
- KAALI, P.; PÉREZ-MADRIGAL, M. M.; STRÖMBERG, E.; AUNE, R. E.; CZÉL, GY.; KARLSSON, S. The influence of Ag<sup>+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> exchanged zeolite on antimicrobial and long term in vitro stability of medical grade polyether polyurethane. **Polymer Letters**, v.5, n.12, p. 1028–1040, 2011.
- KANOKPANONT, S.; DAMRONGSAKKUL, S.; RATANAVARAPORN, J.; ARAMWIT, P. An innovative bi-layered wound dressing made of silk and gelatin for accelerated wound healing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p.141– 153, 2012.
- KARAKEÇILI, A. G.; SATRIANO, C.; GÜMÜSDERELIOĞLU, M.; MARLETTA, G. Surface Characteristics of Ionically Crosslinked Chitosan Membranes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 106, p.3884–3888, 2007.
- KAWAHARA, K.; TSURUDA, K.; MORISHITA, M.; UCHIDA, M. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. **Dental Materials**, v. 16., p; 452-455, 2000.
- KIM, I. Y.; YOO, M. K.; SEO, J. H.; PARK, S. S.; NA, H. S.; LEE, H. C.; KIM, S. K.; CHO, C. S. Evaluation of semi-interpenetrating polymer networks composed of chitosan and poloxamer for wound dressing application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 341, n. 1-2, p. 35-43, 2007.
- KIM, Y.; SEFF, K. Structure of a very small piece of silver metal, the octahedral silver (Ag<sub>6</sub>) molecule. Two crystal structures of partially decomposed vacuum-dehydrated fully silver(1+) ion-exchanged zeolite A. **Journal of the American Chemical Society**, v.99, p.7055 – 7057, 1977.
- KRISHNANI, K. K.; ZHANG, Y.; XIONG, L.; YAN, Y.; BOOPATHY, R.; MULCHANDANI, A. Bactericidal and ammonia removal activity of silver ion-exchanged zeolite. **Bioresource Technology**, v. 117, n. 86–91, 2012.
- KULPRATHIPANJA, S. **Zeolites in Industrial Separation and Catalysis**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010.
- KURITA, K. Chemistry and Application of chitin and chitosan. **Polymer Application and Stability**, v. 59, p.117 -120, 1998.
- KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharidechitin. **Progress in Polymer Science**, v.26, p.1921-1971, 2001.

- KWAKYE-AWUAH, B.; WILLIAMS, C.; KENWARD, M. A.; RADECKA, I. Antimicrobial action and efficiency of silver-loaded zeolite X, **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p.1516–1524, 2008.
- KWEON, H.; HA, H. C.; UM, I. C.; PARK, Y. H. Physical properties of silk fibroin/chitosan blend films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.80, p.928-934, 2001.
- LALUEZA, P.; CARMONA, D.; MONZÓN, M.; ARRUEBO, M.; SANTAMARÍA, J. Strong bactericidal synergy between peracetic acid and silver-exchanged zeolites. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.156, p.171–175, 2012.
- LALUEZA, P.; MONZÓN, M.; ARRUEBO, M.; SANTAMARIA, J. Antibacterial action of Ag-containing MFI zeolite at low Ag loadings. **Chemical Communication**, v.47, p.680–682, 2011a.
- LALUEZA, P.; MONZÓN, M.; ARRUEBO, M.; SANTAMARIA, J. Bactericidal effects of different silver-containing materials. **Materials Research Bulletin**, v. 46, p.2070–2076, 2011b.
- LAMIM, R. **Quitosana e n-carboximetilquitosana: desenvolvimento de biofilmes para aplicações farmacêuticas**. Dissertação de mestrado-Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.
- LAMKE, L. O.; NILSSON, G. E.; REITHNER, H. L. The evaporative water loss from brus and the water-vapour permeability of grafts and artificial membranes used in the treatment of burs. **Burns**, v.3, n.3, p. 159-165, 1977.
- LARI A. R.; ALAGHENBANDAN, R. Nosocomial infections in na Iranian burn care center. **Burns**. v.26, n.8, p.737-40, 2000.
- LI, Q.; MAHENDRA, S.; LYON, D. L.; BRUNET, L.; LIGA, M. V.; LI, D.; ALVAREZ, P. J. J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. **Water Research**, v.42, p. 4591-4602, 2008
- LIN, L.; ZHANG, Y.; ZHANG, H.; LU, F. Adsorption and solvent desorption behavior of ion-exchanged modified Y zeolites for sulfur removal and for fuel cell applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 360, p.753–759, 2011.
- LOIOLA, A. R.; ANDRADE, J. C. R. A.; SASAKI, J. M.; SILVA, L. R. D. Structural analysis of zeolite NaA synthesized by a cost-effective hydrothermal method using kaolin and its use as water softener, **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 367, p.34–39, 2012.
- LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; PÉREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.303-311, 2005.
- MACEDO, J. L. S.; SANTOS, J. B. Complicações infecciosas em pacientes queimados. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v.21, n.2, p.108-11, 2006.
- MACLEOD, G. S.; FELL, J. T.; COLLETT, J. H. Studies on the physical properties of mixed pectin/ethylcellulose films intended for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. Amsterdam, v.157, p.53-60, 1997.

