

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE GELATINA CONTENDO ZEÓLITA  
CLINOPTILOLITA IMPREGNADA COM ÍONS PRATA E AVALIAÇÃO DAS  
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS

PATRICIA HUBNER

Porto Alegre

2017

PATRICIA HUBNER

DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE GELATINA CONTENDO ZEÓLITA  
CLINOPTILOLITA IMPREGNADA COM ÍONS PRATA E AVALIAÇÃO DAS  
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Fenômenos de Transporte e Operações Unitárias

Orientadores: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Isabel Cristina Tessaro

Prof. Dr. Nilson Romeu Marcilio

Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup>. Luci Kelin de Menezes Quines

Porto Alegre  
2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

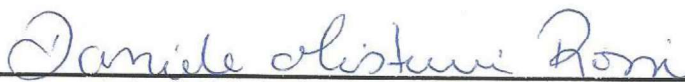
A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Desenvolvimento de filmes de gelatina contendo zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata e avaliação das propriedades antimicrobianas*, elaborada por Patricia Hubner, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:



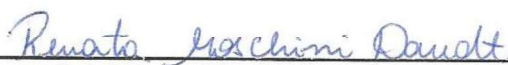
---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Camila Baldasso – CCET/UCS



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Daniele Misturini Rossi – DEQUI/UFRGS



---

Dr.<sup>a</sup>. Renata Moschini Daudt – Pesquisadora PPGEQ/UFRGS

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Jairo e Nair, com os quais compartilho esta conquista, por constituírem a base necessária para a minha vida, por apoiarem todas as minhas escolhas e decisões, por toda a dedicação, amor sem medidas, carinho e compreensão.

Ao meu namorado Guilherme, por todo o apoio, amor, paciência, companheirismo, por ter me confortado nas horas difíceis e por estar ao meu lado em todos os momentos desta jornada.

Aos meus orientadores, Isabel, Kelin e Nilson, principalmente por terem acreditado em mim para elaboração desta dissertação. Agradeço, também, por todo o conhecimento transmitido, paciência, orientação e por darem conselhos e exemplos de vida, contribuindo não somente para o desenvolvimento profissional, mas também, para a formação como ser humano.

Aos professores, técnicos e funcionários que tornam acessível a utilização dos laboratórios e realização das análises necessárias no desenvolvimento das pesquisas, contribuindo para que a UFRGS seja uma das melhores universidades do país.

À bolsista Nicolay Donati pelo auxílio na realização dos experimentos e desenvolvimento desta pesquisa de forma geral.

A todos os colegas do LPR e do LASEM pelas contribuições no decorrer do desenvolvimento deste trabalho de mestrado.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Curativos utilizados no tratamento de feridas crônicas e queimaduras devem apresentar características antimicrobianas. Sabe-se que compostos de prata são utilizados há muito tempo como antissépticos, mas apresentam alguns problemas relacionados ao modo de liberação. A fim de controlar essa liberação, os íons  $\text{Ag}^+$  podem ser imobilizados em suportes, como por exemplo, zeólitas, que por sua vez devem estar dispersas no filme que é utilizado como curativo. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e a caracterização de filmes à base de gelatina, adicionados de zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata e a avaliação das propriedades antimicrobianas, visando à aplicação no tratamento de ferimentos. Filmes com 5, 7 e 10 % (m/v) de gelatina e 0, 5, 10, 15, 20 e 25 % (v/v) de glicerol foram produzidos e caracterizados quanto à espessura, teor de umidade, capacidade de absorção de água (CAA), caráter hidrofílico, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), fluxo de permeação de vapor de água (FPVA), morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* (FTIR). Com base nas características determinadas, foi possível selecionar três formulações para incorporação das zeólitas (10 % de gelatina e 15, 20 e 25 % de glicerol). A zeólita comercial clinoptilolita foi caracterizada e impregnada com íons  $\text{Ag}^+$ . Na sequência, por meio de um ensaio antimicrobiano preliminar, foi definido que as zeólitas seriam adicionadas aos filmes nas concentrações de 0,5; 1 e 2 % (m/v). Os filmes à base de gelatina com zeólitas foram caracterizados pelos mesmos ensaios citados e também por análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e quantificação de íons prata por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Os ensaios de caracterização demonstraram que a concentração de 0,5 % de zeólita resultou em filmes com propriedades mais adequadas para aplicação como curativos. Através da avaliação antimicrobiana qualitativa, percebeu-se que a ação antimicrobiana é decorrente da presença dos íons  $\text{Ag}^+$ , porém não foram identificadas diferenças expressivas entre o tamanho dos halos de inibição formados para as diferentes concentrações de clinoptilolita-Ag. Através do ensaio microbiológico quantitativo verificou-se que não havia carga bacteriana na solução onde o filme estava imerso. Os resultados obtidos mostram que os filmes desenvolvidos neste estudo têm potencial para serem aplicados como curativos, atuando como antimicrobiano, auxiliando, desta forma, na cicatrização dos ferimentos.

**Palavras-chave:** curativos ativos, filmes de gelatina, zeólita clinoptilolita, íons prata, ação antimicrobiana.

## ABSTRACT

Dressings used in treatment of burns and chronic wound must present antimicrobial characteristics. It is known that silver compounds are used for long time as antiseptics, but they have some problems related to release mode. To control this release,  $\text{Ag}^+$  ions may be immobilized in supports, as zeolites, that must be dispersed in the film used as wound dressing. In this sense, this work objectives the development and characterization of gelatin based-films added of clinoptilolite zeolite impregnated with silver ions and antimicrobial properties evaluation, aiming the application in wound treatment, as burns, for example. Films with 5, 7 and 10 % (w/v) of gelatin and 0, 5, 10, 15, 20 and 25 % (v/v) of glycerol were produced and characterized by the thickness, moisture content, water absorption capacity (CAA), hydrophilic character, mechanical properties, water vapor permeation (PVA), water vapor permeation flux (FPVA), morphology by scanning electron microscopy (MEV) and *Fourier* transform infrared spectroscopy (FTIR). Based on the determined characteristics, it was possible select three formulations for zeolites incorporation (10 % of gelatin and 15, 20 and 25 % of glycerol). Commercial clinoptilolite zeolite was characterized and impregnated with  $\text{Ag}^+$  ions. Subsequently, by a preliminary antimicrobial assay, it was defined that the zeolites would be added to the films in the concentrations of 0.5, 1 and 2 % (w/v). Gelatin-based films with zeolites were characterized by the same assays cited and, also, thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC) and silver ions quantification by flame atomic absorption spectroscopy (FAAS). Characterization tests demonstrated that the zeolite concentration of 0.5 % resulted in films with properties more suitable for wound dressing application. By the qualitative antimicrobial evaluation, it was noticed that the antimicrobial action is due to the  $\text{Ag}^+$  ions, but no significant differences between the size of the inhibition halos formed were observed for the different concentrations of clinoptilolite-Ag. By the quantitative antimicrobial evaluation, it was found that there was no bacterial load in the solution where the film was submerged. The results show that the films developed in this study have potential to be applied as wound dressings, acting as an antimicrobial, thus helping the wound healing.

**Keywords:** active dressings, gelatin-based films, clinoptilolite zeolite, silver ions, antimicrobial action.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1 OBJETIVOS .....	15
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
2.1 BIOPOLÍMEROS .....	16
<b>2.1.1 Gelatina .....</b>	<b>17</b>
2.1.1.1 Gelatinização .....	19
2.1.1.2 Solubilidade.....	20
2.1.1.3 Caráter anfotérico .....	20
2.1.1.4 Características reológicas .....	21
2.1.1.5 Estabilizador coloidal .....	21
2.1.1.6 Intumescimento .....	22
<b>2.1.2 Filmes de gelatina.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1.3 Plastificantes .....</b>	<b>23</b>
2.2 FILMES ATIVOS .....	25
<b>2.2.1 Filmes ativos como curativos .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.2 Agentes antimicrobianos .....</b>	<b>28</b>
<b>2.2.3 Zeólitas .....</b>	<b>30</b>
2.2.3.1 Propriedades das zeólitas .....	31
2.2.3.2 Clinoptilolita.....	32
2.2.3.3 Zeólitas modificadas .....	33
2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE A REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
3.1 ETAPA 1 – FILMES DE GELATINA E GLICEROL.....	38
<b>3.1.1 Caracterização da gelatina.....</b>	<b>38</b>
3.1.1.1 Análise química estrutural.....	38
3.1.1.2 Análises térmicas.....	38
<b>3.1.2 Preparação dos filmes de gelatina e glicerol.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1.3 Caracterização dos filmes de gelatina e glicerol.....</b>	<b>40</b>
3.1.3.1 Espessura.....	40
3.1.3.2 Teor de umidade.....	40
3.1.3.3 Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água .....	41
3.1.3.4 Capacidade de absorção de água.....	42

3.1.3.5	Propriedades mecânicas .....	42
3.1.3.6	Caráter hidrofílico .....	42
3.1.3.7	Morfologia.....	43
3.1.3.8	Análise química estrutural.....	43
3.2	ETAPA 2 – ZEÓLITA CLINOPTILOLITA .....	43
<b>3.2.1</b>	<b>Caracterização da zeólita clinoptilolita.....</b>	<b>43</b>
3.2.1.1	Análises químicas.....	43
3.2.1.2	Morfologia.....	44
3.2.1.3	Área específica e distribuição de tamanho de poros .....	44
3.2.1.4	Capacidade de troca catiônica .....	45
<b>3.2.2</b>	<b>Impregnação da zeólita clinoptilolita com íons prata.....</b>	<b>45</b>
3.3	ETAPA 3 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA..	47
3.4	ETAPA 4 – FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITAS.....	47
<b>3.4.1</b>	<b>Preparação dos filmes de gelatina, glicerol e zeólitas .....</b>	<b>47</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Caracterização dos filmes de gelatina, glicerol e zeólitas .....</b>	<b>48</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Avaliação da atividade antimicrobiana .....</b>	<b>48</b>
3.4.3.1	Análise microbiológica qualitativa.....	48
3.4.3.2	Análise microbiológica quantitativa.....	49
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
4.1	ETAPA 1 – FILMES DE GELATINA E GLICEROL.....	51
<b>4.1.1</b>	<b>Caracterização da gelatina.....</b>	<b>51</b>
4.1.1.1	Análise química estrutural.....	51
4.1.1.2	Análises térmicas.....	53
<b>4.1.2</b>	<b>Caracterização dos filmes de gelatina e glicerol.....</b>	<b>55</b>
4.1.2.1	Espessura e teor de umidade .....	55
4.1.2.2	Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água .....	57
4.1.2.3	Capacidade de absorção de água.....	59
4.1.2.4	Propriedades mecânicas .....	61
4.1.2.5	Caráter hidrofílico .....	62
4.1.2.6	Morfologia.....	65
4.2	ETAPA 2 – ZEÓLITA CLINOPTILOLITA .....	66
<b>4.2.1</b>	<b>Caracterização da zeólita clinoptilolita.....</b>	<b>66</b>
4.2.1.1	Análises químicas.....	67



4.2.1.2	Morfologia.....	69
4.2.1.3	Área específica e distribuição de tamanho de poros .....	71
4.2.1.4	Capacidade de troca catiônica .....	72
<b>4.2.2</b>	<b>Impregnação da zeólita clinoptilolita com íons prata.....</b>	<b>73</b>
4.3	ETAPA 3 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA..	75
4.4	ETAPA 4 – FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITAS.....	76
<b>4.4.1</b>	<b>Caracterização dos filmes de gelatina, glicerol e zeólitas .....</b>	<b>76</b>
4.4.1.1	Espessura e teor de umidade .....	77
4.4.1.2	Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água .....	78
4.4.1.3	Capacidade de absorção de água.....	80
4.4.1.4	Propriedades mecânicas .....	82
4.4.1.5	Caráter hidrofílico .....	83
4.4.1.6	Morfologia.....	85
4.4.1.7	Análise química estrutural.....	86
4.4.1.8	Análises térmicas.....	87
4.4.1.9	Quantificação de prata dos filmes .....	90
<b>4.4.2</b>	<b>Avaliação da atividade antimicrobiana .....</b>	<b>91</b>
4.4.2.1	Análise qualitativa.....	91
4.4.2.2	Análise quantitativa.....	95
<b>CONCLUSÕES.....</b>		<b>97</b>
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>		<b>99</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>		<b>100</b>
<b>APÊNDICE A – CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA.....</b>		<b>111</b>
<b>APÊNDICE B – ÂNGULO DE CONTATO .....</b>		<b>113</b>
<b>APÊNDICE C – ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE <i>FOURIER</i>.....</b>		<b>115</b>
<b>APÊNDICE D – ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.....</b>		<b>116</b>
<b>APÊNDICE E – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL .....</b>		<b>117</b>
<b>APÊNDICE F – ENSAIO ANTIMICROBIANO QUANTITATIVO .....</b>		<b>119</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação estrutural da gelatina. Adaptado de Ofori (1999). .....	18
Figura 2 – Estrutura química do glicerol (HAN, 2005).....	25
Figura 3 – Esquema estrutural da zeólita, onde $X^+$ representa o cátion extraestrutural (PETKOWICZ, 2009). .....	31
Figura 4 – Estrutura cristalina da zeólita clinoptilolita (“Clinoptilolite”, 2017).....	33
Figura 5 – Fluxograma que representa as etapas do trabalho.....	37
Figura 6 – Espectro de infravermelho por transformada de Fourier da gelatina.....	52
Figura 7 – Fórmula química das amidas: (a) primária, (b) secundária e (c) terciária. Adaptado de Pereira (2009). .....	52
Figura 8 – Termograma da análise de TGA da gelatina.....	53
Figura 9 – Curvas de DSC para a gelatina. ....	54
Figura 10 – Capacidade de absorção de água para os filmes com 10 % de gelatina com diferentes concentrações de glicerol.....	59
Figura 11 – Ângulo de contato dos filmes com 10 % de gelatina com diferentes concentrações de glicerol. ....	63
Figura 12 – Micrografias dos filmes com 10 % de gelatina e (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol, sendo as imagens (1) da superfície em ampliação de 500 x e (2) da seção transversal em ampliação de 200 x. ....	65
Figura 13 – Espectro de infravermelho por transformada de Fourier para a gelatina em pó, o glicerol puro e os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol, sem zeólitas.....	66
Figura 14 – Espectro de infravermelho por transformada de Fourier para a zeólita clinoptilolita e para a clinoptilolita-Ag.....	69
Figura 15 – Microscopia eletrônica de varredura da zeólita clinoptilolita: antes da adsorção de prata, com ampliação de (a.1) 500 x e (b.1) 5000 x e após a adsorção de prata, com ampliação de (a.2) 500 x e (b.2) 5000 x. Potencial elétrico de aceleração de 15 kV. Fotografias da zeólita clinoptilolita: antes da adsorção de prata (c.1) e após a adsorção de prata (c.2). ....	70
Figura 16 – Distribuição de tamanho de poros da zeólita clinoptilolita.....	71
Figura 17 – Concentração de prata em solução após os ensaios de impregnação em função do tempo, para diferentes temperaturas e concentrações iniciais da solução de nitrato de prata. .	74

Figura 18 – Ensaio antimicrobianos preliminares para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol (a) sem clinoptilolita e (b) 0,1 %, (c) 0,5 %, (d) 1 %, (e) 3 %, (f) 5 % de clinoptilolita-Ag e (g) 5 % de clinoptilolita. ....	76
Figura 19 – Ângulo de contato em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.....	84
Figura 20 – Micrografias dos filmes com 10 % de gelatina, 15 % de glicerol e (a) 0,5; (b) 1 e (c) 2 % de clinoptilolita-Ag, sendo as imagens (1) da superfície em ampliação de 500 x e (2) da seção transversal em ampliação de 200 x. ....	86
Figura 21 – Espectros de infravermelho por transformada de Fourier para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. ....	87
Figura 22 – Imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem Ag <sup>+</sup> , submetidos à análise em ágar PCA com a bactéria S. aureus. (a) sem zeólitas, com (b.1) 0,5; (b.2) 1 e (b.3) 2 % de clinoptilolita-Ag e (c.1) 0,5; (c.2) 1 e (c.3) 2 % de clinoptilolita. ....	92
Figura 23 – Imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem Ag <sup>+</sup> , submetidos à análise em ágar PCA para o ensaio qualitativo com swab da pele. (a) sem zeólitas, com (b.1) 0,5; (b.2) 1 e (b.3) 2 % de clinoptilolita-Ag e (c.1) 0,5; (c.2) 1 e (c.3) 2 % de clinoptilolita. ....	93
Figura 24 – Imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem Ag <sup>+</sup> , submetidos à análise em ágar PDA para o ensaio qualitativo com swab da pele. (a) sem zeólitas, com (b.1) 0,5; (b.2) 1 e (b.3) 2 % de clinoptilolita-Ag e (c.1) 0,5; (c.2) 1 e (c.3) 2 % de clinoptilolita. ....	94
Figura A1 – Capacidade de absorção de água para os filmes com (a) 5 e (b) 7 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol. ....	111
Figura A2 – Capacidade de absorção de água para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólita. ....	112
Figura B1 – Ângulo de contato em função do tempo para os filmes com (a) 5 e (b) 7 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol. ....	113
Figura B2 – Ângulo de contato em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15 e (b) 20 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. ....	114
Figura C1 – Espectros de infravermelho por transformada de Fourier para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15 e (b) 20 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. ....	115

Figura D1 – Termogramas para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólita. ....	116
Figura E1 – Curvas da primeira corrida da análise de DSC para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. ....	117
Figura E2 – Curvas da segunda corrida da análise de DSC para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. ....	118
Figura F1 – Unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de suspensão bacteriana em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15 e (b) 20 % de glicerol e diferentes concentrações de clinoptilolita-Ag.....	119

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espessura e teor de umidade dos filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol. ....	56
Tabela 2 – Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e fluxo de permeação de vapor de água (FPVA) para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol. ....	57
Tabela 3 – Capacidade de absorção de água (CAA) em 60 minutos de contato para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol. ....	60
Tabela 4 – Tensão e alongação na ruptura e módulo de Young para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol. ....	61
Tabela 5 – Ângulo de contato inicial e para 30 segundos de ensaio para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol. ....	64
Tabela 6 – Composição química, perda ao fogo e relação Si/Al da clinoptilolita obtidos por FRX. ....	67
Tabela 7 – Concentração de Ag <sup>+</sup> remanescente em solução, quantidade de Ag <sup>+</sup> adsorvido e percentual de íons prata adsorvido na zeólita clinoptilolita, utilizando soluções de AgNO <sub>3</sub> em diferentes concentrações, temperaturas e tempos de contato. ....	73
Tabela 8 – Espessura e teor de umidade para os filmes com 10 % de gelatina com diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.....	77
Tabela 9 – Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e fluxo de permeação de vapor de água (FPVA) para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas. ....	79
Tabela 10 – Capacidade de absorção de água (CAA) em 60 minutos para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.....	81
Tabela 11 – Tensão e alongação na ruptura e módulo de Young para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas. ....	82
Tabela 12 – Ângulo de contato inicial e para 30 segundos de ensaio para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.....	85
Tabela 13 – Resultados de perda de umidade, perda de massa e T <sub>onset</sub> obtidos através dos termogramas para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas. ....	88
Tabela 14 – Temperatura de transição vítrea (T <sub>g</sub> ), temperatura de fusão (T <sub>m</sub> ) e temperatura de máxima degradação da amostra (T <sub>d</sub> ) obtidas através das curvas de DSC para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas. ....	90

Tabela 15 – Quantidade de íons prata nos filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e clinoptilolita-Ag.....	91
Tabela 16 – Número de colônias em cada tempo do ensaio antimicrobiano quantitativo para os filmes com 15, 20 e 25 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita-Ag.....	95

## 1 INTRODUÇÃO

Os biopolímeros surgiram, principalmente, pela busca de alternativas viáveis para substituição de polímeros provenientes de fontes não renováveis, em decorrência da preocupação com a utilização desses recursos e do impacto ambiental causado pelo seu uso. A gelatina é um biopolímero biodegradável de alta massa molar, amplamente disponível, visto que é obtida através da degradação térmica do colágeno proveniente, principalmente, de partes de animais. Além disso, ela apresenta boas propriedades funcionais e baixo custo, por ser produzida a partir de resíduos da indústria alimentícia. Por ser uma proteína, a gelatina proporciona vasta diversidade molecular em sua composição e, por isso, tem potencial para a formação de diferentes ligações químicas, característica interessante quando se objetiva a produção de filmes.