- MARTINEZ, L.; AGNELY, F.; LECLERC, B.; SIEPMANN, J.; COTTE, M.; GEIGER, S.; COUARRAZE. Cross-linking of chitosan and chitosan/poly(ethylene oxide) beads: A theoretical treatment. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 339-348, 2007.
- MATHEW, S.; BRAHMAKUMAR, M.; ABRAHAM, T. E. Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch- chitosan blend films. **Biopolymers**, v.82, p.176-187, 2006.
- MATSUMURA, Y.; YOSHIKATA, K.; KUNISAKI, S.; TSUCHIDO, T. Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.7. p. 4278–4281, 2003.
- MAYORAL, A.; CAREY, T.; ANDERSON, P. A.; DIAZ, I. Atomic resolution analysis of porous solids: A detailed study of silver ion-exchanged zeolite A. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.166, p.117–122, 2013.
- MAYORAL, A.; CAREY, T.; ANDERSON, P. A.; LUBK, A.; DIAZ, I. Atomic Resolution Analysis of Silver Ion-Exchanged Zeolite A. **Angewandte Chemie. International Edition**, v.50, p.11230 –11233, 2011.
- MENDES, S. S. **Degradação fotocatalítica de corantes têxteis reativos utilizando catalisadores suportados em zeolite**. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Maringá, 2013.
- MI, F. L.; WU, B. Y.; SHYU, S. S.; CHAO, A. C.; LAI, J. Y.; SU, C. C. Asymmetric chitosan membranes prepared by dry/wet phase separation: a new type of wound dressing for controlled antibacterial release. **Journal of Membrane Science**, v. 212, p.237–254, 2003.
- MI, F. L.; SHYU, S. S.; WU, Y. B.; LEE, S. T.; SHYONG, J. Y.; HUANG, R. N. Fabrication and characterization of sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. **Biomaterials**, v. 22, p. 165-173, 2001.
- 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.
- MUKOMA, P.; JOOSTE, B. R.; VOSLOO, H. C. M. Synthesis and characterization of cross-linked chitosan membranes for application as alternative proton Exchange membrane materials in fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 136, p.16–23, 2004.
- MUZZARELLI R. A. A. **Amphoteric derivatives of chitosan and their biological significance, in Chitin and Chitosan**, Elsevier Applied Science, London, p.87-99, 1989.
- MUZZARELLI, M. A. A.; MUZZARELLI, C.; TARSİ, R.; MILIANI, M.; GABBANELLI, F.; CARTOLARI, M. Fungistatic Activity of Modified Chitosans against *Saprolegnia* parasítica. **Biomacromolecules**, v. 2, p. 165-169, 2001.
- ONG, Y. S.; WU, J.; MOOCHHALA, S. M.; TAN, M. H., LU, J. Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties. **Biomaterials**, v. 29, p. 4323–4332, 2008.

- OSTROWSKA-CZUBENKO, J.; GIERSZEWSKA-DRUŻYŃSKA, M. Effect of ionic crosslinking on the water state in hydrogel chitosan membranes. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p.590–598, 2009.
- PARK, S. I.; MARSH, K. S.; DAWSON, P. Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. **Meat Science**, v.85, p.493–499, 2010.
- PASCAT, B. **Food packaging and preservation: theory and practice**. London: Elsevier Applied Science, p. 7–20, 1986.
- PEHLIVAN, H., BALKÖSE, D., ÜLKÜ, S., TIHMINLIOĞLU, F. Characterization of pure and silver exchanged natural zeolite filled polypropylene composite films. **Composites Science and Technology**, v. 65, p. 2049–2058, 2005.
- PELISSARI, F.M.; GROSSMANN, M.V.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E. A. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal Agriculture Food**, v. 57, n.16, p.7499-7504, 2009.
- PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; RUSECKAITE, R. A.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p.1372-1381, 2011.
- PHILLIPS, P. **Relatório de Teste, Surgical Material Testing Laboratory**. Princess of Wales Hospital, Reino Unido, 2009.
- PINTO, A. C.; OLIVEIRA, C. H.; RIBEIRO, N. M. Efeito de microondas na estrutura cristalina e na atividade catalítica de argilas. **Química Nova**, v.31, n.3, p.562-568. 2008.
- PRANOTO, Y.; RAKSHIT, S. K.; SALOKHE, V. M. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT. Food Science Technology**, v.38, p.859-865, 2005.
- QIN, Y. Silver-containing alginate fibres and dressings. **International Wound Journal**; v.2, n.2, p.172—176, 2005.
- QUINN, K. J.; COURTNEY, J. M.; EVANS, J. H.; GAYLOR, J. D. S.; REID, W. H. Principles of burn dressings. **Biomaterials**, v.6, p. 369-377, 1985.
- RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v.4, p.1457–1465, 2003.
- RAVI KUMAR. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.
- REMUÑÁN-LÓPEZ C.; BODMEIER R. Mechanical, water uptake and permeability properties of crosslinked chitosan glutamate and alginate films. **Journal of Controlled Release**, v. 44, p. 215-225, 1997.
- ROBERTSON, G. L. **Optical and mechanical properties of thermoplastic polymers in Food Packaging: Principles and Practice**, New York, Marcel Dekker, p. 63-107, 1993.