Nesse contexto, se torna conveniente à produção de filmes à base de um biopolímero biodegradável, como a gelatina, e a incorporação de algum material que forneça propriedades diferenciadas ao filme, como, por exemplo, a atividade antimicrobiana, que pode ser fornecida por diferentes substâncias, inclusive íons metálicos, como o íon prata ( $\text{Ag}^+$ ). Estas características fazem com que o filme seja ativo e propício para ser empregado em aplicações como embalagens e curativos.

A utilização de compostos de prata como antissépticos é explorada há muito tempo, tanto para fins medicinais quanto para aplicação em embalagens, mas vem sendo aprimorada visando o uso para o tratamento de infecções em feridas abertas, queimaduras e úlceras crônicas. No entanto, há alguns relatos de problemas relacionados à utilização da prata, como, por exemplo, a dificuldade de controlar a liberação desses íons, a ocorrência de manchas na pele e a necessidade frequente de remoção e reaplicação de medicamentos como o creme dermatológico sulfadiazina de prata, amplamente utilizado em queimaduras suscetíveis a infecções. Além disso, tem sido reportado que a sulfadiazina de prata retarda o processo de cicatrização do ferimento em virtude dos excipientes presentes na sua formulação e da natureza do medicamento.

Visando a possibilidade de contornar essas adversidades, buscaram-se alternativas acerca da utilização de suportes de liberação controlada de íons  $\text{Ag}^+$ , tais como partículas porosas e filmes. Dentre esses se destacam as zeólitas e os filmes de biopolímeros, que atuam como matrizes poliméricas para a imobilização dessas partículas. As zeólitas apresentam potencial para serem utilizadas nesse tipo de aplicação em decorrência das suas propriedades, tais como alta porosidade, estabilidade térmica e química, elevada área específica, capacidade

de troca iônica, entre outras. Esses minerais podem ser naturais ou sintéticos e são constituídos de alumínio, silício, íons de compensação e água, sendo utilizados principalmente como suporte de catalisadores, adsorventes ou trocadores de íons.

A combinação das propriedades fornecidas pela gelatina, pelas zeólitas e pelos íons prata pode ser explorada para a produção de filmes ativos. Na aplicação como curativos, a utilização destes materiais proporciona a liberação dos íons  $\text{Ag}^+$  diretamente sobre o local de interesse e na proporção necessária para atuar contra os microrganismos presentes, promovendo uma cicatrização mais rápida e auxiliando na redução do risco de infecções.

## 1.1 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo geral produzir filmes ativos utilizando gelatina como matriz polimérica e incorporando a zeólita comercial clinoptilolita impregnada com íons prata aos filmes, visando a possível atividade antimicrobiana.

Os objetivos específicos constituem-se em:

- caracterizar a gelatina e a zeólita comercial clinoptilolita utilizadas;
- estudar a impregnação de prata na zeólita clinoptilolita em diferentes condições de ensaio;
- produzir filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol e caracterizá-los;
- estudar o efeito da adição de zeólita clinoptilolita e clinoptilolita impregnada com íons prata às formulações de filmes selecionadas;
- caracterizar os filmes que contêm zeólitas;
- verificar a atividade antimicrobiana dos filmes.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As informações apresentadas no decorrer desta seção têm por objetivo a abordagem de tópicos importantes para o entendimento do tema deste trabalho e de como ele foi desenvolvido. Nesta seção são apresentados alguns aspectos dos biopolímeros, com ênfase nas características da gelatina que são importantes para a formação de filmes, bem como filmes à base de gelatina e aditivos, como plastificantes. Na sequência são abordados os filmes ativos, onde é apresentado o estado da arte a respeito da utilização de filmes ativos como curativos, a utilização de agentes antimicrobianos e de zeólitas como plataformas para liberação destes agentes. Por fim, é feita uma abordagem a respeito da revisão bibliográfica, contemplando a motivação e justificativa deste trabalho.

### 2.1 BIOPOLÍMEROS

Os biopolímeros, também chamados de bioplásticos, polímeros ambientalmente degradáveis ou polímeros naturais, são polímeros de origem biológica, mas não fóssil, ou, também, àqueles que podem ser submetidos à digestão por microrganismos ou à degradação química no ambiente. Os biopolímeros podem ser obtidos da natureza, pois a maioria dos compostos formados durante os ciclos de vida de plantas, animais, bactérias e fungos são polímeros ou compósitos de matriz polimérica. Os biopolímeros compreendem uma vasta gama de materiais, tais como: a quitosana (produzida por crustáceos), a celulose, a goma xantana e o amido (que são derivados de plantas). Os polímeros constituídos de carboidratos produzidos por bactérias e fungos também são considerados biopolímeros e existem, ainda, os biopolímeros à base de proteínas animais, tais como a lã, a seda e a gelatina (CHANDRA; RUSTGI, 1998; JOHNSON; MWAIKAMBO; TUCKER, 2003).

As fontes de biopolímeros são renováveis e possuem um ciclo de vida mais curto quando comparado com fontes fósseis, como o petróleo. Alguns fatores ambientais e socioeconômicos também estão relacionados ao crescente interesse pelos biopolímeros. Estes compreendem, principalmente, o impacto ambiental causado pelos processos de extração e refino utilizados para produção dos polímeros provenientes do petróleo, a escassez dessa matéria-prima e o aumento do seu valor agregado. Outra questão de grande importância é a não biodegradabilidade da maioria dos polímeros produzida a partir do petróleo, o que contribui para o aumento da quantidade e acúmulo de resíduos plásticos, que não possuem um

destino apropriado e podem levar de dezenas a centenas de anos para serem assimilados pela natureza (BRITO et al., 2011).

Além dos biopolímeros extraídos da natureza, há a possibilidade de se produzir biopolímeros sintéticos. Com o passar dos anos isso se tornou uma prática, principalmente devido à incerteza do fornecimento contínuo de matérias-primas fósseis, a partir da crise do petróleo dos anos 1970, e à exigência de uma rota de disposição ambientalmente correta dos resíduos gerados, que não envolva incineração ou enterramento. Pode-se afirmar que polímeros provenientes do petróleo, como, por exemplo, polietileno e poliestireno, têm sido gradativamente substituídos por polímeros oriundos de fontes renováveis. Essa substituição vem ocorrendo por motivos relacionados à saúde e/ou ao meio ambiente, visto que os compostos biodegradáveis podem ser adaptados para as taxas de degradação mais lentas ou mais rápidas, conforme necessidade do produto desenvolvido, reduzindo, assim, o impacto ambiental.

Dessa forma, a indústria de polímeros buscou fontes alternativas de matérias-primas e optou por utilizar rotas biológicas para a fabricação de polímeros visando resguardar-se de possíveis futuras crises no fornecimento de matérias-primas. Sendo assim, muitos biopolímeros são produzidos comercialmente em escala industrial utilizando matérias-primas que podem ser fontes de carbono renováveis, provenientes de carboidratos obtidos de culturas comuns como milho e cana-de-açúcar, por exemplo, ou proteínas, como colágeno, gelatina e proteínas do soro de leite (BRITO et al., 2011; JOHNSON; MWAIKAMBO; TUCKER, 2003; PATEL; MIKOS, 2004).

### **2.1.1 Gelatina**

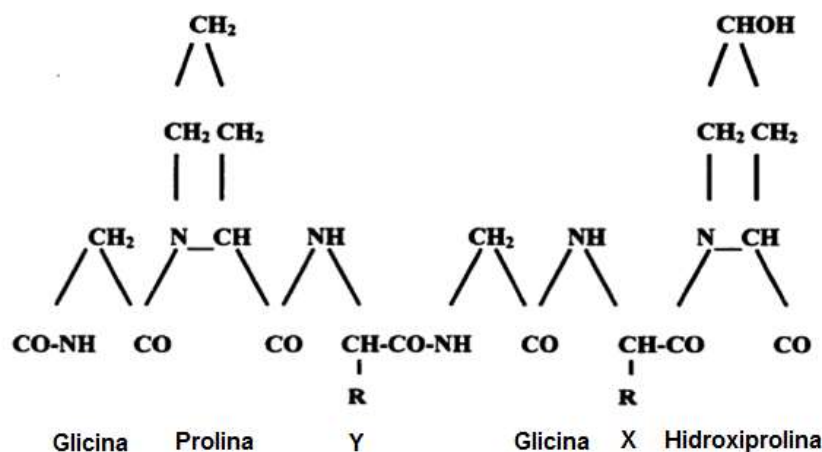
A gelatina é um polipeptídeo pode ser proveniente de plantas, como as algas, mas é obtido, principalmente, através da desnaturação e degradação térmica do colágeno. Sua massa molar pode variar de 20.000 a 250.000 g mol<sup>-1</sup> dependendo do grau de hidrólise do colágeno. O colágeno é a base estrutural e a principal proteína que compõe a pele, ossos, couro, tecido conectivo e cartilagens de animais, tais como bovinos, suínos, aves, peixes, moluscos ou insetos (BAILEY; PAUL, 1998; HANANI, 2016; KEENAN, 1998; MARK, 2013). Em geral, a gelatina é classificada em tipo A e tipo B, dependendo da forma como é processada. A gelatina do tipo A é produzida pelo processamento ácido do colágeno presente na matéria-prima e a gelatina do tipo B é processada de forma alcalina (HANANI, 2016; KEENAN, 1998).

Os aminoácidos que formam a molécula de gelatina são unidos por ligações peptídicas, nas quais grupos carboxila reagem com grupos amina formando os compostos. O colágeno e, conseqüentemente, as gelatinas em geral apresentam em sua estrutura alto teor de glicina ( $\approx 27\%$ ), prolina ( $\approx 16\%$ ) e hidroxiprolina ( $\approx 14\%$ ), sendo o percentual restante composto por outros aminoácidos. Vale ressaltar que esses valores são propensos a grandes variações, dependendo principalmente da origem e do tratamento utilizado na produção da gelatina. Dessa forma, os principais constituintes da gelatina são moléculas peptídicas grandes e complexas. Em virtude da gelatina ser derivada do colágeno, ela tende a apresentar elevada biocompatibilidade, principalmente porque suas moléculas assemelham-se aos componentes existentes no corpo humano (KEENAN, 1998; MARIOD; ADAM, 2013; MARK, 2013).

Além disso, como toda proteína, a gelatina não é uma substância química individual e sim um copolímero formado por aproximadamente 20 aminoácidos distintos que se unem em seqüência formando cadeias polipeptídicas de aproximadamente 1.050 aminoácidos por cadeia. Em virtude da diversidade molecular, as proteínas apresentam grande potencial para formação de diferentes ligações químicas, dependendo da posição, da natureza e da energia aplicada (MARIOD; ADAM, 2013; MARK, 2013).

A Figura 1 apresenta a estrutura molecular representativa da gelatina, na qual se podem ver os aminoácidos majoritários da molécula.

Figura 1 – Representação estrutural da gelatina. Adaptado de Ofori (1999).



A gelatina é uma substância translúcida, incolor e praticamente insípida e inodora, além de ser uma proteína que, normalmente, não causa alergias. Pode-se afirmar, também, que apresenta boas propriedades funcionais, baixo custo e é abundante (HANANI, 2016). Este polipeptídeo pode ser hidrolisado por uma vasta gama de enzimas e produz os seus

aminoácidos constituintes ou componentes peptídicos. A ausência de especificidade enzimática para hidrólise da gelatina é um fator favorável na biodegradação intencional deste biopolímero. Sendo assim, e devido às suas propriedades, a gelatina pode ser considerada um biopolímero biodegradável, solúvel em água e que tem diversas possibilidades de aplicação nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e fotográfica (CHANDRA; RUSTGI, 1998; HANANI, 2016).

Na indústria farmacêutica, seu uso começou a ser registrado no início do século XIX na produção de cápsulas rígidas ou flexíveis, revestimento de comprimidos e encapsulamento de compostos ativos, devido à capacidade de formação de filmes, características adesivas e de gelificação termorreversível. Com a evolução das pesquisas, passou a ser aplicada também em esponjas cirúrgicas, pomadas, curativos, suplementos alimentares, emulsões, entre outros. Na indústria cosmética, a gelatina tem sido empregada, principalmente, na produção de batons e produtos para cabelo, mas também pode ser encontrada na composição de cremes, loções e máscaras faciais. Na indústria fotográfica, esse material é utilizado desde 1871 para produção de camadas e subcamadas de revestimento em produtos variados. A gelatina é utilizada, também, como revestimento das bolas utilizadas nos jogos de *paintball* por ser segura e atóxica (HANANI, 2016; OFORI, 1999).

Considerando sua versatilidade, a gelatina pode exercer funções de gelatinização, emulsificação, ligações químicas com água ou outros compostos, além de favorecer a formação de filmes, uma vez que fornece elasticidade e modifica as características reológicas (HANANI, 2016; MARK, 2013). Além disso, as propriedades da gelatina dependem de alguns fatores, como, por exemplo, o tipo de colágeno e o processo utilizado para produzi-la, sendo que isso leva a uma diferença na composição dos aminoácidos e na sua massa molar, o que afeta as suas propriedades (HANANI, 2016). Considera-se que as principais propriedades da gelatina são a gelatinização, solubilidade, caráter anfotérico, características reológicas, estabilizador de coloides e intumescimento, sendo que essas propriedades estão diretamente relacionadas à origem da gelatina e à sua aplicação e influenciam na formação dos filmes à base de gelatina.

#### 2.1.1.1 Gelatinização

A principal característica da gelatina é a sua capacidade de formar géis termicamente reversíveis em soluções aquosas durante o resfriamento em temperaturas na faixa de 35 a 40 °C, porém essa propriedade é perdida com a fervura contínua. A gelatinização deve-se ao

fenômeno que ocorre quando a solução aquosa de gelatina é resfriada, pois durante o resfriamento, as regiões ricas em determinados aminoácidos proporcionam zonas de união para o estabelecimento de uma rede tridimensional do gel. A rigidez ou característica gelatinosa do gel depende da concentração e da força intrínseca da gelatina, pH, temperatura e aditivos utilizados (GIRAUDIER et al., 2004; MARK, 2013).

#### 2.1.1.2 Solubilidade

A gelatina possui natureza hidrofílica, isto é, possui afinidade com a água. Por isso, solubiliza-se rapidamente em água quente, contudo, é relativamente insolúvel em água fria. O grau de solubilidade da gelatina depende de alguns fatores, como temperatura, concentração e tamanho das partículas, sendo que na maior parte das aplicações comerciais, a gelatina é utilizada como uma solução. Além de ser solúvel em água, ela também é solúvel em soluções aquosas de álcoois poli hídricos, como o glicerol e o polipropileno glicol (GRAY, 1963; MARK, 2013; TURI, 1997).

Basicamente, considera-se que a gelatina é solúvel em solventes orgânicos altamente polares, como o ácido acético, e praticamente insolúvel em solventes orgânicos menos polares, como acetona, etanol, éter, benzeno e outros solventes orgânicos apolares. Muitos solventes orgânicos solúveis em água são compatíveis com a gelatina, mas interferem nas suas propriedades de gelatinização (BROWN, 1988; EARNEST, 1988).

É possível utilizar alguns agentes, como sais de metais e aldeídos, visando à modificação da solubilidade da gelatina. Por exemplo, o formol gera um aumento considerável na viscosidade, pois age nos grupos amina da cadeia molecular e os sais de cromo agem nos grupos carboxilas, podendo tornar a gelatina totalmente insolúvel (BRANDRUP; IMMERGUT; GRULKE, 1999; MARK, 2013).

#### 2.1.1.3 Caráter anfotérico

O caráter anfotérico da gelatina é a sua capacidade de se comportar como ácido ou base dependendo do meio em que se encontra. Essa propriedade é devida aos grupos funcionais dos aminoácidos que a compõem e dos grupos amina e carboxila terminais gerados durante a hidrólise. Em decorrência disso, em solução ácida, a gelatina é positivamente carregada e migra como um cátion em um campo elétrico. Em solução alcalina, a gelatina é carregada negativamente e sofre migração da mesma forma que um ânion (MARK, 2013).

Em virtude do seu caráter anfotérico, em um determinado valor de pH, a gelatina possui o mesmo número de cargas positivas e de cargas negativas em sua molécula. Em soluções que não contêm sais, o pH para o qual as cargas existentes na molécula estão em equilíbrio, se chama ponto iso-isônico. Já nas soluções gelatinosas que contêm sais ou outros eletrólitos, o pH para o qual a carga na molécula é zero e nenhum movimento ocorre em um campo elétrico, se chama ponto isoelétrico (MARK, 2013).

#### 2.1.1.4 Características reológicas

A viscosidade das soluções de gelatina depende, principalmente, da distribuição da massa molar das suas moléculas. Contudo, ela pode ser afetada por diferentes fatores, como concentração da gelatina, temperatura, pH, aditivos e impurezas. Em geral, a viscosidade das soluções de gelatina aumenta com o aumento da concentração de gelatina e com a diminuição da temperatura. Pode-se dizer, também, que a adição de sais diminui a viscosidade das soluções de gelatina, sendo que este efeito é mais evidente em soluções com concentrações maiores (MARK, 2013; WANG; TETLEY; UCHEGBU, 2001).

A natureza macromolecular da gelatina faz com que o escoamento das soluções, em determinadas temperaturas e concentrações, apresente propriedades reológicas newtonianas, principalmente em soluções aquosas acima de 40 °C. Contudo, em temperaturas entre 30 e 40 °C observa-se comportamento não newtoniano, o que, provavelmente, se deve às ligações de moléculas de gelatina para formar agregados (ERBACHER et al., 1999; HOWARD et al., 2000; MARK, 2013).

A viscosidade das soluções de gelatina influencia em outras propriedades, como o ponto de fusão e de solidificação. As gelatinas de alta viscosidade formam géis com maior ponto de fusão e solidificação do que as gelatinas de menor viscosidade. Em geral, as gelatinas obtidas por métodos alcalinos (tipo B) apresentam maior viscosidade do que àquelas obtidas por tratamentos ácidos (tipo A) (MARIOD; ADAM, 2013; MARK, 2013).

#### 2.1.1.5 Estabilizador coloidal

A gelatina pode atuar como um estabilizante quando está em solução. Em decorrência disso, ela pode impedir a formação de aglomerados de cristais ou partículas presentes, bem como impedir que as partículas em suspensão decantem, auxiliando, assim, na estabilização de uma suspensão coloidal ou particulada (DICKINSON, 2009; MARK, 2013).

Resumidamente, o que acarreta esta estabilização é que as cadeias poliméricas adsorvem partículas coloidais. Em concentrações elevadas de polímero, as partículas coloidais ficam cobertas com as cadeias poliméricas e os revestimentos resultantes impedem a aproximação das partículas, dificultando a aglomeração (SALAMONE, 1998).

#### 2.1.1.6 Intumescimento

A propriedade de intumescimento da gelatina é dada pelo aumento de volume dos seus grânulos quando estes estão em contato com um solvente, como a água. Pode-se dizer que esse processo é o que antecede a gelatinização. Isso é justificado, pois, durante o intumescimento, ocorre a quebra de determinadas ligações intra e intermoleculares, favorecendo a solubilização da gelatina e, conseqüentemente, a formação de gel (NUNES, 2014).

Esta propriedade é, geralmente, afetada pelo pH e pela quantidade de eletrólitos existentes no meio. A gelatina apresenta menor inchamento em seu pH isoelétrico e intumescimento máximo em valores de pH distantes do ponto isoelétrico. O controle dessa propriedade pode ser feito, quando necessário, escolhendo adequadamente os íons presentes em solução, isto é, utilizando ânions, para pH abaixo do ponto isoelétrico, e cátions para pH acima do ponto isoelétrico (MARK, 2013).