- RODRIGUES, A. P. **Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões**. Tese de Doutorado - Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- RODRIGUEZ-FUENTES, G.; RUIZ-SALVADOR, A. R.; PICAZO, M. M.; QUINTANA, G.; DELGADO, M. Thermal and cation influence on IR vibrations of modified natural clinoptilolite. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 20 p.269-281, 1998.
- RUIZ-CARDONA, L.; SANZGIRI, Y. D.; BENEDETTI, L. M.; STELLA, V. J.; TOPP, E. M. Application of benzyl hyaluronate membranes as potential wound dressings: evaluation of water vapour and gas permeabilities. **Biomaterials**, v.17, n.16, p.1639-1643, 1996.
- RUSSO, A. C. **Tratamento de queimadura**. 2ed., Editora Sarvier, São Paulo-SP., 1976.
- SAINT-CRICQ, P.; KAMIMURA, Y.; ITABASHI, K.; SUGAWARA-NARUTAKI, A.; SHIMOJIMA, A.; OKUBO, T. Antibacterial Activity of Silver-Loaded "Green Zeolites". **European Journal of Inorganic Chemistry**, v.8, p. 3398–3402, 2012.
- SAJOMSANG, W. Synthetic methods and applications of chitosan containing pyridylmethyl moiety and its quaternized derivatives: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.80, p. 631–647, 2010.
- SALAVATI-NIASARI, M. Synthesis and characterization of 18- and 20-membered hexaaza macrocycles containing pyridine manganese(II) complex nanoparticles dispersed within nanoreactors of zeolite-Y. **Polyhedron**, v.28 p.2321–2328, 2009.
- SANTOS, G. H.; DEBONE, H.; FELISBINO, R. F.; YOSHIDA, C. M. P.; SILVA, C. F. **Filmes compósitos de quitosana e zeólitas zsm5: análise textural e propriedades de barreira ao vapor d'água**. EBA9-Encontro Brasileiro de Adsorção e Simpósio Ibéro-Americano sobre adsorção, 2012a.
- SANTOS, G. H.; DEBONE, H.; YOSHIDA, C. M. P.; SILVA, C. F.; FELISBINO, R. F. **Avaliação das propriedades mecânicas e de barreira de filmes de quitosana contendo zeólitas para aplicação em curativos**. XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Búzios-RJ, 2012b.
- SEITZ, J. A.; MEHTA, S. P.; YEAGER, J. L. **Teoria e prática na Indústria Farmacêutica**. Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, v. 2., 2001.
- SEIXAS, F. L. **Extração de pectina das cascas de maracujá amarelo (*passiflora edulis f.flavicarpa*) e aplicação na confecção de biofilmes compostos**. Dissertação de mestrado- Universidade Estadual de Maringá, 2011.
- SENEL, S.; MCCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p.1467-1480, 2004.
- SHAMELI, K.; AHMAD, M. B.; ZARGAR, M.; YUNUS, W. M. Z. W.; IBRAHIM, N. A. Fabrication of silver nanoparticles doped in the zeolite framework and antibacterial activity. **International Journal of Nanomedicine**, v.6, p.331–341, 2011.

- SHI, H.; LUIN, F.; XUE, L. Fabrication and characterization of antibacterial PVDF hollowfibre membrane by doping Ag-loaded zeolites. **Journal of Membrane Science**, v. 437, p. 205–215, 2013.
- SHU, X. Z.; ZHU, K. J.; SONG, W. Novel pH-sensitive citrate cross-linked chitosan film for drug controlled release. **International Journal of Pharmaceutics**, v.212, p.19-28, 2001.
- SILVA, C. F. **Filmes de quitosana contendo fitoterápicos para aplicação como curativos cicatrizantes**. Relatório Final do Projeto FAPESP (2010/17.721-4), 2010.
- SILVA, C. F.; FERNANDES-MACHADO, N. R. C. Estudo da troca iônica em zeólita Y. **Revista Unimar**, v.16, n.3, p.463-479,1994.
- SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. São Paulo, SP: Cengage Learning, 2006.
- SOBRAL, P.J.A, MENEGALLI, F.C., HUBINGUER, M.D., ROQUES, M.A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, 3-4(15), p.423-32, 2001.
- SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. Coli as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.275, p.177–182, 2004.
- SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Water vapor permeability and solubility of films from hydrolyzed whey protein. **Journal of Food Science**, v.65, n.4, p.700-703, 2000.
- SRINIVASA, P. C.; RAMESH, M. N.; THARANATHAN, R. N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1113–1122, 2007.
- SUZUKI, Y.; OKAMOTO, Y.; MORIMOTO, M.; SASHIWA, H.; SAIMOTO, H.; TANIOKA, S.; SHIGEMASA, Y.; MINAMI, S. Influence of physicochemical properties of chitin and chitosan on compliment activation. **Carbohydrates Polymers**, v.42, p.307–310, 1994.
- SZEJTLI, J. Introduction and General overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**, v. 18, p. 1743-1753, 1998.
- THOMAS, S.; YOUNG S. Exudate-handling mechanisms of two foam-film dressings. **Journal of Wound Care**, v.17, n. 7, p.309-315, 2008.
- TOLAIMATE, A.; DESCRIÈRES, J.; RHAZI, M.; ALAGUI, A.; VINCENDON, M.; VOTTERO, P. On the influence of desacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. **Polymer**, v. 41, p. 2463-2469, 2000.
- TOUNSI, H.; MSEDDEI, S.; DJEMEL, S. Preparation and characterization of Na- LTA zeolite from Tunisian sand and aluminum scrap. **Physics Procedia**, v.2: p.1065–1074, 2009.
- TSAI, H.S.; WANG, Y. Z. Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agents. **Polymer Bulletin**, v. 60, p. 103 -113, 2008.

- UENO, H.; MURAKAMI, M.; OKUMURA, M.; KADOSAWA, T.; UEDE, T.; FUJINAGA, T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. **Biomaterials**, v.22, p.1667–1673, 2001.
- UENO, H.; YAMADA, H.; TANAKA, I.; KABA, N.; MATSUURA, M.; OKUMURA, M.; Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. **Biomaterials**, v.20, p.1407-14, 1999.
- URAGAMI, T.; TOKURA, S. **Materials Science of Chitin and Chitosan**. Japan: Kodansha Ltd., 2006.
- VAN HOOFF, J. H. C.; ROELOFSEN, J. W. Techniques of Zeolite Characterization. **Studies in Surface Science and Catalysis**, v. 58, p.241-283, 1991.
- VICENTINI, D. S.; DE LIMA, J. C.; LARANJEIRA, M. C. M. Efeitos da incorporação de peneiras moleculares 3a, 4a, 5a e 13x em membranas compósitas de quitosana/poli(vinil álcool). **Química Nova**, v. 33, n. 2, p.249-254, 2010.
- 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.
- WANG, G.; AO, Q.; GONG, K.; WANG, A.; ZHENG, L.; GONG, Y.; ZHANG, X. The effect of topology of chitosan biomaterials on the differentiation and proliferation of neural stem cells. **Acta Biomaterialia**, v.6, p.3630-3639, 2010a.
- WANG, J., ZHENG, X., WU, H., ZHENG, B., JIANG, Z., HAO, X., WANG, B., Effect of zeolites on chitosan/zeolite hybrid membranes for direct methanol fuel cell, **Journal of Power Sources**, v. 178, p. 9–19, 2008a.
- WANG, J.; ZHENG, H.; JIANG, Z.; YANG, X.; XIAO, L.; Tuning the of direct methanol fuel cell membranes by embedding multifunctional inorganic microspheres into polymer matrix. **Journal of Power Sources**, v.188, p.64-74, 2009.
- 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.
- WANG, Y.; JIANG,Z., LI, H.; YANG, D. Chitosan membranes filled by GPTMS-modified zeolite beta particles with low methanol permeability for DMFC. **Chemical Engineering and Processing**, v. 49, p. 278–285, 2010b.
- WANG, Y.; YANG, D.; ZHENG, X.; JIANG, Z.; LI, J. Zeolite beta-filled chitosan membrane with low methanol permeability for direct methanol fuel cell. **Journal of Power Sources**, v. 183, p. 454–463, 2008b.
- WANI, M. Y.; HASAN, N.; MALIK, M. A. Chitosan and Aloe Vera: Two Gifts of Nature. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 31, p. 799–811, 2010.
- WEITKAMP, J.; PUPPE, L. **Catalysis and Zeolites: Fundamentals and Applications**, New York. Springer-Berlag Berlin Heidelberg, 1999.
- WHANG, H. S.; KIRSCH, W.; ZHU, Y. H.; YANG, C. Z.; HUDSON, S. M. Hemostatic Agents Derived from Chitin and Chitosan. **Journal of Macromolecular Science Part C: Polymer Reviews**, v.45, p.309–323. 2005.

- WITTAYA-AREEKUL, S., PRAHSARN, C. Development and in vitro evaluation of chitosan-polysaccharides composite wound dressings. **International Journal of Pharmaceutics**, v.313, n1-2, p.123-128, 2006.
- WU, H.; ZHENG, B.; ZHENG, X.; WANG, J.; YUAN, W.; JIANG, Z. Surface-modified Y zeolite-filled chitosan membrane for direct methanol fuel cell. **Journal of Power Sources**, v. 173, p.842–852, 2007.
- WU, P.; FISHER, A. C.; FOO, P. P.; QUEEN, D. E.; GAYLOR, J. D. S. In vitro assessment of water vapour transmission of synthetic wound dressings. **Biomaterials**, v. 16, n.3, p.171-175, 1995.
- WU, Y. B.; YU, S. H.; MI, F. L.; WU, C. W.; SHYU, S. S.; PENG, C. K.; CHAO, A. C. Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends. **Carbohydrate Polymers**, v.57, p.435-440, 2004.
- XU, R.; PANG, W.; YU, J.; HUO, Q.; CHEN, J. **Chemistry of zeolite and related porous materials**, Wiley – Interscience: Weinheim, 2007.
- XU, Y.X.; KIM, K.M.; HANNA, M. A.; NAG, D. Chitosan-starch composite film: preparation and characterization. **Industrial Crops and Products**, v.21, p.185-192, 2005.
- YAMADA, H.; YOKOYAMA, S.; WATANABE, Y.; UNO, H.; TAMURA, K. Micro-cubic glass from pseudomorphism after thermal treatment of ammonium-exchanged zeolite A. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 6, p. 394–398, 2005.
- YANNAS, I. V.; BURKE, J. F. Design of an artificial skin Basic design principles. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.14, p.65-81, 1980.
- YU, L.; GONG, J.; ZENG, C.; ZHANG, L. Preparation of zeolite-A/chitosan hybrid composites and their bioactivities and antimicrobial activities. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, p. 3652–3660, 2013.
- YUANA, W.; WU, H.; ZHENG, B.; ZHENG, X.; JIANG, Z.; HAO, X.; WANG, B. Sorbitol-plasticized chitosan/zeolite hybrid membrane for direct methanol fuel cell. **Journal of Power Sources**, v. 172, p. 604–612, 2007.
- ZAMECHEK, W. **Determination of the elemental composition of zeolitic materials. Verified Syntheses of Zeolitic Materials**, Ed. Elsevier Science, 2001.
- ZHOU, M.; LIU, X.; ZHANG, B.; ZHU, H. Assembly of Oriented Zeolite Monolayers and Thin Films on Polymeric Surfaces via Hydrogen Bonding. **Langmuir**, v. 24, p. 11942-11946, 2008.



# APÊNDICE A

## Distâncias interplanares e intensidade relativa

Zeólita 5AgY-I			Zeólita 5AgY-TI			Zeólita 5AgA-TI-B		
$2\theta$	d (Å)	$I/I_0$ (%)	$2\theta$	d (Å)	$I/I_0$ (%)	$2\theta$	d (Å)	$I/I_0$ (%)
6,229	1,417,772	100,0	6,305	1,400,790	100,0	7,304	1,209,337	100,0
10,163	869,657	13,2	10,248	862,517	5,7	10,285	859,386	18,5
11,921	741,806	13,4	12,006	736,575	3,5	12,578	703,170	9,1
15,666	565,223	19,3	12,538	705,441	1,9	14,521	609,524	12,1
17,606	503,353	2,0	14,472	611,567	2,3	16,229	545,719	21,2
18,693	474,319	10,3	15,771	561,467	8,2	20,541	432,027	7,2
20,367	435,679	12,3	17,735	499,704	1,7	21,489	413,194	3,4
22,791	389,872	5,5	18,391	482,019	3,9	21,784	407,647	14,2
23,641	376,035	30,6	18,807	471,454	4,3	22,983	386,647	3,6
23,905	371,944	5,6	20,475	433,413	3,5	24,098	369,015	15,9
24,993	355,997	2,6	21,746	408,351	1,4	25,189	353,275	5,4
25,769	345,445	2,6	22,916	387,768	2,5	26,225	339,544	3,4
27,037	329,529	18,3	23,760	374,175	15,1	27,223	327,318	21,4
27,778	320,904	3,8	24,035	369,964	6,5	30,048	297,160	28,3
29,619	301,362	6,3	25,898	343,762	1,6	30,936	288,823	5,3
30,739	290,636	8,1	27,158	328,092	7,3	31,826	280,948	3,5
31,386	284,784	16,2	27,877	319,788	3,3	32,658	273,982	9,7
32,450	275,689	6,6	29,751	300,055	2,5	33,461	267,587	3,5
33,066	270,692	4,6	29,972	297,896	1,6	34,280	261,378	17,3
34,077	262,885	6,7	30,855	289,563	5,1	35,860	250,213	5,8
34,655	258,635	4,1	31,509	283,705	7,8	36,608	245,273	4,4
35,639	251,719	2,6	32,564	274,750	6,5	38,099	236,009	4,1
36,213	247,855	2,2	33,182	269,769	3,1	39,527	227,806	3,2
37,144	241,858	2,4	33,462	267,578	1,5	41,624	216,803	5,9
37,683	238,520	2,5	34,194	262,016	3,4	42,290	213,541	5,3
37,878	237,334	4,4	34,787	257,687	3,1	42,940	210,457	3,4
38,083	236,103	2,7	35,758	250,906	2,2	43,595	207,447	2,9
40,527	222,415	2,1	36,333	247,065	1,1	44,260	204,483	4,2
41,377	218,038	4,1	37,256	241,155	1,5	47,398	191,649	3,6
41,869	215,587	2,5	37,819	237,691	1,3	47,985	189,442	2,5
43,213	209,190	3,4	38,002	236,589	2,3	49,202	185,037	2,4
44,012	205,576	2,6	39,431	228,340	1,3	49,790	182,986	2,7
47,130	192,676	2,3	41,512	217,359	3,2			
47,726	190,407	2,2	42,009	214,901	2,0			
50,545	180,429	2,0	42,848	210,887	1,2			
			43,334	208,633	1,9			
			47,272	192,131	1,5			
			50,686	179,963	1,3			