#### 2.1.2 Filmes de gelatina

A gelatina é um dos biopolímeros que vem sendo explorado quando se visa à substituição dos polímeros provenientes de fontes não renováveis e está sendo utilizada para a produção de filmes para diversos fins (CHANDRA; RUSTGI, 1998; LIU et al., 2016).

Filmes de gelatina são preparados a partir da dissolução de gelatina em água, geralmente aquecida, seguido de moldagem do filme através da disposição da solução em placas ou tabuleiros e, finalmente, a secagem. Geralmente, há investigação de propriedades mecânicas, de barreira e de umidade dos filmes preparados à base de gelatina. Contudo, vale ressaltar que as propriedades consideradas mais importantes para este tipo de filme são a absorção de água, a perda de água em função do tempo, as propriedades mecânicas, térmicas e de barreira que se referem a permeabilidade ao vapor d'água, ao oxigênio e a outros gases que podem permear através filme (SHUBHRA, 2013).

Quando filmes de gelatina são utilizados como revestimentos, há algumas desvantagens no que diz respeito à sua permeabilidade e resistência mecânica. Contudo, os filmes produzidos com gelatina costumam apresentar boas propriedades de barreira ao oxigênio e resistência mecânica satisfatória em baixos ou médios níveis de umidade relativa (umidades menores do que 65 %), embora essas propriedades se tornem problemáticas em altos níveis de umidade, devido à natureza hidrofílica da gelatina (ARVANITOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998; KROCHTA; BALDWIN; NISPEROS-CARRIEDO, 1994).

Visando a melhoria das propriedades dos filmes de gelatina, sugere-se a adição de plastificantes, como glicerol e sorbitol. Ao utilizar essas substâncias ocorre um aumento na flexibilidade, os filmes formados se tornam menos quebradiços e com propriedades mecânicas melhores (ANDREUCETTI; CARVALHO; GROSSO, 2009; VANIN et al., 2005). Outra possibilidade é o uso de compostos fenólicos naturais ou algumas enzimas, como, por exemplo, a transglutaminase, como agente reticulante, objetivando a melhoria das propriedades térmicas e mecânicas (ALVES et al., 2011; BIGI et al., 2001; CAO; YANG; FU, 2009; MARTUCCI; ACCAREDDU; RUSECKAITE, 2012; MARTUCCI; RUSECKAITE; VÁZQUEZ, 2006).

Em suma, a melhor estratégia para reforçar as propriedades dos filmes de gelatina consiste em modificar a natureza hidrofílica do polímero, o que pode ser feito com o uso de agentes plastificantes ou reticulantes. Além disso, podem ser aplicados processos como laminação e fabricação de filmes com camadas múltiplas de forma a promover a melhoria da resistência mecânica, quando necessário (LIU et al., 2016).

### **2.1.3 Plastificantes**

Sothornvit e Krochta (2005) apresentaram uma lista de diferentes plastificantes que são comumente utilizados em biopolímeros, tais como propilenoglicol, sorbitol, glicerol, polietilenoglicol de diversas massas molares, sacarose, água, glicose, entre outros. Esses plastificantes contêm números diferentes de grupos hidroxila, portanto, ao utilizá-los pode-se produzir uma vasta gama de biopolímeros plastificados com diferentes aditivos. Os plastificantes mais utilizados na produção de filmes à base de gelatina são o sorbitol e o glicerol (HAN, 2005).

Os plastificantes são utilizados como aditivos em polímeros que não são suficientemente dúcteis ou flexíveis para a aplicação em que serão utilizados. A plastificação pode modificar as propriedades térmicas, mecânicas e de barreira, sendo que, em geral, os



plastificantes produzem fluidez, tornando possível diminuir as temperaturas de processamento dos polímeros. Além disso, os plastificantes reduzem as forças intermoleculares ao longo das cadeias poliméricas, aumentando o volume de vazios e os movimentos das cadeias (HAN, 2005; IMMERGUT; MARK, 1965).

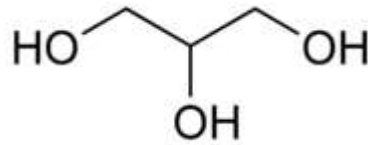
A adição de plastificantes diminui a viscosidade do polímero na fusão, o seu módulo de elasticidade e a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ). Sabe-se que plastificantes com moléculas relativamente pequenas são mais eficientes para a diminuição da  $T_g$ , além disso, as diferenças na propriedade higroscópica dos plastificantes afeta de forma desigual a temperatura de transição vítrea do polímero. Um exemplo disto é o sorbitol, que é menos higroscópico do que o glicerol e, portanto, exibe uma plastificação menos eficiente do que este (HAN, 2005; SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

De acordo com Immergut e Mark (1965) há dois tipos de mecanismos de plastificação: interno e externo. Quando um polímero é modificado quimicamente ou um novo polímero é sintetizado por copolimerização, o processo consiste em uma plastificação interna. Os polímeros produzidos por este mecanismo de plastificação têm uma temperatura de transição vítrea e um módulo de elasticidade mais baixos do que os polímeros originais a partir dos quais foram desenvolvidos. Por outro lado, quando a adição de plastificantes não resulta em ligações químicas, o processo é de plastificação externa. Nesse caso, o que acontece é uma interação do plastificante com o polímero, criando vazios entre as moléculas da estrutura. As vantagens de usar esse modo de plastificação consistem na variedade de possibilidades de escolha de plastificantes e no baixo custo dos mesmos (BANKER, 1967; HAN, 2005; SEARS; DARBY, 1982; SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

O glicerol, também conhecido comercialmente como glicerina, é um composto orgânico tri-álcool, com três carbonos que, segundo a nomenclatura oficial da *International Union of Pure Applied Chemistry* (IUPAC), se chama 1,2,3-propanotriol. A presença dos três grupos hidroxila na estrutura do glicerol, possivelmente, é responsável pela sua solubilidade em água e pela natureza higroscópica deste composto (BEATRIZ; ARAÚJO; LIMA, 2011).

De acordo com Lide (1998), o glicerol é um composto químico de massa molar  $92,09 \text{ g mol}^{-1}$ , massa específica de  $1,26 \text{ g cm}^{-3}$  e viscosidade de  $1,5 \text{ Pa s}$ , sua fórmula química é  $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$  e a sua estrutura molecular é demonstrada na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura química do glicerol (HAN, 2005).



O glicerol foi preparado pela primeira vez em 1779, pelo químico sueco Carl W. Scheele através do aquecimento de óleo de oliva com litargírio (óxido de chumbo). Depois da lavagem do composto obtido com água, Scheele obteve uma solução adocicada, que após a evaporação da água resultou em um líquido pesado e viscoso. Em 1846, o químico italiano Ascanio Sobrero produziu a nitroglicerina e, em 1867, Alfred Nobel absorveu-a em diatomita, tornando seguro o seu manuseio como dinamite (KATHA, 1999).

Estas descobertas ocasionaram um aumento na demanda de glicerol e, em virtude desse aumento, em 1870 desenvolveu-se um método para recuperação da glicerina e do sal das lixívias de sabão, que permitiu satisfazer, em parte, a demanda de glicerina. Com o avanço das pesquisas, a partir dos anos 1950 o glicerol passou a ser produzido sinteticamente a partir de matérias-primas petroquímicas (LIDE, 1998).

Atualmente, a principal fonte de geração de glicerol é a indústria do biodiesel, na qual o glicerol é subproduto da reação de transesterificação de triglicerídeos com um álcool na presença de catalisadores homogêneos ou heterogêneos (KNOTHE et al., 2006). Com o avanço do Programa Nacional do Biodiesel, em 2012, a geração de glicerol atingiu cerca de 260 mil toneladas apenas como subproduto do biodiesel, volume que é aproximadamente oito vezes superior à demanda deste composto (estimada em cerca de 40 mil toneladas), daí a importância de se destinar o glicerol para as mais variadas aplicações (VASCONCELOS, 2012).

## 2.2 FILMES ATIVOS

Materiais ou objetos ativos são aqueles destinados a prolongar a vida útil ou manter/melhorar as condições de produtos embalados. Esse tipo de material é desenvolvido de forma a incorporar componentes que liberam ou absorvem determinadas substâncias do produto ou da atmosfera em torno do mesmo, visando sua melhor conservação (EUROPEAN COMMISSION, 2009).

Os filmes com propriedades antimicrobianas, que caracterizam um tipo de filme ativo, são amplamente utilizados na indústria alimentícia como embalagens. Nesse contexto,

uma embalagem ativa é um tipo de embalagem que, além de atuar como barreira protetora, pode absorver substâncias químicas liberadas pelo alimento ou presentes na atmosfera em torno da embalagem e pode, também, liberar substâncias para o alimento ou o ambiente que o circunda, tais como conservantes, antioxidantes, aromas, entre outros (AZEREDO; FARIA; AZEREDO, 2000; EUROPEAN COMMISSION, 2009; ROONEY, 1995). Contudo, na indústria farmacêutica também são utilizados filmes ativos, conforme exposto no item a seguir.

### **2.2.1 Filmes ativos como curativos**

Na indústria farmacêutica se encontra uma classificação que divide os filmes curativos em três tipos principais, relacionado às suas propriedades ativas (PAUL; SHARMA, 2004; ROMANO et al., 2015):

- a) curativos passivos – apenas cobrem a ferida, não auxiliam na cicatrização;
- b) curativos interativos – contribuem para a cicatrização impedindo a passagem de bactérias e permitindo a passagem apenas de oxigênio e vapor de água;
- c) curativos ativos – fornecem agentes antimicrobianos ou fármacos que contribuem para o processo de cicatrização dos ferimentos.

De forma a estruturar os curativos, o uso de outros aparatos faz-se necessário. O material mais comumente utilizado é a gaze fibrosa, um curativo passivo largamente empregado devido à sua pronta disponibilidade e baixo custo. No entanto, existem materiais alternativos mais recentes e tecnologicamente avançados para substituir a gaze, como espumas, hidrogéis e alguns polímeros. A utilização de hidrogéis tem sido explorada, porque a maioria é macio, flexível, adapta-se à área da ferida, é biocompatível e permeável ao vapor de água e aos metabólitos. Além disso, quando utilizados para essa finalidade, eles podem absorver o exsudato liberado pelo ferimento, ao mesmo tempo em que permitem o acesso de oxigênio ao local da ferida, acelerando a cicatrização. Nesse contexto, a gelatina também pode ser utilizada para este fim, pois fornece as propriedades de interesse para o desenvolvimento de curativos e, por meio da adição de algum agente antimicrobiano, os filmes formulados à base de gelatina podem se tornar filmes ativos. (HESS, 2012; LU et al., 2010; MARK, 2013).

Comercialmente, existem alguns curativos que realizam a liberação prolongada de prata, mas esses produtos variam consideravelmente em termos de tecnologia, teor de prata, padrões de liberação do íon  $\text{Ag}^+$  e recomendação para aplicação clínica. Em alguns casos, os

fluidos liberados pelo ferimento desencadeiam a liberação dos íons prata para ação antimicrobiana ou para absorção no tecido da ferida, mas o ideal é que a liberação dos íons prata seja mantida durante o período de vida esperado para o curativo. Três formas principais de curativo com ação antimicrobiana são comercialmente disponibilizadas (LANSDOWN, 2006; LANSDOWN et al., 2005; LANSDOWN; WILLIAMS, 2004):

- a) curativos que liberam altos níveis de íons prata, visando à rápida ação antimicrobiana;
- b) curativos que absorvem o exsudato liberado pelo ferimento e liberam os íons prata;
- c) curativos que liberam sulfadiazina de prata sobre o ferimento.

Alguns curativos ativos fazem uso das características citadas em a e em b, mas liberam mais prata do que é considerado necessário para uma ação antimicrobiana adequada, que fica entre 10 e 40 ppm de  $\text{Ag}^+$ , isto porque o teor de prata dos curativos comercialmente disponíveis, em geral, varia de 10 até mais de 100 mg por 100  $\text{cm}^2$ . Alguns curativos exercem a liberação de íons prata que estão incorporados em materiais como hidrocolóides, tecidos sintéticos ou fibras orgânicas. Nesse caso, os íons prata proporcionam a atividade antimicrobiana e os demais materiais servem para absorver exsudatos, odores e resíduos do ferimento. Em todos os casos, os materiais selecionados para compor o curativo devem ser de baixa toxicidade e contribuir para a cicatrização do ferimento (ENOCH; HARDING, 2003; LANSDOWN, 2006; LANSDOWN; WILLIAMS, 2004).

Além do mais, os curativos antimicrobianos se caracterizam por serem produtos que fornecem tratamentos tópicos para feridas, portanto eles devem, preferencialmente, incluir em sua composição compostos que possam agir como antimicrobianos. Desta forma, além de auxiliar na cicatrização dos ferimentos, os curativos ativos impedem que os microrganismos que habitam a pele humana atuem como patógenos ao entrar em contato com a ferida (HESS, 2012).

A pele humana é habitada por um conjunto de microrganismos que pode ser dividido em microbiota residente ou microbiota temporária. A microbiota residente é o conjunto de microrganismos que colonizam a pele humana e que não causam doenças em condições normais, mas que podem se comportar como patógenos oportunistas em situações adversas. Por outro lado, a microbiota transitória é composta por microrganismos que podem, ou não, possuir potencial patogênico e que são encontrados ocasionalmente na superfície da pele, permanecendo lá por horas, dias ou semanas, mas não permanentemente (MACHADO, 2012).

Dentre os microrganismos comumente presentes na pele destacam-se as bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium* e *Streptococcus* e fungos dos gêneros *Malassezia* e *Pityrosporum*. Entretanto, muitos autores afirmam que o *Staphylococcus aureus* é uma das bactérias encontradas com maior frequência em infecções de queimaduras, tornando-se uma das bactérias colonizadoras mais comuns neste tipo de ferimento. Isso é decorrente da bactéria estar presente naturalmente na pele do ser humano, o que a torna carreador do microrganismo e, também, porque pode ocorrer contaminação por *S. aureus* proveniente de outras fontes, como o ambiente hospitalar, os profissionais da saúde, soluções de sulfadiazina de prata e tanques de hidroterapia, por exemplo (ATOYEBI; SOWEMIMO; ODUGBEMI, 1992; DE MACEDO; ROSA; CASTRO, 2003; MACEDO; SANTOS, 2005; MACHADO, 2012; SONG et al., 2001).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria aeróbia gram-positiva que pertence ao gênero *Staphylococcus*. Este gênero possui aproximadamente 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Dessa forma, o *S. aureus* foi selecionado para os experimentos feitos neste estudo justamente por ser muito comum e estar presente em grande concentração na microbiota da pele humana normal. Em geral, esse microrganismo pode ser encontrado nas fossas nasais ou na pele de recém-nascidos, crianças e adultos e, a partir disso, alcançar outras regiões da pele e das mucosas. Por isso, quando a pele e as mucosas estão comprometidas por um ferimento ou cirurgia, o *S. aureus* pode se alojar no tecido e provocar lesões. Isto significa que, mesmo sendo um microrganismo residente na pele humana, ele está relacionado com diversas infecções em seres humanos (CASSETTARI; STRABELLI; MEDEIROS, 2005; ROBERTS; CHAMBERS, 2005; SANTOS et al., 2007; VELÁZQUEZ-MEZA, 2005).

### 2.2.2 Agentes antimicrobianos

Alguns metais pesados podem agir como antimicrobianos na forma de sais, óxidos ou coloides. Esses compostos podem ser incorporados a um filme polimérico de forma a conferir propriedades antimicrobianas ao mesmo. Os metais e óxidos metálicos mais comumente utilizados para essa finalidade são a prata (Ag), ouro (Au), óxido de zinco (ZnO), dióxido de silício (SiO<sub>2</sub>), dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), óxido de alumínio (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e óxidos de ferro (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). Alguns extratos naturais, óleos essenciais, ácidos orgânicos fracos e

tipos específicos de enzimas (chamadas de bacteriocinas<sup>1</sup>), entre outros, também podem agir como antimicrobianos (CORRALES; FERNÁNDEZ; HAN, 2013).

Sendo o foco deste trabalho a utilização de prata iônica como agente antimicrobiano, destaca-se que os íons prata são considerados bons antimicrobianos, pois conseguem atacar um grande número de bactérias e fungos. Os íons prata são considerados agentes antimicrobianos de amplo espectro, pois possuem pouca especificidade de gêneros de microrganismos e são eficazes contra bactérias, leveduras e fungos, indistintamente. Isto indica que a ação antimicrobiana exercida pelos íons  $\text{Ag}^+$  sobre os microrganismos atingem componentes ou funções que diversos microrganismos têm em comum (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001; NORDBERG et al., 2011).

Os íons prata possuem propriedades biocidas em longo prazo e apresentam baixa toxicidade para células eucarióticas. Acredita-se que a prata pode interferir na função metabólica, sistemas respiratório, de transporte de elétrons e de transferência de massa entre as membranas celulares dos microrganismos. Pode, também, ocasionar inativação de proteínas, enzimas e DNA, decorrente da ligação do  $\text{Ag}^+$  a grupos contendo fósforo ou enxofre, além de causar danos à membrana celular e mitocôndria e gerar moléculas reativas de oxigênio e radicais livres (CHOI et al., 2008; CORRALES; FERNÁNDEZ; HAN, 2013; NORDBERG et al., 2011; RAI; YADAV; GADE, 2009; SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).

O processo que rege a atividade antimicrobiana dos íons prata, possivelmente, ocorre pela adsorção dos íons na superfície das células microbianas, seguido de incorporação às células por transporte ativo, o que inibe uma gama de enzimas metabólicas. Da mesma forma que os íons  $\text{Ag}^+$  reagem com proteínas, é possível que reajam, também, com proteínas enzimáticas diferentes após incorporação nas células microbianas. Isto causa inibição dos processos metabólicos necessários para sustentar a vida do microrganismo (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001).

Entre os íons metálicos utilizados como agentes antimicrobianos, o íon  $\text{Ag}^+$  é o que possui a maior atividade antimicrobiana. Considera-se que a ação é notável mesmo em concentrações na faixa de 0,02 a 0,05 ppm de  $\text{Ag}^+$ . Contudo, a prata metálica não libera íons facilmente, fazendo com que a atividade antimicrobiana não seja tão evidente nessa conformação. Entretanto, essa característica a torna um metal seguro e relativamente inerte, podendo ser usada em utensílios para contato humano direto (ATIYEH et al., 2007; BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001).

---

<sup>1</sup> Proteínas com atividade antimicrobiana produzidas por bactérias lácticas.

Por outro lado, como precursor da liberação de íons prata, o sal mais comumente utilizado é o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), porque esse composto forma íons prata facilmente quando diluído em solução aquosa. Mesmo em concentrações mais baixas do que a do microrganismo, o íon  $\text{Ag}^+$  obtido a partir deste sal provoca desnaturação da proteína. Como consequência, o nitrato de prata tem um histórico de utilização como antisséptico até mesmo em ambientes hospitalares (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001).

A utilização de plataformas de liberação dos agentes antimicrobianos se torna interessante, pois visa aumentar o tempo de efeito destes agentes, propiciando uma liberação controlada dos mesmos (BARBOSA et al., 2016). As zeólitas são elencadas como um bom sistema de liberação de fármacos e outros compostos, pois possuem propriedades, como elevada capacidade de adsorção e troca iônica, que favorecem essa aplicação.

### 2.2.3 Zeólitas

No ano de 1756, o mineralogista sueco Baron Alex Frederick Cronstedt identificou um novo grupo de minerais, que nomeou como zeólitas unindo duas palavras gregas, *zein* e *lithos* que significam “pedra que ferve”. A nomeação foi decorrente do material ter borbulhado e liberado grande quantidade de vapor ao ser rapidamente aquecido (KOGEL et al., 2006; CRONSTEDT, 1756 apud BOGDANOV et al., 2009).

A partir do ano 1950, descobriu-se que as zeólitas são os maiores componentes de um vasto número de rochas vulcânicas, sendo encontradas diversas ocorrências em diferentes países. Presume-se que zeólitas naturais tenham sido formadas a partir de reações químicas entre cinzas vulcânicas e água alcalina, que ocorreram ao longo de milhares de anos, ou que tenham se desenvolvido a partir da precipitação de fluidos, devido a fenômenos hidrotermais. As condições de temperatura, pressão e atividade das espécies iônicas são fatores determinantes na formação de diferentes espécies de zeólitas (BOGDANOV et al., 2009; LUZ, 1995).

Com a evolução das pesquisas, começou a se desenvolver a síntese de zeólitas em laboratório, visando à melhoria das propriedades em relação às existentes nas zeólitas naturais (FERRET, 2004). Existem basicamente dois procedimentos: o método alcalino hidrotérmico, que se assemelha ao processo pelo qual as zeólitas naturais são formadas, e o processo de cristalização a partir de hidrogel aluminossilicatado. O primeiro método utiliza como fontes de Si e Al aluminossilicatos amorfos sólidos, como caulim, cinzas provenientes

da combustão de carvão, argilas, entre outros. O segundo método emprega soluções supersaturadas de aluminatos e silicatos (FERRET, 2004; LUZ, 1995).

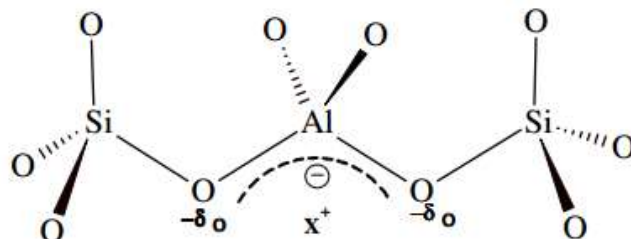
As zeólitas foram consideradas um grupo diferenciado de minerais, sendo que mais de 50 tipos de zeólitas naturais foram descobertos e cerca de 100 tipos são sintetizados em laboratório. Dentre as zeólitas naturais, os tipos conhecidos por analcima, chabazita, clinoptilolita, heulandita, natrolita e phillipsita foram encontrados em depósitos consideravelmente grandes. A exploração destes depósitos cresceu devido ao baixo custo de lavra das reservas e ao potencial econômico de utilização das zeólitas. Entretanto, embora as primeiras zeólitas tenham sido descobertas no século XVIII, até a metade do século XX sua ocorrência em rochas sedimentares, seu potencial econômico e as vastas possibilidades de utilização não foram reconhecidos (BOGDANOV et al., 2009; KOGEL et al., 2006; LUZ, 1995; MUMPTON, 1999).

A vasta gama de possibilidades de utilização das zeólitas está relacionada às suas propriedades, principalmente capacidade de troca catiônica, adsorção e peneira molecular, capacidade catalítica e desidratação e reidratação (MUMPTON, 1999).

### 2.2.3.1 Propriedades das zeólitas

As zeólitas são aluminossilicatos porosos, estruturados em redes cristalinas tridimensionais e formados por estruturas tetraédricas compostas por moléculas do tipo  $TO_4$ , em que T pode ser silício (Si) ou alumínio (Al). Conforme pode ser observado na Figura 3, os átomos de oxigênio unem uma estrutura tetraédrica à outra em seus vértices. Os tetraedros existentes nas zeólitas são ligados entre si de modo a formar cadeias que se conectam por aberturas de poros de tamanhos diferentes, característica que justifica a elevada porosidade das zeólitas. Normalmente, o tamanho dos poros destes minerais varia de 0,3 a 1 nm (AUERBACH; CARRADO; DUTTA, 2003; LUZ, 1995; SZOSTAK, 1998).

Figura 3 – Esquema estrutural da zeólita, onde  $X^+$  representa o cátion extraestrutural (PETKOWICZ, 2009).





Quando ocorre a substituição de um átomo de  $\text{Si}^{+4}$  por um átomo de  $\text{Al}^{+3}$  nesta estrutura, acontece um desequilíbrio que a deixa negativamente carregada. De forma a compensar a carga gerada, faz-se necessária a presença de cátions extraestruturais, que são íons permutáveis, comumente do grupo I ou II da tabela periódica ou cátions orgânicos. Essa característica atribui às zeólitas propriedades de troca iônica, devido à possibilidade de substituição dos seus íons (AUERBACH; CARRADO; DUTTA, 2003; LUZ, 1995).

Além da capacidade de troca iônica, as zeólitas também são capazes de absorver e expelir água de forma reversível, sem alterar a sua estrutura. Isso ocorre porque as cavidades presentes na estrutura desses materiais permitem a passagem de moléculas de água, que formam esferas de hidratação em torno dos cátions trocáveis. Quando ocorre a remoção dessas moléculas de água por aquecimento, outras moléculas menores conseguem passar livremente pelas cavidades da estrutura, enquanto que as moléculas maiores são excluídas. Daí a denominação da propriedade de peneira molecular das zeólitas cristalinas. Ainda, sabe-se que as zeólitas adsorvem moléculas polares com alta seletividade (MUMPTON, 1999).

#### 2.2.3.2 Clinoptilolita

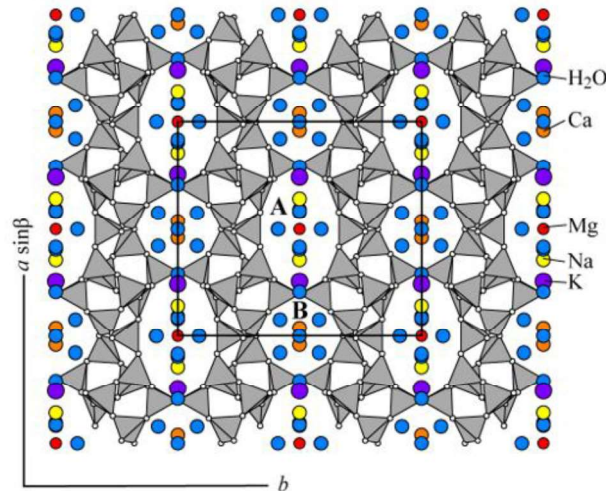
Dentre as zeólitas naturais, a clinoptilolita é, provavelmente, a mais abundante e também uma das zeólitas naturais mais comuns, sendo encontrada principalmente em rochas sedimentares de origem vulcânica. Essas rochas contêm em média entre 60 e 90 % de zeólita e o percentual restante normalmente é composto por feldspatos, argila, vidro e quartzo (ARMBRUSTER, 2001; BRECK, 1984).

A zeólita clinoptilolita é muito útil, podendo ser utilizada em diversas aplicações, como, por exemplo, peneira molecular, aditivo alimentar em rações animais, produtos de higiene animal, fertilizantes, absorvedor de gases e odores e materiais de construção. A diversidade de aplicações em que essa zeólita pode ser utilizada se deve às suas características, principalmente alta porosidade, alta resistência em temperaturas extremas e estrutura quimicamente neutra. Ainda, pode-se considerar que o alto nível de absorção, a capacidade de troca iônica, a capacidade catalítica e a atividade de desidratação tornam a clinoptilolita facilmente utilizável em diversos processos (ARMBRUSTER, 2001; POLAT et al., 2004).

A fórmula simplificada que representa a célula unitária da zeólita clinoptilolita é dada por  $(\text{Na}, \text{K}, \text{Ca}_{0,5}, \text{Mg}_{0,5})_6\text{Si}_{30}\text{Al}_6\text{O}_{72}\cdot 20\text{H}_2\text{O}$ . Esta zeólita possui um volume de vazios de aproximadamente 34 %, determinado através do teor de água existente na zeólita, e o tamanho

dos seus poros é estimado na faixa de 3,9 a 5,4 Å, o que a classifica como uma zeólita mesoporosa. A estrutura tetraédrica da zeólita clinoptilolita, representada na Figura 4, é composta por séries de mesma topologia e estrutura da zeólita heulandita, diferindo desta outra apenas pela relação Si/Al que, na clinoptilolita, é maior ou igual a quatro (ARMBRUSTER, 2001; MUMPTON, 1999).

Figura 4 – Estrutura cristalina da zeólita clinoptilolita (“Clinoptilolite”, 2017).



Pela análise da Figura 4, pode-se observar que o cristal contém três conjuntos de canais de interseção localizados no plano cristalográfico (010). Os canais A e B são paralelos ao eixo c, sendo que os canais A são formados por anéis de dez membros fortemente comprimidos (abertura de 3,0 x 7,6 Å) e os canais B estão formados por anéis de oito membros (abertura de 3,3 x 4,6 Å) (ARMBRUSTER, 2001).

### 2.2.3.3 Zeólitas modificadas

A estrutura porosa das zeólitas é composta por canais e cavidades de dimensões moleculares nas quais se encontram íons de compensação, moléculas de água ou outros adsorvatos e sais. Desta forma, a superfície interna desses aluminossilicatos é muito maior do que a superfície externa. Esse fator contribui para a transferência de matéria entre os espaços intracristalinos, porém essa transferência é limitada pelo diâmetro dos poros das zeólitas. Sendo assim, apenas moléculas cujas dimensões sejam inferiores a um valor crítico podem entrar ou sair do espaço intracristalino, que varia de uma zeólita para outra e corresponde ao tamanho dos poros dessa zeólita (LUZ, 1995).

As zeólitas podem ser modificadas com diferentes compostos para diversas finalidades: aumentar a capacidade de troca catiônica e adsorção, visando à remoção de poluentes de efluentes líquidos ou gasosos; atrair diferentes classes de compostos (como ânions, cátions e moléculas orgânicas) de efluentes líquidos, quando modificada com surfactantes; atuar como catalisador, quando modificada com ferro, por exemplo; e atuar como agente antimicrobiano, quando modificada com prata, por exemplo; entre outras possibilidades (ARMBRUSTER, 2001; BARBOSA et al., 2016; BOSCHETTO, 2009; LIU et al., 2015; MAGDALENA, 2015; NINAN et al., 2014; TRINH; KIM; MOK, 2016).

Em decorrência da capacidade de troca catiônica das zeólitas, alguns íons que se encontram originalmente na sua estrutura, como o sódio, podem ser substituídos por outros íons metálicos. No caso do íon prata, o  $\text{Ag}^+$  pode efetivamente substituir o íon  $\text{Na}^+$  para formar o que é chamado de Ag-zeólita ou zeólita-Ag, zeólita com alguns dos íons originais substituídos por íons prata. Na fabricação de Ag-zeólita, normalmente é utilizada uma zeólita sintética, porém esse processo também pode ser realizado em zeólitas naturais (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001).

A facilidade de troca de íons presentes originalmente na zeólita por íons prata pode ser explicada pela polaridade elevada desses íons. A carga eletrostática da estrutura da zeólita é capaz de polarizar os íons prata, de modo que estes se transformam em dipolos e direcionam sua carga positiva para a extremidade carregada da estrutura. Por outro lado, o processo de liberação do íon prata do material zeolítico é composto por três etapas: a difusão da água no composto, a reação entre as moléculas de prata e água, formando íons prata, e a migração dos íons prata através do composto que rege a liberação do agente ao meio de interesse (MATSUMURA et al., 2003; PEHLIVAN et al., 2005; RADHESHKUMAR; MÜNSTEDT, 2006).

Quando a modificação das zeólitas com íons prata é feita visando à transformação da zeólita em um material com ação antimicrobiana, se torna interessante compreender que a liberação de íons prata da Ag-zeólita não é observada em água pura, mas sim em meios que contêm outros íons, necessários para a realização da troca iônica. Os íons prata liberados no meio podem reagir com compostos de enxofre ou outros componentes ativos, formando substâncias inertes e fazendo com que apenas uma parte do  $\text{Ag}^+$  liberado demonstre atividade antimicrobiana. Dessa forma, quanto maior for a substituição de íons originais da zeólita por íons prata, maior será sua atividade antimicrobiana (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001). Além disso, as zeólitas modificadas com prata são constantemente utilizadas como aditivos em polímeros como polietileno, polipropileno e nylon, por exemplo, visando, principalmente,

a inserção de um agente antimicrobiano (BARBOSA et al., 2016; BOSCHETTO et al., 2012; FERNÁNDEZ et al., 2010; PEHLIVAN et al., 2005).

Como a ação antimicrobiana é decorrente da presença de íons prata na estrutura da zeólita e não da zeólita propriamente dita, esta mantém sua atividade antimicrobiana apenas enquanto ainda retém íons  $\text{Ag}^+$  em sua estrutura. Isto significa que a partir do momento que todos os íons prata são eluídos da estrutura da zeólita, ela deixa de apresentar atividade antimicrobiana (BRODY; STRUPINSKY; KLINE, 2001).

### 2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE A REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção foi apresentada uma revisão bibliográfica sobre biopolímeros e filmes ativos, aprofundando a fundamentação teórica acerca dos materiais selecionados para serem utilizados no desenvolvimento deste trabalho. Durante a pesquisa, constatou-se a importância de reduzir o uso de polímeros provenientes de fontes não renováveis e uma das alternativas é a substituição dos mesmos por biopolímeros. Dentre estes, a gelatina se mostra promissora para ser empregada em aplicações na indústria farmacêutica como curativos, por ser biocompatível e possuir características favoráveis à formação de filmes.

Além disso, verificou-se a forma como os filmes ativos agem, principalmente quando contêm um agente antimicrobiano e quando são aplicados como curativos, e as vantagens de utilizá-los, em comparação com os filmes passivos. Percebeu-se que os biopolímeros mais utilizados para o desenvolvimento de filmes em outros estudos foram o amido, a quitosana e o poli (ácido lático), contudo, alguns estudos reportam a utilização de gelatina para o desenvolvimento de *scaffolds* e de embalagens.

Verificou-se, também, que há diversos relatos da utilização de zeólitas modificadas para os mais variados fins. A incorporação de diferentes tipos de zeólitas impregnadas com prata em filmes poliméricos, seja para aplicações médicas ou para embalagens, é bastante explorada. Assim, neste trabalho, decidiu-se utilizar uma zeólita natural comercial que apresenta propriedades interessantes para diversas aplicações, sendo pouco utilizada para produção de filmes.

De acordo com a literatura, foram obtidos resultados satisfatórios em se tratando de propriedades antimicrobianas e curativas conferidas aos filmes em decorrência da adição de íons prata. Além disso, tendo em vista que são utilizados medicamentos e curativos à base de prata e que os íons deste metal são considerados bons agentes antimicrobianos, a modificação

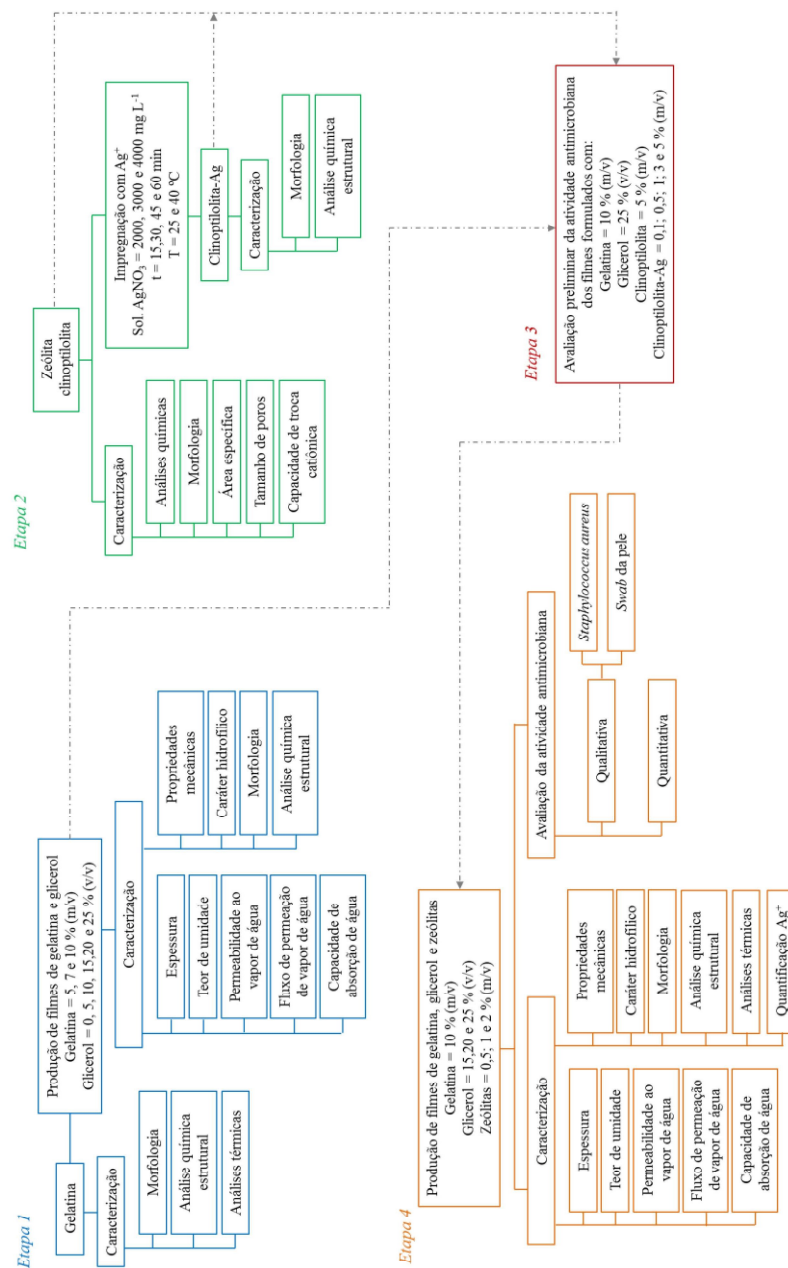
de uma zeólita com íons  $\text{Ag}^+$  e sua incorporação em filmes poliméricos resulta em um tratamento alternativo para feridas crônicas e queimaduras.

Dessa forma, ao se utilizar a gelatina no desenvolvimento deste trabalho, é utilizado um biopolímero biocompatível que, além de contribuir para a redução do impacto ambiental, provavelmente terá seu valor agregado aumentado após a produção dos filmes. Considera-se, também, que os filmes à base de gelatina contendo zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata representam uma aplicação médica em potencial, visto que podem ser utilizados para tratamento de alguns tipos de ferimentos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção tem como objetivo apresentar a metodologia utilizada na realização deste trabalho, descrevendo os materiais, técnicas e equipamentos utilizados, além do detalhamento dos procedimentos experimentais adotados. A seção foi dividida em quatro etapas, demonstradas na Figura 5, para melhor entendimento da sequência adotada para o desenvolvimento deste trabalho.

Figura 5 – Fluxograma que representa as etapas do trabalho.



### 3.1 ETAPA 1 – FILMES DE GELATINA E GLICEROL

A primeira etapa deste trabalho contempla a caracterização da gelatina utilizada para desenvolvimento dos filmes e a produção e caracterização dos filmes de gelatina e glicerol.

#### 3.1.1 Caracterização da gelatina

A gelatina em pó (*Merck Millipore*, DE) utilizada neste trabalho é proveniente de pele suína e pode ser considerada como gelatina do tipo A, visto que é obtida por meio de tratamento ácido em pH 2,5 (RIETH, 2016). Este material foi avaliado em termos da análise química estrutural e de análises térmicas.

##### 3.1.1.1 Análise química estrutural

A gelatina em pó foi caracterizada através do ensaio de espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* – FTIR). O espectro foi obtido em espectrofotômetro de absorção molecular na região do infravermelho médio por transformada de *Fourier* MIR-FTIR *Frontier* (*Perkin Elmer*, US) da Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS. Foi utilizado o modo de análise UATR e os espectros foram coletados em transmitância, com varredura de 32 *scans* e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

##### 3.1.1.2 Análises térmicas

As análises térmicas realizadas foram a termogravimetria e a calorimetria exploratória diferencial, com o objetivo de verificar o comportamento do polímero sob ação da temperatura, bem como para averiguar a faixa de temperaturas que ele pode ser submetido sem sofrer degradação.

###### 3.1.1.2.1 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (*Thermogravimetric Analysis* – TGA) foi realizada em um analisador TA *Instruments* SDT-Q600 (TA *Instruments*, US) da Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS, sendo utilizado o software *Advantage for*

*Q Series Version – Thermal Advantage Release 5.5.20*, para obtenção dos dados. Durante a realização do ensaio, as amostras foram aquecidas no intervalo de 25 a 600 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, sob atmosfera de gás nitrogênio a uma vazão de 20 mL min<sup>-1</sup>.