Zeólita 10AgY-I

2θ	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
6,249	1,413,258	100,0
10,178	868,392	18,6
11,939	740,698	36,0
13,963	633,747	16,3
14,393	614,885	18,0
15,697	564,087	48,2
17,657	501,900	18,0
18,722	473,572	22,7
20,395	435,100	27,8
22,835	389,123	19,2
23,680	375,426	31,5
23,916	371,770	14,8
25,019	355,629	12,4
25,819	344,792	12,1
26,710	333,492	65,5
27,074	329,081	17,9
27,558	323,420	11,0
28,034	318,030	21,0
29,669	300,863	12,8
30,780	290,257	10,5
31,445	284,263	19,3
32,525	275,072	10,1
33,110	270,338	9,4
34,116	262,600	8,6
34,661	258,590	8,6
38,175	235,556	20,2
40,562	222,229	7,8
42,770	211,254	6,9
44,382	203,949	9,5
46,783	194,023	5,8

Zeólita 5AgA-TI-O

2θ	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
7,230	1,221,700	100,0
8,883	994,720	5,3
10,210	865,722	19,8
12,505	707,285	11,1
13,999	632,096	3,6
14,448	612,559	11,3
16,159	548,064	21,3
17,814	497,520	3,2
20,473	433,461	6,3
21,406	414,767	4,7
21,713	408,980	15,3
22,915	387,789	3,5
23,312	381,265	3,2
24,034	369,979	15,9
25,128	354,115	5,2
26,169	340,255	3,6
26,659	334,113	5,5
27,163	328,033	22,1
29,097	306,653	3,7
29,988	297,739	27,1
30,877	289,368	6,1
31,776	281,384	3,8
32,595	274,491	10,9
33,404	268,028	4,1
34,221	261,818	16,3
35,809	250,559	7,0
36,562	245,570	5,2
38,043	236,343	4,6
39,489	228,017	3,3
41,567	217,086	6,4
42,234	213,810	5,1
42,879	210,743	3,4
43,553	207,634	3,3
44,204	204,729	4,4
47,357	191,807	3,4
47,947	189,584	2,7
49,161	185,182	3,1
49,763	183,082	2,9

Zeólita NaY

2θ	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
6,247	1,413,788	100,0
10,186	867,757	15,2
11,942	740,478	10,6
14,402	614,512	1,5
15,699	564,020	24,9
17,658	501,862	1,5
18,306	484,238	2,2
18,735	473,254	10,6
20,405	434,878	15,4
21,355	415,757	1,6
22,840	389,048	5,1
23,689	375,288	21,2
23,964	371,046	2,9
25,044	355,275	2,3
25,828	344,672	3,7
27,083	328,980	14,3
27,812	320,514	3,4
29,679	300,767	6,2
30,787	290,188	7,8
31,435	284,353	16,6
32,489	275,363	6,0
33,118	270,282	2,7
33,293	268,897	1,7
34,124	262,539	5,5
34,714	258,206	3,2
35,715	251,196	1,4
37,182	241,617	1,4
37,757	238,067	1,9
37,932	237,011	3,7
40,698	221,516	1,3
41,435	217,746	2,5
41,944	215,220	1,7
43,263	208,957	2,2
44,074	205,300	2,1
45,804	197,942	1,1
47,203	192,397	1,5
47,803	190,118	1,6
49,448	184,174	1,4
50,631	180,144	1,5

Zeólita NaA-O		
2θ	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
7,196	1,227,447	100,0
8,822	1,001,542	5,3
10,184	867,888	54,4
12,482	708,589	43,6
14,007	631,754	5,5
16,133	548,936	22,9
17,686	501,091	5,1
20,446	434,028	8,8
20,849	425,728	4,7
21,376	415,345	7,3
21,705	409,120	30,4
22,906	387,932	5,1
24,024	370,123	43,9
26,155	340,433	13,3
26,615	334,657	7,4
27,156	328,108	32,5
29,075	306,872	3,8
29,989	297,724	39,8
30,875	289,384	8,7
32,591	274,524	10,5
33,422	267,893	5,9
34,230	261,748	24,0
35,222	254,597	5,0
35,806	250,582	6,3
36,547	245,669	5,1
37,958	236,855	5,4
39,934	225,577	3,8
40,239	223,940	4,4
41,561	217,115	6,5
42,248	213,744	5,1
42,971	210,311	4,0
43,603	207,410	3,9
44,206	204,717	5,9
47,367	191,769	4,9
47,989	189,425	4,3
49,200	185,044	2,9
49,792	182,982	3,3