#### 3.1.1.2.2 Calorimetria exploratória diferencial

As análises de calorimetria exploratória diferencial (*Differential Scanning Calorimetry – DSC*) foram realizadas no equipamento *Perkin Elmer DSC 6000 (Perkin Elmer, US)* da Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS. Foi utilizado o software *Pyris – Instrument Managing Software 11.0* para obtenção dos dados. Na primeira corrida, as amostras foram aquecidas de 0 a 130 °C, realizando, em seguida um resfriamento até -60 °C e um segundo aquecimento de -60 a 350 °C. Tanto os aquecimentos, quanto o resfriamento foram feitos a uma vazão de nitrogênio de 20 mL min<sup>-1</sup> e com uma taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>.

As temperaturas de transição vítrea e de fusão dos polímeros, em geral, são próximas, portanto foram utilizados dois ciclos de aquecimento para melhor observar esses eventos térmicos. No primeiro ciclo de aquecimento é degradada a história térmica do polímero e ocorre a desorganização da estrutura. Com o resfriamento rápido entre as corridas, não é possível a reorganização desta estrutura, através da recristalização, por exemplo, visto que a recristalização é um processo lento. Assim, no segundo aquecimento os eventos térmicos podem ser identificados com mais facilidade (NUNES, 2014).

### 3.1.2 Preparação dos filmes de gelatina e glicerol

Os filmes à base de gelatina que não continham zeólitas foram preparados conforme o método utilizado por Hosseini et al. (2015). A gelatina foi hidratada em água destilada a temperatura ambiente ( $\approx 22$  °C) por 30 minutos. Em seguida, a solução foi aquecida a 45 °C e mantida sob agitação a 200 rpm em *shaker* por 30 minutos. Adicionou-se o plastificante glicerol (*Synth, BR*) e a solução foi novamente posta sob agitação, nas condições anteriores, por mais 15 minutos para ocorrência das reações de plastificação.

Após a preparação, a suspensão foi disposta em placas de Petri (diâmetro de 90 mm) para formação dos filmes mantendo uma massa constante de 20 g e, em seguida, foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar DeLeo A3-DL-SED (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, BR) a 35 °C por 24 horas. Depois da secagem, os filmes foram



armazenados em câmara de umidade controlada, contendo solução saturada de nitrato de magnésio ( $Mg(NO_3)_2$ , com umidade relativa 53 % a temperatura de 25 °C) (HOSSEINI et al., 2015, 2016; MARTUCCI; ACCAREDDU; RUSECKAITE, 2012).

Os filmes à base de gelatina foram produzidos com teores de 5, 7 e 10 % (m/v) de gelatina e seis diferentes concentrações de glicerol: 0, 5, 10, 15, 20 e 25 % (v/v), com o objetivo de encontrar as composições de filme com propriedades como, por exemplo, capacidade de absorção de água, permeabilidade ao vapor de água e resistência à tração, mais adequadas para aplicação como curativos e, posteriormente, incorporar as zeólitas. Os valores definidos para as concentrações de glicerol e gelatina foram selecionados com base em trabalhos de outros autores, como Bigi et al. (2001), Boschetto (2009), Martucci, Accareddu e Ruseckaite (2012), Ninan et al. (2013), Santos (2014).

### **3.1.3 Caracterização dos filmes de gelatina e glicerol**

Os filmes compostos de gelatina e glicerol foram analisados em relação às seguintes características: espessura, teor de umidade, permeabilidade ao vapor de água, fluxo de permeação de vapor de água, capacidade de absorção de água, propriedades mecânicas, caráter hidrofílico, morfologia e análise química estrutural. Com exceção dos ensaios morfológicos e de análise química estrutural, todos os ensaios foram realizados, pelo menos, em triplicata.

#### **3.1.3.1 Espessura**

A espessura dos filmes foi medida com o auxílio de um paquímetro de 150 mm, com capacidade de aferição de 0,02 mm (*Lee Tools*, BR). Foram feitas 10 medidas em diferentes partes de cada filme e a espessura foi expressa como a média aritmética destas medidas.

#### **3.1.3.2 Teor de umidade**

O teor de umidade dos filmes compostos de gelatina e glicerol foi avaliado através de análise gravimétrica, medindo a massa de amostras de 10 x 10 mm dos filmes antes e após a secagem em estufa DeLeo A3-DL-SED (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, BR) a 105 °C por 24 horas, conforme metodologia da AOAC 930.04 (1990).

O teor de umidade dos filmes foi calculado utilizando a Equação 2.

$$U = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100 \quad (2)$$

onde  $U$  é o teor de umidade da amostra (%),  $m_i$  é a massa inicial da amostra (g) e  $m_f$  é massa final da amostra após a secagem (g).

### 3.1.3.3 Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi avaliada pelo método ASTM E96-10, com algumas modificações (ASTM, 2010). As amostras de filmes foram fixadas em células de permeação, com diâmetro interno de 63 mm e altura de 22 mm, preenchidas com sílica gel ( $UR = 0\%$ ), as células de permeação foram colocadas em uma câmara de umidade controlada contendo solução saturada de nitrato de magnésio ( $Mg(NO_3)_2$ ) com umidade relativa de 53 % a temperatura de 25 °C. O ganho de massa foi determinado pesando as cápsulas de permeação em uma balança analítica antes e após um período de 48 horas. A PVA ( $g\ m\ h^{-1}\ m^{-2}\ Pa^{-1}$ ) dos filmes foi determinada usando a Equação 3.

$$PVA = \frac{w\ e}{t\ A\ \Delta p} \quad (3)$$

onde  $w$  é a massa de água que permeou através do filme (g),  $e$  é a espessura dos filmes (m),  $t$  é o tempo de permeação (h),  $A$  é a área de permeação ( $m^2$ ) e  $\Delta p$  é a diferença de pressão de vapor de água entre os dois lados do filme (Pa).

A partir dos dados obtidos para a PVA, foi possível calcular o fluxo de permeação de vapor de água (FPVA –  $g\ h^{-1}\ m^{-2}$ ), conforme a Equação 4.

$$FPVA = \frac{PVA\ P_0\ (UR_1 - UR_2)}{e} \quad (4)$$

em que PVA é a permeabilidade ao vapor de água do filme ( $g\ m\ h^{-1}\ m^{-2}\ Pa^{-1}$ ),  $P_0$  é a pressão de vapor da água pura a 25 °C (Pa),  $e$  é a espessura do filme (m),  $(UR_1 - UR_2)$  é o gradiente de umidade relativa do ar verificado durante o experimento (CAO; YANG; FU, 2009).

### 3.1.3.4 Capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água foi determinada com base na norma ABNT NBR NM ISO 535:1999 (ABNT, 1999). Amostras de filme de 10 x 10 mm, previamente pesadas, foram submersas em 100 mL de água destilada a temperatura de 23 °C pelos tempos de 1, 15, 30, 45 e 60 minutos, após os períodos de tempo, o excesso de água foi retirado, com auxílio de papel toalha, e a massa final foi medida. A capacidade de absorção de água de cada filme foi determinada através da Equação 5.

$$CAA = \frac{m_f - m_i}{m_i} \cdot 100 \quad (5)$$

onde CAA é a capacidade de absorção de água da amostra (%),  $m_i$  é a massa inicial da amostra (g) e  $m_f$  é a massa final da amostra após a secagem (g).

### 3.1.3.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas em um texturômetro *Stable Micro Systems TA XT Plus* (*Stable Micro Systems Ltd.*, GB), do Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos (ICTA-UFRGS), utilizando corpos de prova de 25 x 70 mm. A força de tensão e a elongação na ruptura, bem como o módulo de Young foram determinados de acordo com a norma ASTM D882:2002, a partir do gráfico de tensão *versus* deformação gerado durante o ensaio (ASTM, 2002).

### 3.1.3.6 Caráter hidrofílico

O caráter hidrofílico dos filmes foi determinado através das medidas de ângulo de contato. Utilizou-se um analisador de ângulo de contato *Krüß DSA 100S* (*Krüß*, DE), do Laboratório Multiusuário de Análise de Superfícies e adotou-se o método da gota séssil, depositando uma gota de água destilada de 5 µL na superfície da amostra de filme (10 x 10 mm). Foram capturadas imagens a cada 30 segundos, até 3 minutos de ensaio e o ângulo foi determinado com auxílio do *software ImageJ* (*Laboratory for Optical and Computational Instrumentation – LOCI*, US).

### 3.1.3.7 Morfologia

Com o objetivo de visualizar a morfologia da superfície e da seção transversal dos filmes produzidos, as amostras foram previamente secas em dessecador contendo sílica gel por 20 dias. Após este período, os filmes foram fraturados em nitrogênio líquido e fixados em *stubs* utilizando fita de carbono. As amostras foram recobertas com ouro e posteriormente visualizadas em MEV JSM 6060 (*Jeol Ltd.*, JP), do Centro de Microscopia e Microanálise (CMM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Utilizou-se um potencial elétrico de aceleração de 10 kV e ampliações de 200 e 500 x, para análise seção transversal e da superfície, respectivamente.

### 3.1.3.8 Análise química estrutural

A análise química estrutural dos filmes de gelatina e glicerol foi realizada por meio da análise de infravermelho por transformada de *Fourier* seguindo a metodologia descrita no item 3.1.1.1.

## 3.2 ETAPA 2 – ZEÓLITA CLINOPTILOLITA

Nesta etapa do trabalho foi realizada a caracterização da zeólita clinoptilolita, bem como os ensaios de impregnação da zeólita com íons prata.

### 3.2.1 Caracterização da zeólita clinoptilolita

A zeólita comercial clinoptilolita Zeocel 0325 (Celta Brasil, BR) utilizada neste estudo foi submetida a análises de caracterização química, física e mineralógica, conforme exposto nos itens 3.2.1.1 a 3.2.1.4.

#### 3.2.1.1 Análises químicas

A zeólita clinoptilolita foi caracterizada quimicamente por meio dos ensaios de fluorescência de raios X (FRX) e espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier*.

#### 3.2.1.1.1 Fluorescência de raios X

A técnica de fluorescência de raios X foi aplicada na caracterização da zeólita clinoptilolita com o objetivo de determinar a sua composição química, pela identificação dos óxidos presentes na sua estrutura. Para a realização da análise semi-quantitativa de FRX, a amostra de zeólita foi prensada utilizando-se pastilhas metálicas com ácido bórico ( $H_3BO_3$ ), com uma relação massa de amostra/massa de  $H_3BO_3$  de 1:3. O ensaio foi feito no equipamento *Shimadzu XRF-1800* (*Shimadzu*, JP), do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

#### 3.2.1.1.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

O ensaio de espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* foi realizado para verificar os grupos funcionais presentes na estrutura da zeólita. O experimento foi feito conforme descrito no item 3.1.1.1

#### 3.2.1.2 Morfologia

Com o intuito de visualizar a morfologia da zeólita utilizada neste trabalho, a amostra foi afixada em *stubs* metálicos com auxílio de uma fita de carbono e recoberta com uma fina camada de ouro. Em seguida, fez-se a análise morfológica por MEV em microscópio eletrônico de varredura *Zeiss EVO 50* (*Carl Zeiss AG*, DE), do Centro de Microscopia e Microanálise (CMM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Utilizou-se potencial elétrico de aceleração de 15 kV e aumento de imagem de 500 a 5000 x.

#### 3.2.1.3 Área específica e distribuição de tamanho de poros

As isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio foram obtidas na temperatura de ebulição do nitrogênio, utilizando um equipamento *TriStar II 3020* da *Micromeritics* (*Micromeritics Instrument Corporation*, US), do Laboratório de Reatividade e Catálise do Instituto de Química da UFRGS. As amostras foram pré-tratadas a 120 °C sob vácuo por 12 horas para remoção da umidade e a área específica e distribuição de poros foram obtidos a partir dos métodos Braunauer, Emmet e Teller (BET) e Barret, Joyner e Halenda (BJH), respectivamente.

### 3.2.1.4 Capacidade de troca catiônica

A capacidade de troca catiônica (CTC) da zeólita clinoptilolita foi avaliada através do método de simples troca, no qual os íons  $K^+$  e  $Na^+$  da estrutura do mineral são trocados por íons  $NH_4^+$  de uma solução de acetato de amônio (Dinâmica Produtos Químicos, BR).

Para a realização do ensaio, foi preparada uma solução com  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de íon amônio em água ultrapura. Após, foram pesados 0,5 g de zeólita e adicionou-se 50 mL da solução. A mistura foi acondicionada em frascos do tipo *schott* de borossilicato, com capacidade de 250 mL, e agitada por 24 horas em agitador tipo Wagner à rotação de  $28 \pm 2 \text{ rpm}$ . Em seguida, a suspensão foi filtrada em papel filtro qualitativo e o líquido, enviado para análise de cromatografia iônica na Fundação de Ciência e Tecnologia (CIENTEC). A análise foi realizada em cromatógrafo de íon modular *Metrohm* (*Metrohm*, CH), com o objetivo de quantificar o íon amônio remanescente na solução.

Após o ensaio, a CTC foi calculada conforme a Equação 1.

$$CTC = \frac{(C_i - C_f) \cdot V}{m \cdot M} \quad (1)$$

onde  $C_i$  é a concentração inicial da solução de  $NH_4^+$  ( $\text{g L}^{-1}$ ),  $C_f$  é a concentração final da solução de  $NH_4^+$  ( $\text{g L}^{-1}$ ),  $V$  é o volume da solução (L),  $m$  é a massa de sólido (g) e  $M$  é a massa molar do  $NH_4^+$  ( $\text{g mol}^{-1}$ ).

### 3.2.2 Impregnação da zeólita clinoptilolita com íons prata

A impregnação da zeólita clinoptilolita com íons prata foi feita através do método de troca iônica. Para realizar um estudo referente à cinética desta impregnação, foram preparadas três soluções de nitrato de prata (Plat-Lab, BR) nas concentrações de 2000, 3000 e  $4000 \text{ mg L}^{-1}$  e o pH dessas soluções foi ajustado para 4 com solução de ácido nítrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e auxílio do pHmetro *Kasvi* K39-2014B (*Kasvi*, BR) (AKGÜL et al., 2006; ÇORUH; ŞENEL; ERGUN, 2010; LIHAREVA et al., 2010).

As concentrações de 2000, 3000 e  $4000 \text{ mg L}^{-1}$  de  $AgNO_3$  foram selecionadas a partir dos resultados de Akgül et al. (2006) e Çoruh, Şenel e Ergun (2010) que reportaram uma capacidade máxima de adsorção de aproximadamente  $30 \text{ mg}_{Ag^+} \text{ g}_{zeólita}^{-1}$  para a zeólita clinoptilolita. Utilizando-se este valor, foi possível calcular a concentração necessária de íons

prata em solução para que fosse atingido um valor próximo a esta capacidade máxima de adsorção da clinoptilolita, assim, chegou-se a uma concentração de  $\text{AgNO}_3$  de  $2830 \text{ mg L}^{-1}$ , que foi aproximada para o valor de  $3000 \text{ mg L}^{-1}$ . Partindo deste valor, decidiu-se utilizar também uma concentração menor e uma maior do que o valor intermediário, portanto, selecionou-se  $2000$  e  $4000 \text{ mg L}^{-1}$  para a concentração de  $\text{AgNO}_3$  da solução.

Salienta-se que o pH das soluções de nitrato de prata foi definido tomando por base estudos de Akgül et al. (2006), Çoruh, Şenel e Ergun (2010) e Lihareva et al. (2010) que concluíram em seus experimentos que o pH 4 é ótimo para realizar adsorção de prata em zeólitas. Isso porque, em pH menor do que 2 a adsorção é baixa devido à uma competição entre os cátions  $\text{Ag}^+$  e  $\text{H}^+$  nos sítios de adsorção e acima do pH 3,4 até próximo a 6, a adsorção se mantém aproximadamente constante, sendo em pH 4 o melhor índice de adsorção (LIHAREVA et al., 2010). Dessa forma, pode-se concluir que o pH para adsorção de íons  $\text{Ag}^+$  em zeólitas não é restrito a um único valor, podendo ser considerada uma faixa de valores como aceitáveis (AKGÜL et al., 2006).

Os experimentos de adsorção foram realizados em erlenmeyers de vidro com capacidade volumétrica de 250 mL, nas temperaturas de 25 e 40 °C (AKGÜL et al., 2006; SANTOS, 2014). Quatro (4) gramas de amostra foram pesados e dispostos nos frascos e, em seguida, adicionou-se 50 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$ . Os erlenmeyers foram colocados em agitador tipo *shaker* CT-712 RN (Cientec, BR) e permaneceram sob agitação a 150 rpm por no máximo 1 hora, foram retiradas amostras a cada 15 minutos de intervalo.

Depois de transcorrido cada tempo de contato entre a zeólita e a solução, a suspensão foi filtrada sob vácuo em microfiltro de fibra de vidro *Macherey-Nagel* GF-6 (*Macherey-Nagel*, DE). O material sólido, juntamente com o filtro, foi colocado em estufa DeLeo DL-SE-X (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, BR) para secagem a 80 °C, enquanto que o líquido remanescente foi recolhido e enviado para ensaio de espectrometria de absorção atômica com chama (*Flame Atomic Absorption Spectroscopy* – FAAS) em espectrômetro *PerkinElmer AAnalyst 200* (*Perkin Elmer*, US) no Laboratório de Espectrometria Atômica do Instituto de Química da UFRGS. Após a secagem, o material sólido foi retirado do filtro e acondicionado em frascos plásticos. Uma amostra de clinoptilolita-Ag foi preparada para realização da análise de MEV, conforme item 3.2.1.2, e outra amostra foi encaminhada para o ensaio de FTIR, de acordo com o item 3.1.1.1, a fim de verificar e comparar a morfologia e estrutura química das amostras antes e após a impregnação com prata.

### 3.3 ETAPA 3 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Na terceira etapa deste trabalho, testes preliminares para verificação da possível atividade antimicrobiana dos filmes foram realizados. Estes experimentos foram feitos visando verificar se haveria formação dos filmes com a adição de zeólitas e selecionar as concentrações de clinoptilolita e clinoptilolita-Ag a serem adicionadas aos filmes.

Para os ensaios antimicrobianos preliminares, adicionou-se 0,1; 0,5; 1; 3 e 5 % (m/v) de zeólita clinoptilolita impregnada com íons  $\text{Ag}^+$  às soluções formadoras de filme de 10 % de gelatina e 25 % de glicerol. Além disso, este ensaio antimicrobiano foi feito, também, com um filme formulado apenas com 10 % de gelatina e 25 % de glicerol e com um filme contendo 5 % (m/v) de clinoptilolita não impregnada com íons prata (BARBOSA et al., 2016; BOSCHETTO, 2009; SANTOS, 2014).

Utilizou-se a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) como microrganismo para o qual se desejou avaliar a ação antimicrobiana. Foi preparada uma suspensão deste microrganismo em solução 0,1 % (m/v) de peptona bacteriológica (BD Biosciences, US). A suspensão bacteriana foi homogeneizada em vórtex (Kasvi K45-2810) e 0,1 mL foram espalhados em placas de Petri contendo ágar *Plate Count Agar* (PCA) do fabricante Merck (Merck Millipore, DE) previamente preparado e solidificado. Após a dispersão da solução bacteriana nas placas com ágar, uma amostra circular com 3 cm de diâmetro de cada um dos filmes com diferentes concentrações de zeólita foi colocada no centro de cada placa de Petri e estas foram incubadas em incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) TE381 da Tecnal (Tecnal Equipamentos Científicos, BR), a 30 °C por 48 horas para, ao fim do período de incubação, verificar se houve formação de halo de inibição bacteriana.

### 3.4 ETAPA 4 – FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITAS

Nesta etapa, a preparação dos filmes contendo gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas foi realizada. Estes filmes foram caracterizados e, posteriormente, submetidos a experimentos para verificar a sua atividade antimicrobiana.

#### 3.4.1 Preparação dos filmes de gelatina, glicerol e zeólitas

Os filmes contendo zeólitas foram preparados seguindo o mesmo procedimento adotado para a produção dos filmes de gelatina e glicerol, conforme descrito no item 3.1.2.



Vale ressaltar que as zeólitas foram adicionadas à solução formadora de filme após as reações de plastificação, sob agitação à 45 °C.

Estes filmes foram produzidos com 10 % (m/v) de gelatina e 15, 20 e 25 % (v/v) de glicerol e as zeólitas, clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag, foram incorporadas aos filmes nas concentrações de 0,5; 1 e 2 % (m/v).

### **3.4.2 Caracterização dos filmes de gelatina, glicerol e zeólitas**

Os filmes poliméricos à base de gelatina adicionados de glicerol e zeólitas foram caracterizados e relação aos seguintes parâmetros: espessura, teor de umidade, permeabilidade ao vapor de água, fluxo de permeação de vapor de água, capacidade de absorção de água, propriedades mecânicas, ângulo de contato, morfologia e análise química estrutural, utilizando os mesmos procedimentos descritos anteriormente nos itens 3.1.3.1 a 3.1.3.8. Além disso, esses filmes foram avaliados quanto às suas propriedades térmicas, seguindo as metodologias descritas em 3.1.1.2.

Os filmes produzidos à base de gelatina e glicerol e adicionados de zeólita clinoptilolita-Ag foram submetidos, também, ao ensaio de espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) em espectrômetro *PerkinElmer AAnalyst 200* (*Perkin Elmer*, US) do Laboratório de Espectrometria Atômica do Instituto de Química da UFRGS, visando à quantificação da prata existente no filme.

### **3.4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana**

A avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes desenvolvidos foi realizada de forma qualitativa e quantitativa, conforme descrito nos itens a seguir.

#### **3.4.3.1 Análise microbiológica qualitativa**

Conforme mencionado, para realização da análise microbiológica qualitativa foi utilizada a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e, em paralelo, foi feita a coleta, com auxílio de um *swab*<sup>2</sup>, de uma amostragem de 100 cm<sup>2</sup> da pele da mão e do antebraço,

---

<sup>2</sup> *Swab* é um utensílio, semelhante às hastas flexíveis, que tem como principal funcionalidade a coleta de amostras clínicas, sendo utilizado também em laboratórios de microbiologia (PROLAB, 2014).

regiões que ficam constantemente expostas e, por isso, são mais propensas a possuírem carga microbiana.

Para realização dos experimentos que visam à avaliação do crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* e das bactérias que fazem parte da microbiota da pele humana, foi utilizado o ágar *Plate Count Agar* (PCA). Este meio de cultura é indicado para determinação da contagem total de bactérias aeróbias, utilizando o método de difusão em placas de Petri. O ágar PCA não contém inibidores de crescimento bacteriano e é relativamente rico em nutrientes. Dessa forma, pode-se dizer que o ágar PCA é um ágar não seletivo que permite o crescimento de diversos tipos de bactérias (MERCK, 2015).

Para a verificação do crescimento dos demais microrganismos presentes na pele humana, capturados pelo ensaio feito com *swab*, foi utilizado o ágar *Potato Dextrose Agar* (PDA). O ágar PDA é utilizado, principalmente, para o cultivo, isolamento e enumeração de leveduras e bolores, porém, em virtude do seu conteúdo nutritivo, permite também o crescimento de diversas bactérias (MERCK, 2006). Deste modo, foi possível comparar as diferenças no crescimento dos microrganismos nos diferentes tipos de ágar.

Nos ensaios com o microrganismo *S. aureus*, utilizou-se uma alça de platina de 1 µL para suspender alçadas do microrganismo em 10 mL de solução 0,1 % (m/v) de peptona bacteriológica (BD *Biosciences*, US). Da mesma forma, o *swab* coletado também foi submerso em 10 mL de solução 0,1 % (m/v) de peptona bacteriológica (BD *Biosciences*, US).

Ambas as suspensões microbianas foram homogeneizadas em vórtex *Kasvi* K45-2810 (*Kasvi*, BR) e, no caso da bactéria *S. aureus*, 0,1 mL foram espalhados em placas de Petri contendo ágar PCA (*Merck Millipore*, DE). Enquanto que 0,1 mL da suspensão microbiana obtida pelo *swab* foram espalhados em placas contendo ágar PCA e em placas contendo ágar PDA (*Potato Dextrose Agar*) do fabricante *Merck* (*Merck Millipore*, US), previamente preparados e solidificados. Após a dispersão das soluções microbianas nas placas com ágar, uma amostra de filme circular com 3 cm de diâmetro foi colocada sobre o ágar no centro de cada placa de Petri. Essas foram incubadas em incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) TE381 da Tecnal (Tecnal Equipamentos Científicos, BR), a 30 °C por 48 horas para verificar a formação de halo de inibição após o período de incubação.

#### 3.4.3.2 Análise microbiológica quantitativa

Para realização da análise microbiológica quantitativa, que visa à quantificação da capacidade de inibição dos filmes desenvolvidos, seguiu-se o método proposto por Fernández

et al. (2010) com algumas modificações. Neste ensaio, foi suspensa uma alçada do microrganismo *S. aureus* em 10 mL de solução de peptona bacteriológica 0,1 % e a suspensão obtida foi, então, homogeneizada em vórtex. Após a homogeneização uma amostra de 0,1 mL foi extraída e espalhada em placa de Petri contendo ágar PCA solidificado. Em seguida, uma amostra de filme de 2 cm<sup>2</sup> foi colocada no frasco que continha a suspensão bacteriológica. Este conjunto foi incubado em incubadora BOD a 30 °C, sendo retirado 0,1 mL de amostra após 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 24 horas de incubação. Cada alíquota foi espalhada em placas de Petri contendo ágar PCA solidificado, em duplicata. As placas foram incubadas também a 30 °C em incubadora BOD por 48 horas e, ao final deste período, foi realizada a contagem das colônias existentes em cada placa.

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Uma análise estatística de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o software *Statistica* 12.0 (Statsoft Inc., US), combinada com teste Tukey para comparação dos resultados. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão, com um nível de confiança de 95 % ( $p \leq 0,05$ ). Salienta-se que cada análise avaliada estatisticamente foi realizada pelo menos em triplicata.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos neste trabalho, bem como a discussão acerca dos mesmos. Esta seção foi dividida em quatro etapas, da mesma forma que a seção de materiais e métodos. Assim, primeiramente são apresentados os resultados da caracterização da gelatina e dos filmes de gelatina e glicerol, seguido dos resultados de caracterização e impregnação da zeólita clinoptilolita, do ensaio antimicrobiano preliminar e, por fim, os resultados de caracterização e avaliação antimicrobiana dos filmes que contêm zeólitas.

### 4.1 ETAPA 1 – FILMES DE GELATINA E GLICEROL

Neste item, que compreende a primeira etapa do trabalho, serão apresentados os resultados relacionados à caracterização da gelatina e dos filmes de gelatina e glicerol desenvolvidos.

#### 4.1.1 Caracterização da gelatina

Nos itens 4.1.1.1 e 4.1.1.2 são apresentados os resultados obtidos e a sua discussão, para a caracterização química e térmica da gelatina tipo A proveniente de pele suína utilizada neste trabalho.

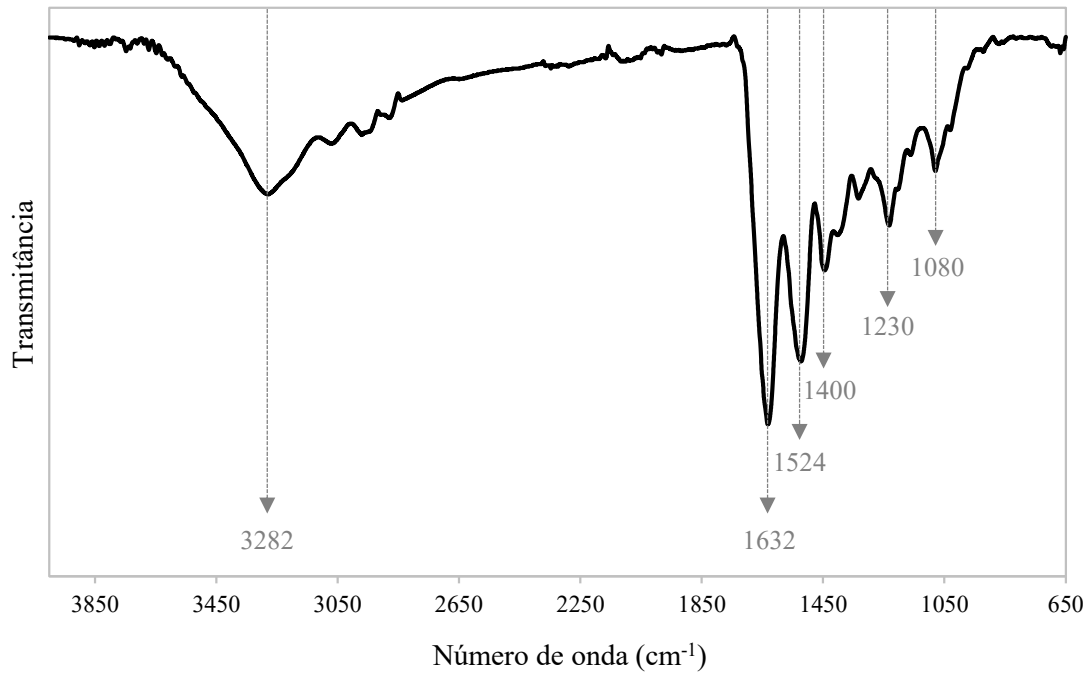
##### 4.1.1.1 Análise química estrutural

A análise química estrutural da gelatina foi realizada por espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* e na Figura 6 está apresentado o espectro obtido. O pico observado em  $3282\text{ cm}^{-1}$  é característico do alongamento das ligações N-H das amidas (SAI; BABU, 2001). De acordo com Doyle, Blout e Bendit (1975) uma vibração de alongamento característica de ligação N-H livre ocorre entre  $3400$  a  $3440\text{ cm}^{-1}$ , já quando um grupo NH de um peptídeo está envolvido em uma ligação de hidrogênio, o pico é deslocado para valores próximos a  $3300\text{ cm}^{-1}$ , o que é característico deste espectro.

Em  $1632\text{ cm}^{-1}$  foi identificado o pico da amida primária (fórmula química – Figura 7.a). Em geral este pico se localiza entre  $1610$  e  $1690\text{ cm}^{-1}$  e é decorrente do estiramento da ligação C=O dos grupos amida presentes nas proteínas. Em  $1524\text{ cm}^{-1}$  é caracterizado o pico

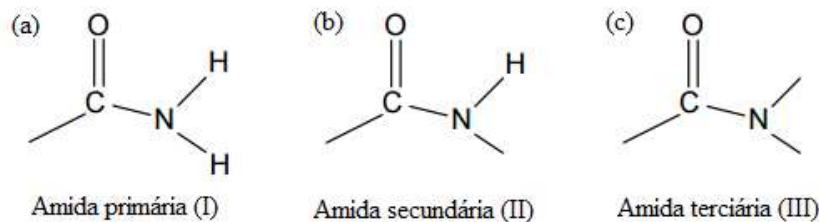
da amida secundária (fórmula química – Figura 7.b), característico da vibração de flexão da ligação N-H, fortemente acoplada ao estiramento dos grupos C-N da amida das proteínas. Os picos em torno de  $1400\text{ cm}^{-1}$  são, possivelmente, atribuídos ao estiramento simétrico do grupo COO das cadeias de aminoácidos (JACKSON et al., 1995; SAI; BABU, 2001).

Figura 6 – Espectro de infravermelho por transformada de *Fourier* da gelatina.



Pela análise da Figura 6, pode-se observar, também, um pico em torno  $1230\text{ cm}^{-1}$  que pode estar relacionado tanto à amida terciária (fórmula química – Figura 7.c), correspondendo às vibrações do estiramento da ligação C-N, quanto às vibrações dos grupos CH, ocasionado pelas oscilações das cadeias de glicina e prolina. Os picos em  $1080\text{ cm}^{-1}$ , ocorrem numa região do espectro em que se caracterizam vibrações de estiramento das ligações C-O, principalmente, devido aos carboidratos presentes na estrutura (JACKSON et al., 1995; SAI; BABU, 2001).

Figura 7 – Fórmula química das amidas: (a) primária, (b) secundária e (c) terciária. Adaptado de Pereira (2009).

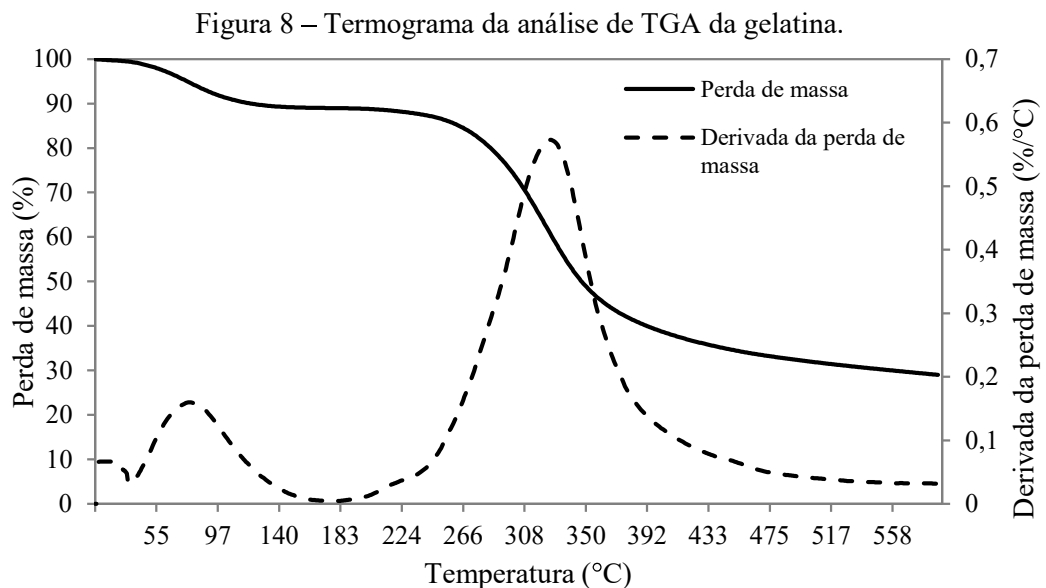


#### 4.1.1.2 Análises térmicas

A análise térmica da gelatina utilizada para produção dos filmes foi feita por termogravimetria e por calorimetria exploratória diferencial, sendo os resultados expostos a seguir.

##### 4.1.1.2.1 Análise termogravimétrica

Na Figura 8 está apresentado o termograma da análise de TGA feita para a gelatina. Nesta figura, é possível observar que há basicamente duas regiões de perda de massa, a primeira entre 50 e 130 °C, aproximadamente, e a segunda em torno de 230 até 370 °C. A primeira perda de massa pode estar relacionada à perda de umidade, decorrente da perda de água livre ou da água absorvida pelo polímero e, também, da perda de outros compostos voláteis. Isso pode ser justificado pela evidência de que a curva da perda de massa inicial não possui comportamento linear e porque esta perda se intensifica em temperaturas próximas a 100 °C, temperatura em que ocorre a evaporação da água (HOSSEINI et al., 2016; WAY, 2013). A segunda perda de massa é decorrente da degradação do material, sendo que, nesta região se pode observar a temperatura extrapolada de início da degradação ( $T_{onset}$ ), que ficou em torno de 275 °C.

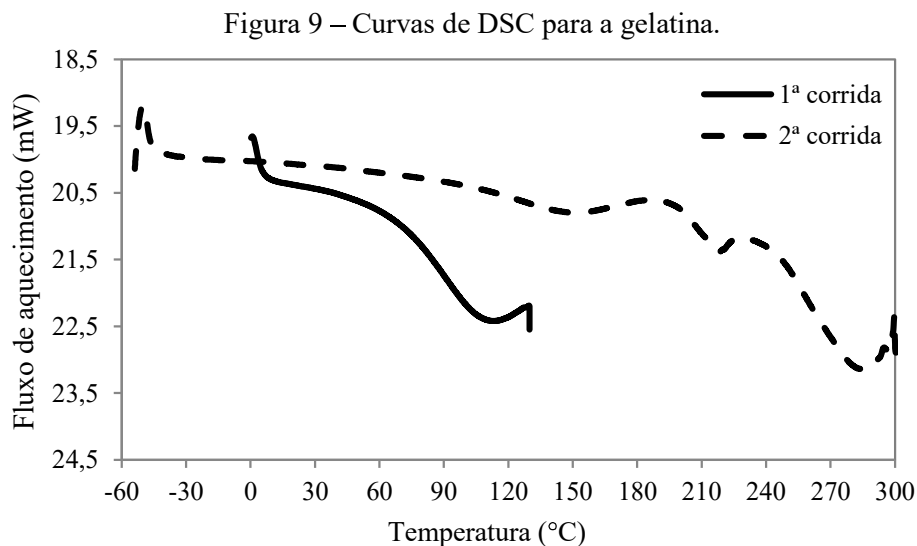


A perda de massa decorrente da primeira região teve um valor em torno de 11 % (conforme pode ser observado na Figura 8), esse percentual está próximo dos valores de perda

de massa decorrente de umidade encontrados para a gelatina bovina comercial (14 %) e para a gelatina de tilápia (10 %) citados no trabalho de Nunes (2014). Além disso, o fato da temperatura de início de degradação da gelatina ser alta em relação a maioria dos polímeros, cuja temperatura de degradação normalmente se encontra entre 100 e 200 °C, indica uma boa estabilidade térmica e amplia as possibilidades de utilização da gelatina para fabricação de filmes em processos industriais, como por exemplo, pelo processo de extrusão.

#### 4.1.1.2.2 Calorimetria exploratória diferencial

Na Figura 9 estão apresentados os eventos registrados durante a primeira e a segunda corridas da análise de DSC para a gelatina, onde se observam alguns eventos térmicos.



As curvas de DSC para gelatinas, em geral, apresentam comportamento clássico, isto indica que, quando realizadas duas corridas, na primeira observa-se uma transição vítrea seguida de uma transição de tripla-hélice e na segunda corrida observa-se apenas uma transição vítrea. A transição de tripla-hélice representa a fusão, visto que nesse tipo de transição ocorre a desorganização das estruturas cristalinas formadas pelas triplas-hélices semelhantes às do colágeno. Contudo, essas transições podem ser influenciadas pela quantidade de água presente no material, uma vez que o aumento dessa quantidade pode fazer com que a fusão ocorra em várias etapas ou que a fusão de parte das triplas-hélices sobreponha-se à transição vítrea (NUNES, 2014; SOBRAL; HABITANTE, 2001).

Nas curvas de DSC, obtidas neste trabalho, não foi possível identificar a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) da gelatina em nenhuma das corridas do ensaio. Entretanto, no primeiro aquecimento foi possível identificar um pico em torno de  $114\text{ }^\circ\text{C}$  que pode ser o ponto de fusão da gelatina ( $T_m$ ). Outros autores, como Sobral e Habitante (2001), também encontraram valores maiores do que  $100\text{ }^\circ\text{C}$  para a temperatura de fusão da gelatina proveniente de pele suína, enquanto que, para outros tipos de gelatina, o ponto de fusão é mais baixo, ficando entre  $64$  a  $91\text{ }^\circ\text{C}$  (ALVES et al., 2011; HOSSEINI et al., 2015; NUNES, 2014). Na segunda corrida identificou-se um pico em  $-49\text{ }^\circ\text{C}$  que pode ser o ponto de cristalização ( $T_c$ ) desta gelatina, uma segunda temperatura de fusão em aproximadamente  $153\text{ }^\circ\text{C}$  e a temperatura de degradação, que inicia em aproximadamente  $200\text{ }^\circ\text{C}$ . Percebe-se um aumento na  $T_m$  da gelatina quando comparados os valores obtidos na primeira e na segunda corridas, isso pode ser decorrente do aumento da cristalinidade do material no resfriamento realizado entre as duas corridas, devido à utilização de uma taxa de resfriamento relativamente lenta ( $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ ) (MOTTA; DUEK, 2006).

#### **4.1.2 Caracterização dos filmes de gelatina e glicerol**

Nesta seção serão apresentados os resultados de caracterização dos filmes de gelatina e glicerol quanto à espessura, teor de umidade, PVA, FPVA, capacidade de absorção de água, propriedades mecânicas, caráter hidrofílico, morfologia e análise química estrutural.