Zeólita NaA-B		
2θ	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
7,204	1,226,014	100,0
10,193	867,116	55,6
12,481	708,657	29,4
16,131	549,013	19,1
17,673	501,458	2,8
20,426	434,443	6,5
21,376	415,343	3,7
21,685	409,501	24,0
22,867	388,592	3,2
24,000	370,495	35,5
26,121	340,871	10,9
27,128	328,446	30,7
29,037	307,267	2,3
29,955	298,057	34,9
30,843	289,677	6,5
32,545	274,904	7,7
33,377	268,237	3,6
34,190	262,046	23,0
35,750	250,962	4,0
36,519	245,851	3,4
37,234	241,293	1,6
38,006	236,567	2,8
39,436	228,311	1,7
40,144	224,446	2,5
41,509	217,374	4,8
42,185	214,046	3,5
42,849	210,884	2,8
43,507	207,844	2,7
44,155	204,943	5,2
44,781	202,222	1,6
47,292	192,055	4,0
47,895	189,775	3,1
49,090	185,432	1,5
49,690	183,333	2,2

Zeólita 5SDPY-I		
2θ	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
6,303	1,401,127	100,0
7,150	1,235,411	3,7
7,390	1,195,283	7,2
8,833	1,000,278	2,6
10,248	862,451	18,4
11,473	770,687	11,1
11,838	746,996	3,7
12,004	736,703	11,9
15,764	561,708	25,3
18,395	481,924	1,9
18,798	471,690	10,3
20,472	433,474	14,8
21,408	414,726	2,5
21,735	408,563	1,6
22,903	387,993	5,4
23,758	374,218	22,9
24,029	370,049	3,6
24,568	362,052	1,6
25,109	354,369	2,3
25,902	343,706	3,4
27,155	328,123	14,9
27,882	319,734	3,1
29,748	300,080	5,6
30,862	289,506	7,1
31,513	283,672	16,2
32,564	274,752	5,9
33,184	269,754	2,5
34,201	261,964	5,7
34,795	257,623	3,4
35,767	250,842	1,6
37,245	241,221	1,5
37,846	237,529	2,0
38,006	236,563	3,8
40,652	221,756	1,7
41,518	217,328	2,6
42,014	214,877	1,8
43,341	208,602	2,6
44,153	204,952	2,0
47,294	192,046	1,5
47,894	189,778	1,9
49,539	183,855	1,5
50,692	179,941	1,6

## Quitosana em pó

$2\theta$	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
17,583	504,000	50,4
19,755	449,037	100,0
20,901	424,675	81,5
21,908	405,374	68,1
25,439	349,847	35,6
26,720	333,362	37,3
29,233	305,255	32,9
29,471	302,839	38,6
42,677	211,693	25,2

## Filme 5AgA-TI-B

$2\theta$	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
7,238	1,220,334	100,0
10,228	864,147	63,5
12,513	706,821	50,1
13,900	636,591	42,5
16,166	547,841	45,1
21,736	408,540	54,7
24,055	369,656	45,0
27,196	327,633	36,8
27,957	318,890	33,3
30,017	297,453	29,6
32,250	277,348	23,3
34,240	261,672	24,0
34,351	260,855	23,0

## Filme 5AgY-TI

$2\theta$	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
6,230	1,417,648	100,0
10,156	870,306	34,8
11,917	742,036	43,6
14,384	615,295	28,3
15,683	564,610	66,9
17,703	500,606	29,2
18,708	473,930	40,6
20,387	435,270	49,7
22,828	389,250	31,2
23,671	375,560	45,8
25,012	355,730	20,1
25,797	345,081	20,5
26,675	333,914	17,7
27,065	329,193	26,5
27,459	324,558	23,5
27,822	320,407	16,8
29,665	300,902	17,4
30,764	290,399	15,9
31,414	284,543	25,1
32,475	275,478	14,0
33,076	270,612	12,5
34,106	262,675	12,7

## Filme 5AgY-I

$2\theta$	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
6,221	1,419,589	100,0
10,151	870,742	31,6
11,907	742,637	48,1
14,376	615,614	29,6
15,664	565,294	67,0
17,615	503,094	31,2
18,681	474,620	38,3
20,364	435,754	47,4
22,815	389,462	31,8
23,646	375,966	46,1
23,933	371,511	23,9
24,993	355,989	20,0
25,804	344,980	20,9
27,037	329,524	25,1
27,775	320,935	16,4
27,987	318,559	24,9
29,645	301,105	19,2
30,750	290,535	16,7
31,390	284,751	28,8
32,470	275,520	14,9
33,043	270,877	15,2
34,056	263,045	13,6
34,631	258,810	13,2
34,722	258,148	12,5
37,814	237,722	11,1
40,495	222,581	10,7
41,450	217,671	11,2
43,174	209,372	10,3
47,738	190,362	8,2

## Filme 5AgA-TI-O

$2\theta$ °	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
7,231	1,221,451	80,5
8,874	995,676	47,0
10,233	863,720	49,5
12,526	706,123	40,8
13,988	632,604	34,3
16,196	546,843	36,0
17,790	498,184	38,2
21,292	416,965	43,6
21,763	408,048	42,6
24,095	369,060	34,4
26,677	333,887	100,0
27,216	327,400	26,3
30,043	297,205	23,6
32,293	276,994	19,8
45,388	199,656	16,4