##### **4.1.2.1 Espessura e teor de umidade**

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos de espessura e teor de umidade de todas as formulações de filmes de gelatina e glicerol avaliadas. Pode-se observar que, para todas as concentrações de gelatina, conforme aumenta a concentração de glicerol na formulação, aumenta a espessura do filme. E quando se compara a espessura de filmes que contêm a mesma concentração de glicerol e diferentes concentrações de gelatina, na maioria dos casos, também se percebe um aumento nessa propriedade com o aumento da concentração de gelatina. Uma exceção é para os filmes que contêm  $25\%$  de glicerol, os quais, independente da concentração de gelatina, apresentam espessura estatisticamente igual. Dessa forma, por meio dos resultados obtidos, é possível concluir que a concentração de glicerol afeta de forma mais significativa a espessura dos filmes formados, do que a concentração de gelatina.



Tabela 1 – Espessura e teor de umidade dos filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol.

[Gelatina] (% m/v)	[Glicerol] (% v/v)	Espessura (mm)	Teor de umidade (%)
5	0	0,15 ± 0,00 <sup>i</sup>	14,1 ± 0,4 <sup>ef</sup>
	5	0,32 ± 0,01 <sup>gh</sup>	34 ± 1 <sup>a</sup>
	10	0,36 ± 0,01 <sup>e</sup>	29 ± 2 <sup>abc</sup>
	15	0,44 ± 0,01 <sup>d</sup>	31 ± 2 <sup>ab</sup>
	20	0,71 ± 0,01 <sup>bc</sup>	27,2 ± 0,5 <sup>abc</sup>
	25	0,84 ± 0,01 <sup>a</sup>	25 ± 3 <sup>bcd</sup>
7	0	0,23 ± 0,00 <sup>hi</sup>	13,3 ± 0,1 <sup>f</sup>
	5	0,36 ± 0,01 <sup>ef</sup>	28 ± 4 <sup>abc</sup>
	10	0,45 ± 0,01 <sup>e</sup>	27 ± 2 <sup>abc</sup>
	15	0,56 ± 0,00 <sup>d</sup>	30,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>
	20	0,68 ± 0,00 <sup>c</sup>	32 ± 2 <sup>ab</sup>
	25	0,78 ± 0,00 <sup>ab</sup>	27,1 ± 0,7 <sup>abc</sup>
10	0	0,33 ± 0,00 <sup>g</sup>	14,3 ± 0,3 <sup>ef</sup>
	5	0,41 ± 0,00 <sup>ef</sup>	17,1 ± 0,4 <sup>ef</sup>
	10	0,55 ± 0,01 <sup>d</sup>	31 ± 1 <sup>ab</sup>
	15	0,58 ± 0,00 <sup>d</sup>	20,9 ± 0,8 <sup>cdef</sup>
	20	0,74 ± 0,01 <sup>abc</sup>	21,8 ± 0,9 <sup>cde</sup>
	25	0,77 ± 0,01 <sup>ab</sup>	19,0 ± 0,5 <sup>def</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Ainda de acordo com a Tabela 1, pode-se observar que o teor de umidade foi maior nos filmes que contêm glicerol do que nos filmes compostos apenas de gelatina. O aumento da concentração de plastificante, geralmente, afeta o teor de umidade do filme, isso se deve ao caráter higroscópico do glicerol. Dessa forma, quanto maior a quantidade de glicerol adicionada ao filme, maior será sua tendência a absorver umidade do ar, o que resulta em maior teor de umidade no filme (THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, 2005; VANIN et al., 2005).

Entretanto, neste trabalho, não foi possível observar uma relação direta entre o aumento da concentração de glicerol ou de gelatina e o aumento do teor de umidade. Além disso, considerando o erro entre as medições, percebe-se que a umidade dos filmes que contêm glicerol não foi influenciada pelo aumento da concentração de plastificante. Este comportamento pode ser verificado pelo teste de Tukey, onde verifica-se que há diversos resultados estatisticamente iguais, independente das quantidades de gelatina e glicerol utilizadas na formulação dos filmes produzidos.

#### 4.1.2.2 Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados de PVA e FPVA para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol.

Tabela 2 – Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e fluxo de permeação de vapor de água (FPVA) para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol.

[Gelatina] (% m/v)	[Glicerol] (% v/v)	PVA x 10 <sup>5</sup> (g m h <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> Pa <sup>-1</sup> )	FPVA (g h <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> )
5	0	0,48 ± 0,02 <sup>g</sup>	1,03 ± 0,04 <sup>gh</sup>
	5	1,34 ± 0,06 <sup>g</sup>	1,21 ± 0,04 <sup>g</sup>
	10	2,85 ± 0,18 <sup>f</sup>	1,63 ± 0,06 <sup>f</sup>
	15	4,41 ± 0,23 <sup>de</sup>	3,07 ± 0,16 <sup>bc</sup>
	20	4,89 ± 0,21 <sup>d</sup>	2,18 ± 0,06 <sup>e</sup>
	25	6,08 ± 0,24 <sup>bc</sup>	2,07 ± 0,04 <sup>e</sup>
7	0	0,70 ± 0,04 <sup>g</sup>	0,57 ± 0,02 <sup>i</sup>
	5	1,43 ± 0,06 <sup>g</sup>	0,76 ± 0,04 <sup>hi</sup>
	10	2,94 ± 0,06 <sup>f</sup>	0,62 ± 0,02 <sup>i</sup>
	15	5,24 ± 0,28 <sup>cd</sup>	2,67 ± 0,11 <sup>d</sup>
	20	6,56 ± 0,16 <sup>ab</sup>	2,74 ± 0,06 <sup>cd</sup>
	25	7,30 ± 0,29 <sup>a</sup>	2,67 ± 0,09 <sup>d</sup>
10	0	1,05 ± 0,06 <sup>g</sup>	0,91 ± 0,05 <sup>ghi</sup>
	5	1,12 ± 0,03 <sup>g</sup>	0,79 ± 0,01 <sup>hi</sup>
	10	3,70 ± 0,09 <sup>ef</sup>	1,91 ± 0,03 <sup>ef</sup>
	15	4,68 ± 0,05 <sup>de</sup>	2,59 ± 0,05 <sup>d</sup>
	20	6,40 ± 0,45 <sup>ab</sup>	3,27 ± 0,12 <sup>b</sup>
	25	7,17 ± 0,33 <sup>a</sup>	3,83 ± 0,07 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Normalmente, o aumento da concentração de plastificante ocasiona um aumento na PVA de filmes higroscópicos, devido à reorganização da rede proteica. A influência exercida pelo plastificante sobre as propriedades de barreira ao vapor de água ocorre em virtude da redução das forças intermoleculares, ocasionando um aumento do volume livre e dos movimentos das cadeias, o que favorece a permeabilidade (CUQ et al., 1997; SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005). Contudo, a permeabilidade ao vapor de água dos filmes avaliados neste trabalho (Tabela 2) não apresentou, na maioria dos casos, variação significativa com o

aumento da concentração de plastificante, permitindo concluir que o aumento da concentração de glicerol nos filmes desenvolvidos exerce pequena influência nessa propriedade.

Observa-se que as permeabilidades ao vapor de água dos filmes compostos por 5, 7 e 10 % de gelatina, contendo de 0 a 15 % de glicerol são estatisticamente iguais quando comparadas entre si, enquanto que para concentrações de 20 e 25 % de glicerol, somente o filme que contém 5 % de gelatina apresenta diferença significativa no valor de PVA em relação aos demais.

Os resultados obtidos para PVA ficaram na mesma ordem de grandeza dos resultados de outros autores reportados na literatura e, nesses trabalhos, também houve pequena variação na PVA com o aumento da concentração de plastificante (THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, 2005; VANIN et al., 2005). Pode-se dizer que, para os filmes desenvolvidos nesse trabalho, a faixa de concentração de glicerol utilizada não foi suficiente para causar um aumento na PVA. Uma possível razão para isso pode ser devida às características do plastificante, como tamanho das moléculas, massa molar e número de grupos hidroxila, que têm um pequeno efeito nas propriedades de barreira quando quantidades similares de plastificante são adicionadas aos filmes à base de proteínas (CUQ et al., 1997).

Os fluxos de permeação de vapor de água para cada um dos filmes desenvolvidos também foram calculados. Este fluxo tem relação direta com o valor obtido para a PVA, com o gradiente de umidade relativa que ocorreu durante o ensaio e é inversamente proporcional à espessura do filme. Sendo assim, quanto maiores forem estes valores, maior será o FPVA. Observa-se que para os filmes com 5% de gelatina e com concentrações de glicerol de até 10 % foram obtidos os menores fluxos, enquanto que, para os filmes com 10 % de gelatina, os maiores fluxos foram observados para concentrações de glicerol de 15 a 25 %. Isso é comprovado pela análise estatística, uma vez que os filmes compostos de 10 % de gelatina, 20 e 25 % de glicerol apresentaram as letras correspondentes aos maiores valores de FPVA (a e b) e não se igualam estatisticamente a nenhum outro resultado.

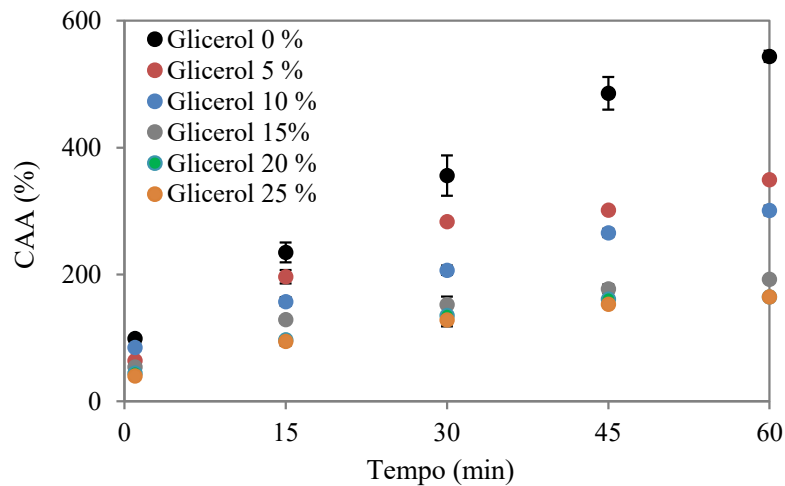
De acordo com a literatura, para aplicação de filmes como curativos, o mais adequado é um FPVA de aproximadamente  $2500 \text{ g m}^{-2} 24 \text{ h}^{-1}$  ( $\approx 104 \text{ g h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ) (MI et al., 2001; WU et al., 2004). Portanto, valores mais altos de FPVA do que os obtidos neste trabalho são indicados. Contudo, percebe-se que existem diferentes possibilidades de formulações de filmes à base de gelatina para atender às expectativas e às necessidades relacionadas à aplicação desejada, enfatizando, assim, a versatilidade destes filmes.

#### 4.1.2.3 Capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água em função do tempo para os filmes preparados com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol está demonstrada na Figura 10.

De acordo com os resultados obtidos, percebe-se que a absorção de água aumentou com o tempo e diminuiu com o aumento da concentração de plastificante para todas as concentrações de gelatina estudadas. Os gráficos que apresentam a CAA em função do tempo para concentrações de 5 e 7 % de gelatina se encontram no Apêndice A e apresentaram comportamento semelhante ao apresentado na Figura 10.

Figura 10 – Capacidade de absorção de água para os filmes com 10 % de gelatina com diferentes concentrações de glicerol.



Em geral, espera-se que o glicerol favoreça a absorção de água em filmes, devido ao seu caráter higroscópico que promove a absorção de moléculas de água, favorecendo o aumento da capacidade de absorção de água. Entretanto, para as três concentrações de gelatina avaliadas, quando o filme não contém plastificante na composição, ocorreu uma maior absorção de água em comparação aos filmes que contêm glicerol. Adicionando plastificante ao filme, a capacidade de absorção de água diminuiu, indicando que o caráter higroscópico da gelatina possivelmente é mais acentuado que o do plastificante. Dessa forma, a adição de glicerol acaba causando uma diminuição na quantidade de água absorvida pelo filme, o que, segundo alguns autores, se deve à reorganização da estrutura molecular do filme, tornando-o menos suscetível à absorção de água (NINAN et al., 2013; THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, 2005; VANIN et al., 2005).

Na Tabela 3 são apresentados os resultados obtidos para o maior tempo utilizado no ensaio de absorção de água (60 minutos). A partir desses resultados, pode-se concluir que

todos os filmes produzidos apresentam um comportamento similar para uma determinada concentração de gelatina, independente das concentrações de glicerol. Contudo, é percebida uma redução na CAA com o aumento da concentração de glicerol quando comparadas algumas formulações. Uma possível explicação é que o aumento da concentração de glicerol no filme esteja reduzindo a CAA em virtude das características higroscópicas da gelatina e do glicerol, conforme discutido anteriormente. Entretanto, a redução da CAA é evidenciada até a concentração de 15 % de glicerol, sendo que para essa concentração e também para as concentrações de 20 e 25 % de plastificante, os valores obtidos são estatisticamente iguais, sugerindo que foi atingido um equilíbrio na absorção de água.

Tabela 3 – Capacidade de absorção de água (CAA) em 60 minutos de contato para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol.

[Gelatina] (% m/v)	[Glicerol] (% v/v)	CAA 60 minutos (%)
5	0	644 ± 5 <sup>b</sup>
	5	216 ± 17 <sup>hij</sup>
	10	167 ± 4 <sup>ik</sup>
	15	229 ± 6 <sup>ghi</sup>
	20	250 ± 21 <sup>fgh</sup>
	25	214 ± 5 <sup>hij</sup>
7	0	754 ± 7 <sup>a</sup>
	5	358 ± 27 <sup>d</sup>
	10	247 ± 3 <sup>fgh</sup>
	15	280 ± 12 <sup>ef</sup>
	20	267 ± 7 <sup>efg</sup>
	25	233 ± 7 <sup>ghi</sup>
10	0	544 ± 9 <sup>c</sup>
	5	349 ± 5 <sup>d</sup>
	10	301 ± 7 <sup>e</sup>
	15	192 ± 1 <sup>ijk</sup>
	20	165 ± 4 <sup>k</sup>
	25	165 ± 2 <sup>k</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

A absorção de água de um curativo deve prevenir a desidratação excessiva e o acúmulo de exsudatos. Desta forma, considera-se que com uma absorção de água moderada, isto é, em torno de 200 %, os filmes podem absorver o excesso de exsudatos e ainda manter o

ambiente do fermento úmido o suficiente para não se tornar desconfortável ao paciente (SHOJAE et al., 2015). Sendo assim, os valores obtidos para CAA dos filmes desenvolvidos neste trabalho estão de acordo com os valores recomendados para aplicação como curativos.

#### 4.1.2.4 Propriedades mecânicas

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados de tensão e alongação na ruptura, bem como o módulo de Young para os filmes com 5, 7 e 10 % de gelatina e concentração de glicerol variando entre 0 e 25 %.

Tabela 4 – Tensão e alongação na ruptura e módulo de Young para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol.

[Gelatina] (% m/v)	[Glicerol] (% v/v)	Tensão (MPa)	Elongação (%)	Módulo de Young (MPa)
5	0	59 ± 6 <sup>b</sup>	4 ± 1 <sup>f</sup>	1850 ± 66 <sup>a</sup>
	5	2,91 ± 0,57 <sup>c</sup>	169 ± 18 <sup>cde</sup>	4,52 ± 0,59 <sup>c</sup>
	10	1,14 ± 0,06 <sup>c</sup>	172 ± 8 <sup>cde</sup>	1,78 ± 0,07 <sup>c</sup>
	15	0,69 ± 0,07 <sup>c</sup>	244 ± 13 <sup>ab</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>c</sup>
	20	0,48 ± 0,03 <sup>c</sup>	205 ± 12 <sup>abcd</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>c</sup>
	25	0,24 ± 0,03 <sup>c</sup>	160 ± 11 <sup>de</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>c</sup>
7	0	78 ± 6 <sup>a</sup>	10 ± 2 <sup>f</sup>	1221 ± 94 <sup>b</sup>
	5	3,07 ± 0,23 <sup>c</sup>	167 ± 17 <sup>cde</sup>	6,98 ± 0,85 <sup>c</sup>
	10	2,18 ± 0,63 <sup>c</sup>	200 ± 11 <sup>bcd</sup>	1,13 ± 0,31 <sup>c</sup>
	15	2,14 ± 0,12 <sup>c</sup>	227 ± 6 <sup>ab</sup>	0,97 ± 0,02 <sup>c</sup>
	20	1,60 ± 0,07 <sup>c</sup>	220 ± 5 <sup>abc</sup>	0,49 ± 0,02 <sup>c</sup>
	25	1,16 ± 0,05 <sup>c</sup>	212 ± 10 <sup>abcd</sup>	0,38 ± 0,02 <sup>c</sup>
10	0	63,37 ± 0,11 <sup>ab</sup>	7 ± 0 <sup>f</sup>	1098 ± 40 <sup>b</sup>
	5	5,73 ± 0,38 <sup>c</sup>	139 ± 9 <sup>e</sup>	29,52 ± 0,90 <sup>c</sup>
	10	3,49 ± 0,33 <sup>c</sup>	238 ± 6 <sup>ab</sup>	2,93 ± 0,13 <sup>c</sup>
	15	1,91 ± 0,05 <sup>c</sup>	252 ± 2 <sup>ab</sup>	0,80 ± 0,08 <sup>c</sup>
	20	1,30 ± 0,13 <sup>c</sup>	254 ± 18 <sup>ab</sup>	0,34 ± 0,05 <sup>c</sup>
	25	1,29 ± 0,08 <sup>c</sup>	259 ± 4 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,05 <sup>c</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Analisando os dados da Tabela 4, pode-se perceber que os filmes que não contêm plastificante apresentam valores significativamente maiores para tensão e módulo de Young do que os filmes que apresentam glicerol na formulação. Verifica-se, também, que todos os

filmes que contêm glicerol apresentam valores que não diferem significativamente entre si, tanto para tensão, quanto para módulo de Young. Enquanto que somente os filmes que não contêm plastificante apresentam diferença significativa no resultado em comparação aos demais, mas com semelhanças entre si.

Em relação ao percentual de alongação, também demonstrado na Tabela 4, ocorre um aumento nessa propriedade à medida que aumenta a quantidade de glicerol adicionado à formulação. Isso é identificado até a concentração de 10 % (ou, em alguns casos, 15 %) de glicerol. Para concentrações maiores de plastificante, a diferença no percentual de alongação não é significativa, indicando que pode ter sido atingido um percentual de alongação máximo para os filmes desenvolvidos. Com base nesse resultado, também é possível concluir que não ocorreu um efeito antiplastificante com o aumento da concentração de glicerol nas formulações.

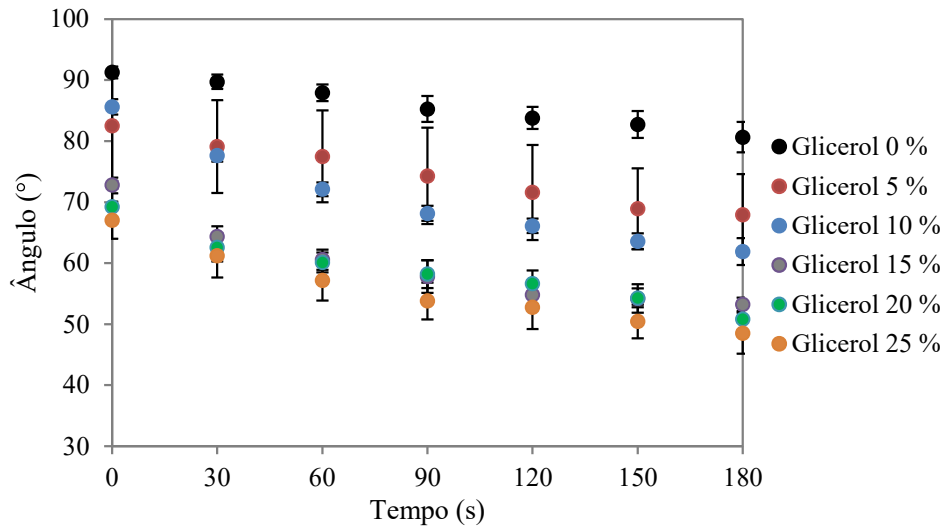
Esses comportamentos podem ser justificados uma vez que o aumento da quantidade de plastificante reduz as interações entre as cadeias poliméricas e, conseqüentemente, produz filmes menos rígidos e mais maleáveis e extensíveis (ARVANITOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998). Complementarmente, como o módulo de Young representa a medida da rigidez de um material sólido, quanto maior for este módulo, mais rígido é o material, maior é a tensão necessária para rompê-lo e menor a sua alongação.