## Filme 10AgY-I

$2\theta$	d (Å)	I/I <sub>0</sub> (%)
6,249	1,413,258	100,0
10,178	868,392	18,6
11,939	740,698	36,0
13,963	633,747	16,3
14,393	614,885	18,0
15,697	564,087	48,2
17,657	501,900	18,0
18,722	473,572	22,7
20,395	435,100	27,8
22,835	389,123	19,2
23,680	375,426	31,5
23,916	371,770	14,8
25,019	355,629	12,4
25,819	344,792	12,1
26,710	333,492	65,5
27,074	329,081	17,9
27,558	323,420	11,0
28,034	318,030	21,0
29,669	300,863	12,8
30,780	290,257	10,5
31,445	284,263	19,3
32,525	275,072	10,1
33,110	270,338	9,4
34,116	262,600	8,6
34,661	258,590	8,6
38,175	235,556	20,2
40,562	222,229	7,8
42,770	211,254	6,9
44,382	203,949	9,5
46,783	194,023	5,8

# APÊNDICE B

## Fotos digitais da análise de inibição antimicrobiana



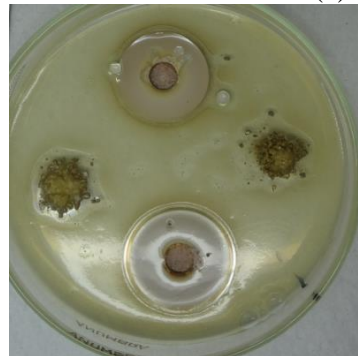
(a) 5AgY-I



(b) 5AgY-TI

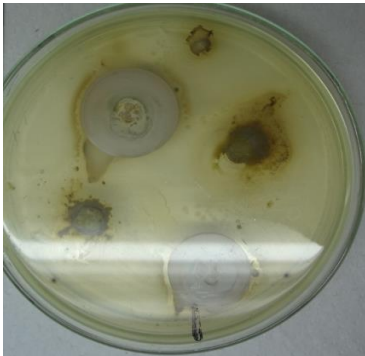


(c) 5AgA-TI-B



(d) 5AgA-TI-O (e) 10AgY-I

Figura 77- Atividade antimicrobiana em meio sólido conta *P. aeruginosa*.



(a) 5AgY-I



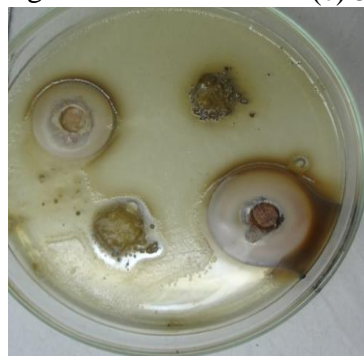
(b) 5AgY-TI



(c) 5AgA-TI-B



(d) 5AgA-TI-O



(e) 10AgY-I

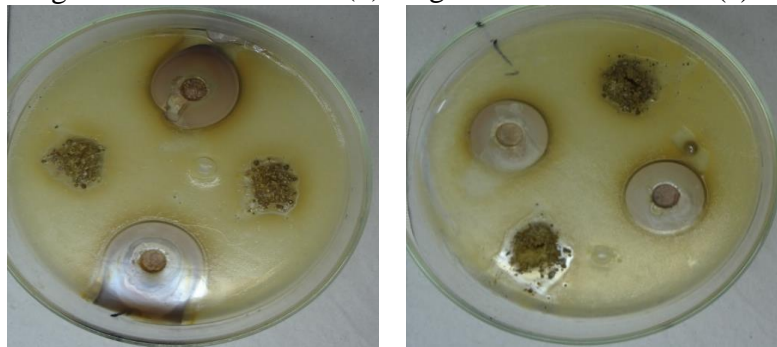
Figura 78-Atividade antimicrobiana em meio sólido- *E. coli*.



(a) 5AgY-I

(b) 5AgY-TI

(c) 5AgA-TI-B



(d) 5AgA-TI-O (e) 10AgY-I

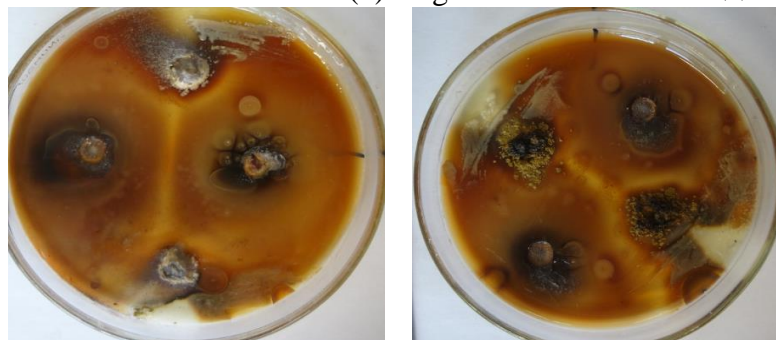
Figura 79-Atividade antimicrobiana em meio sólido -*S. aureus*.



(a) 5AgY-I

(b) 5AgY-TI

(c) 5AgA-TI-B



(d) 5AgA-TI-O (e) 10AgY-I

Figura 80-Atividade antimicrobiana em meio sólido- *C. albicans*.

# APÊNDICE C

## PERMEABILIDADE ANTIMICROBIANA

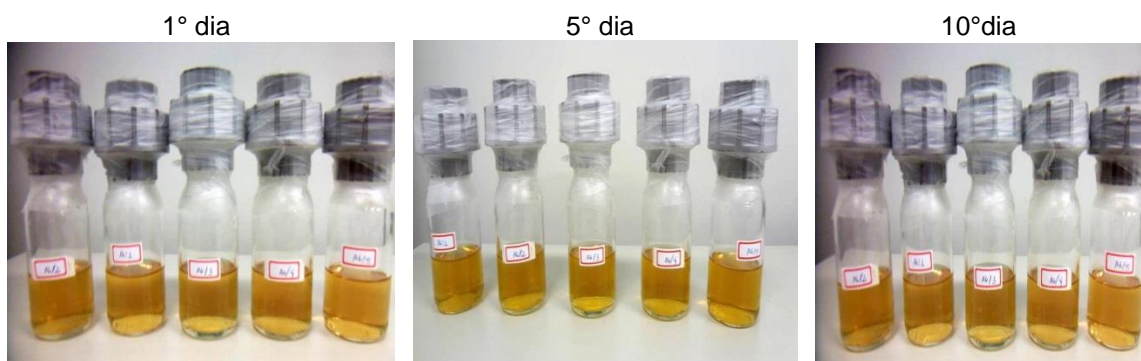


Figura 81-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgY-TI.

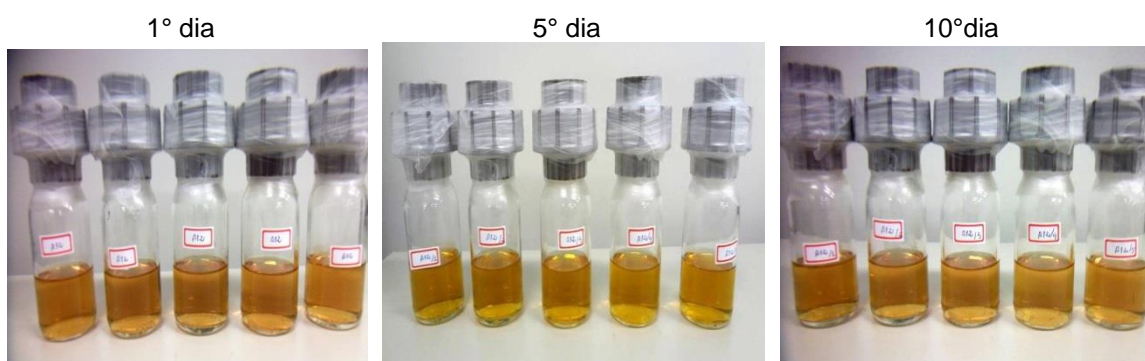


Figura 82-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgA-TI-B.

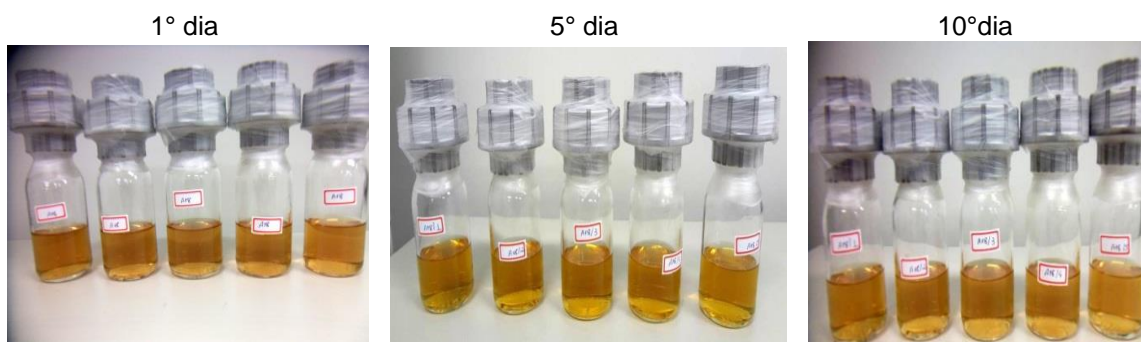


Figura 83-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5AgA-TI-O.

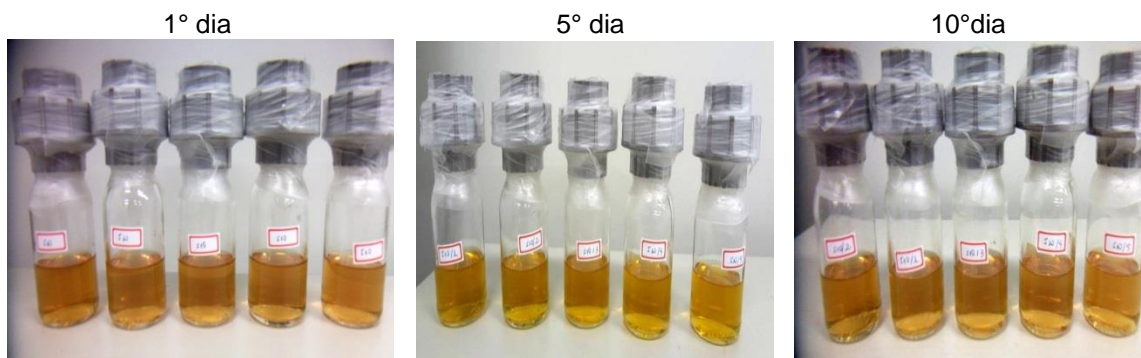


Figura 84-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 10AgY-I.



Figura 85-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme quitosana pura.



Figura 86-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme 5SDPY-I.

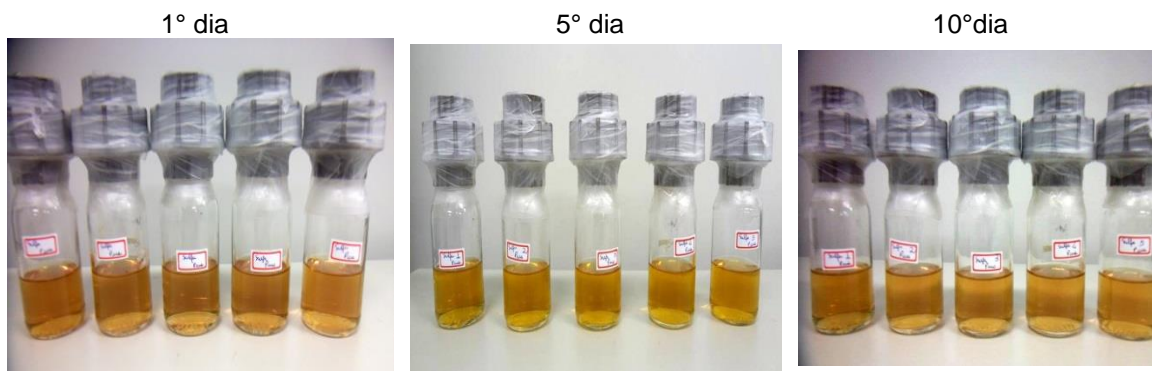


Figura 87-Teste de permeabilidade microbiana amostra de filme SDP pura.