As propriedades mecânicas dos filmes de gelatina demonstram que estes possuem potencial para serem aplicados como curativos. Uma vez que os resultados encontrados estão de acordo com os valores obtidos para curativos comerciais, que ficam na faixa de 0,1 a 0,33 MPa para a resistência à tração e possuem uma alongação na faixa de 180 a 370 % (LEE et al., 2016).

#### 4.1.2.5 Caráter hidrofílico

Na Figura 11, está apresentado o diagrama da medida do ângulo de contato em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol. Pode-se observar que, independente das concentrações de gelatina e plastificante contidas nos filmes, o ângulo de contato diminui com o passar do tempo, o que pode indicar a absorção da água pelo filme (EXTRAND; KUMAGAI, 1997; GUERRERO et al., 2011; NINAN et al., 2013). Os diagramas para as concentrações de 5 e 7 % de gelatina estão no Apêndice B, visto que o comportamento do ângulo de contato em função do tempo, para essas concentrações, foi similar ao apresentado na Figura 11.

Figura 11 – Ângulo de contato dos filmes com 10 % de gelatina com diferentes concentrações de glicerol.



Na Tabela 5 está apresentada a análise estatística para os resultados de ângulo de contato. Esta avaliação foi feita para os dados obtidos no tempo inicial, momento em que a gota é depositada na superfície do filme, e para 30 segundos de ensaio, tempo que foi selecionado por ser ligeiramente maior do que o tempo considerado necessário para a gota entrar em equilíbrio metaestável com a superfície do filme (BENBETTAÏEB et al., 2016). A partir desse tempo, além da absorção de água pelo filme, pode ocorrer a evaporação da água, devido ao aumento da temperatura ocasionado pela incidência da luz sobre a gota (LUZ; RIBEIRO; PANDOLFELLI, 2008).

Observa-se que no tempo inicial não há diferença significativa entre os ângulos de contato para uma mesma concentração de glicerol em comparação com as diferentes concentrações de gelatina, com exceção da formulação que contém 5 % de gelatina e 10 % de plastificante, que apresenta valor estatisticamente menor do que as demais formulações que contêm a mesma quantidade de glicerol. Dessa forma, não se pode concluir que o ângulo de contato sofre diminuição efetiva, visto que a maioria dos resultados obtidos não apresenta diferença significativa com o aumento da concentração de glicerol ou de gelatina, tanto no tempo inicial quanto após 30 segundos de experimento.

Com esses resultados, é possível, também, avaliar a hidrofiliabilidade dos filmes produzidos. Para os filmes compostos de 5 % de gelatina, pode-se verificar um aumento significativo da hidrofiliabilidade apenas ao se comparar as formulações de 0 e 5 % de glicerol com a de 25 % de plastificante e, ainda, se observa que as formulações com concentrações de 5 a 20 % de glicerol são estatisticamente iguais entre si. Ao avaliar os filmes compostos de 7 % de gelatina, percebe-se que a hidrofiliabilidade é maior para os filmes que contêm 20 e 25 %



de glicerol quando comparados aos demais (0 a 15 % de plastificante), sendo que estes apresentam valores estatisticamente iguais. Para os filmes compostos de 10 % de gelatina e concentrações de 15 a 25 % de glicerol, percebe-se que a hidrofiliabilidade é maior do que a observada para os filmes com concentrações menores de plastificante.

Em geral, esperava-se que o aumento da concentração de glicerol aumentasse a hidrofiliabilidade dos filmes, pois os plastificantes diminuem as forças coesivas entre as cadeias poliméricas, afastando-as e aumentando o caráter hidrofílico dos filmes, contudo, conforme os resultados apresentados, esse comportamento não foi identificado em todos os casos (BIERHALZ; KIECKBUSCH, 2009; GUERRERO et al., 2011; HOSSEINI et al., 2016).

Tabela 5 – Ângulo de contato inicial e para 30 segundos de ensaio para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol.

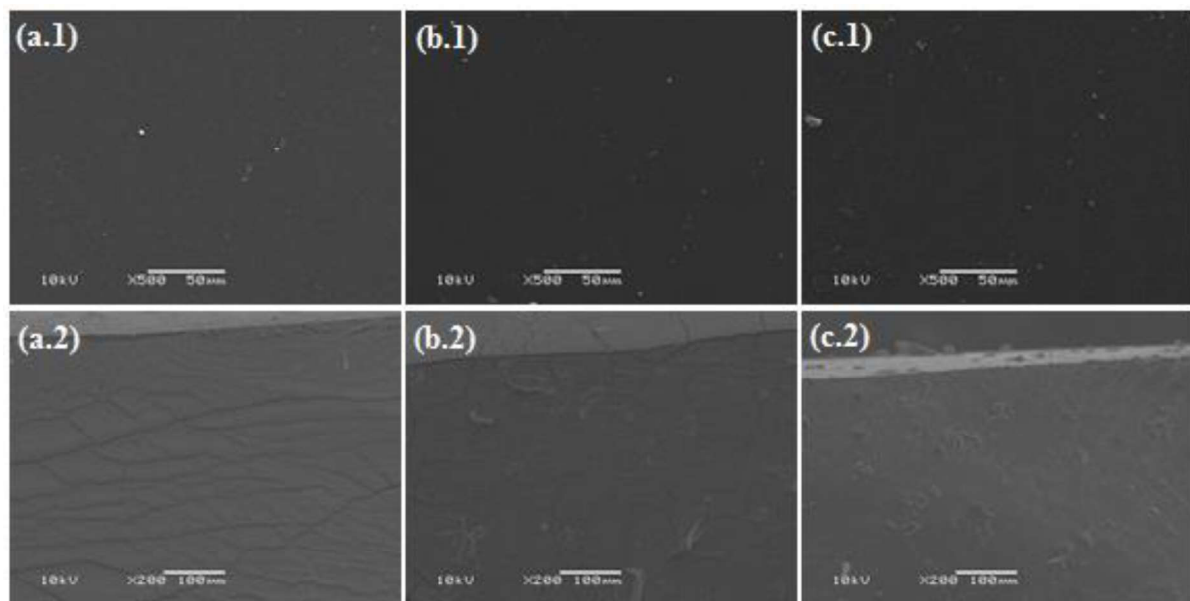
[Gelatina] (% m/v)	[Glicerol] (% v/v)	Ângulo de contato inicial (°)	Ângulo de contato 30 segundos (°)
5	0	92,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	91,0 ± 0,5 <sup>a</sup>
	5	80,7 ± 0,4 <sup>abcdef</sup>	74,8 ± 0,6 <sup>abc</sup>
	10	65 ± 5 <sup>fg</sup>	62 ± 5 <sup>bcd</sup>
	15	66 ± 3 <sup>efg</sup>	57 ± 5 <sup>cd</sup>
	20	68 ± 1 <sup>cdefg</sup>	61 ± 1 <sup>bcd</sup>
	25	59 ± 2 <sup>g</sup>	52 ± 3 <sup>d</sup>
7	0	92 ± 3 <sup>a</sup>	89 ± 5 <sup>a</sup>
	5	87,0 ± 0,8 <sup>ab</sup>	84,1 ± 0,3 <sup>a</sup>
	10	84 ± 4 <sup>abcd</sup>	78 ± 6 <sup>ab</sup>
	15	81 ± 3 <sup>abcdef</sup>	76 ± 3 <sup>ab</sup>
	20	60 ± 3 <sup>g</sup>	52,3 ± 0,1 <sup>d</sup>
	25	58 ± 3 <sup>g</sup>	50 ± 3 <sup>d</sup>
10	0	91 ± 1 <sup>a</sup>	90 ± 1 <sup>a</sup>
	5	83 ± 9 <sup>abcde</sup>	79 ± 8 <sup>ab</sup>
	10	86 ± 1 <sup>abc</sup>	78 ± 1 <sup>ab</sup>
	15	72,8 ± 0,7 <sup>bcdefg</sup>	72,8 ± 0,7 <sup>bcd</sup>
	20	69 ± 2 <sup>cdefg</sup>	69 ± 2 <sup>bcd</sup>
	25	67 ± 3 <sup>defg</sup>	67 ± 3 <sup>bcd</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.2.6 Morfologia

Na Figura 12 estão apresentadas as micrografias da superfície e da seção transversal dos filmes com 10 % de gelatina e 15, 20 e 25 % de glicerol. A superfície dos filmes de gelatina (apresentada na Figura 12 a.1, b.1 e c.1), é lisa, bastante regular e livre de rachaduras, mas contém algumas partículas de sujidades que aderiram à superfície do filme. A seção transversal dos filmes com menor concentração de glicerol (15 % – Figura 12 a.2) apresenta fissuras, que não são visualizadas para filmes com maiores concentrações de glicerol (Figura 12 b.2 e c.2). De acordo com Liu et al. (2017) essas fissuras podem ser causadas pelo processo de congelamento durante o crio-fraturamento.

Figura 12 – Micrografias dos filmes com 10 % de gelatina e (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol, sendo as imagens (1) da superfície em ampliação de 500 x e (2) da seção transversal em ampliação de 200 x.



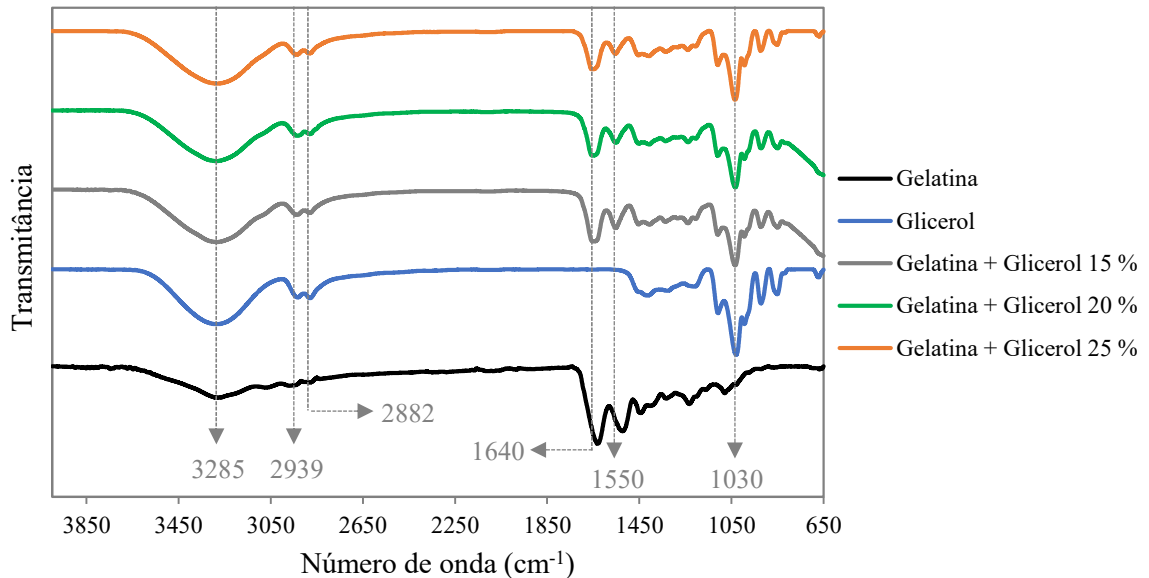
#### 4.1.2.7 Análise química estrutural

A análise química da gelatina em pó, do glicerol puro e dos filmes produzidos foi feita por meio da espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier*. Os espectros obtidos para os filmes com 10 % de gelatina, 15, 20 e 25 % de glicerol, sem zeólitas, e os espectros da gelatina e do glicerol estão apresentados na Figura 13.

Verifica-se que os espectros obtidos, para os filmes à base de gelatina com glicerol, passam a apresentar as bandas relacionadas tanto à gelatina quanto ao glicerol, sendo que as bandas da gelatina se intensificam, enquanto as do glicerol sofrem uma redução na

intensidade, isso pode ser ocasionado pela ocorrência de uma interação química entre as substâncias empregadas na produção dos filmes.

Figura 13 – Espectro de infravermelho por transformada de *Fourier* para a gelatina em pó, o glicerol puro e os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol, sem zeólitas.



Na Figura 13, identifica-se um pico em  $3285\text{ cm}^{-1}$ , que possivelmente é devido ao estiramento da ligação O-H, enquanto os picos observados em  $2939$  e  $2882\text{ cm}^{-1}$  podem ser relacionados ao estiramento da ligação C-H (NUNES, 2014). Observam-se, ainda, picos em  $1640$  e  $1550\text{ cm}^{-1}$  que provavelmente correspondem à deformação angular assimétrica e à deformação angular simétrica da ligação N-H, respectivamente. Esses picos são decorrentes de deformações que ocorrem em ligações presentes apenas na gelatina. O pico identificado em  $1030\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento da ligação C-O, presente na gelatina e no glicerol (NUNES, 2014).

## 4.2 ETAPA 2 – ZEÓLITA CLINOPTILOLITA

Nesta etapa deste trabalho são apresentados e discutidos os resultados de caracterização e impregnação da zeólita clinoptilolita com íons prata.

### 4.2.1 Caracterização da zeólita clinoptilolita

Os resultados obtidos para a caracterização química, morfológica, de área específica, distribuição de poros e de capacidade de troca catiônica da zeólita clinoptilolita são

demonstrados e discutidos nos itens 4.2.1.1 a 4.2.1.4. Salienta-se que as análises de MEV e FTIR foram realizadas antes e após a adsorção de prata na zeólita, sendo apresentadas em um mesmo item.

#### 4.2.1.1 Análises químicas

A análise química da zeólita clinoptilolita foi realizada por fluorescência de raios X e espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier*, os resultados estão apresentados a seguir.

##### 4.2.1.1.1 Fluorescência de raios X

Na Tabela 6 está apresentada a composição química da zeólita clinoptilolita, obtida pelo ensaio de fluorescência de raios X.

Tabela 6 – Composição química, perda ao fogo e relação Si/Al da clinoptilolita obtidos por FRX.

<b>Componente</b>	<b>Teor (%)</b>
Óxido de silício (SiO <sub>2</sub> )	70,76
Óxido de alumínio (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	9,60
Óxido de potássio (K <sub>2</sub> O)	3,60
Óxido de ferro (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	2,08
Óxido de cálcio (CaO)	3,18
Óxido de titânio (TiO <sub>2</sub> )	0,19
Óxido de sódio (Na <sub>2</sub> O)	0,18
Óxido de bário (BaO)	0,13
Óxido de magnésio (MgO)	0,39
Óxido de zircônio (ZrO <sub>2</sub> )	0,01
Óxido de estrôncio (SrO)	0,05
Óxido de manganês (MnO)	0,04
Óxido de rubídio (Rb <sub>2</sub> O)	0,02
Perda ao fogo (1000 °C)	9,77
Relação Si/Al	6,51

Pela análise dos dados da Tabela 6, pode-se perceber que os óxidos de silício e de alumínio são os componentes majoritários, o que justifica o uso dessa zeólita como material adsorvente para o íon prata. Isto se justifica pela capacidade de troca catiônica das zeólitas,

que se deve ao desequilíbrio de cargas provocado pelos íons  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Si}^{4+}$ . Este desequilíbrio faz com que um cátion extraestrutural seja atraído para manter a neutralidade da molécula. Além disso, sabe-se que a propriedade de troca catiônica é função da razão Si/Al (LUZ, 1995).

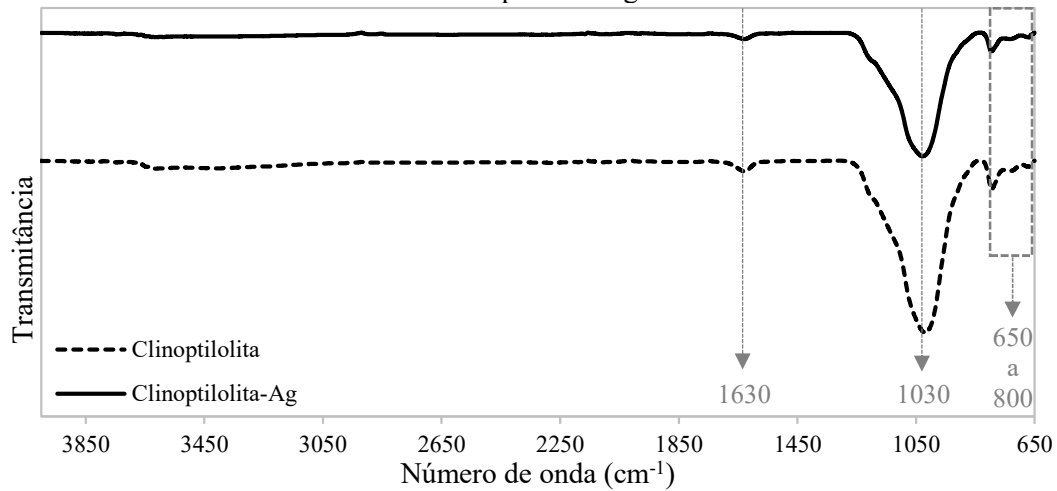
Observa-se, também, que a quantidade de óxido de silício presente na composição da zeólita clinoptilolita é consideravelmente maior do que a quantidade de óxido de alumínio, isso faz com que a relação Si/Al da zeólita seja alta. De acordo com Chairman et al. (1997) a clinoptilolita pode ser diferenciada de outros minerais pela sua relação Si/Al que normalmente é maior ou igual a 4. Szostak (1992) afirma que a relação Si/Al desta zeólita se encontra aproximadamente entre 7 e 18, o que confirma o resultado encontrado.

Além disso, considerou-se o valor de perda ao fogo, que estabelece a perda de massa da zeólita após o aquecimento à temperatura de 1000 °C. Esta análise é utilizada para se quantificar de forma aproximada a matéria volátil presente na amostra. A perda de massa se refere, na sua maior parte, ao dióxido de carbono, que é resultante da decomposição térmica de carbonatos constituintes das zeólitas. Outra parcela da perda ao fogo refere-se à perda de água existente na zeólita pelo processo de evaporação, dessa forma, um valor elevado de perda ao fogo pode caracterizar hidratação elevada do material (MAGALHÃES, 2016). O percentual de perda ao fogo obtido para a zeólita clinoptilolita foi maior do que o valor teórico desta propriedade para esta zeólita (7,63 %), indicando que seu teor de matéria volátil e/ou água é ligeiramente maior do que o esperado para esta zeólita (CALABRIA, 2016).

#### *4.2.1.1.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier*

Na Figura 14 estão apresentados os espectros de FTIR obtidos para a zeólita clinoptilolita antes e após a adsorção de íons prata na estrutura zeolítica. Observa-se que os picos permaneceram posicionados nos mesmos números de onda antes e após a impregnação da zeólita com  $\text{Ag}^+$ , o que indica que não ocorreram modificações nas bandas vibracionais decorrentes da presença de íons prata na zeólita (RIVERA-GARZA et al., 2000). Contudo, observa-se que ocorreu uma redução na intensidade dos picos de FTIR da clinoptilolita-Ag, quando comparados aos picos da clinoptilolita. Acredita-se que isso pode ser decorrente da incorporação dos íons  $\text{Ag}^+$  na estrutura da zeólita, visto que a presença desses íons possivelmente dificulta as vibrações das ligações externas, que se devem, por sua vez, à topologia e ao modo como a estrutura da zeólita é arranjada (DOULA, 2007; FLANINGEN; KHATAMI; SZYMANSKI, 1971).

Figura 14 – Espectro de infravermelho por transformada de *Fourier* para a zeólita clinoptilolita e para a clinoptilolita-Ag.



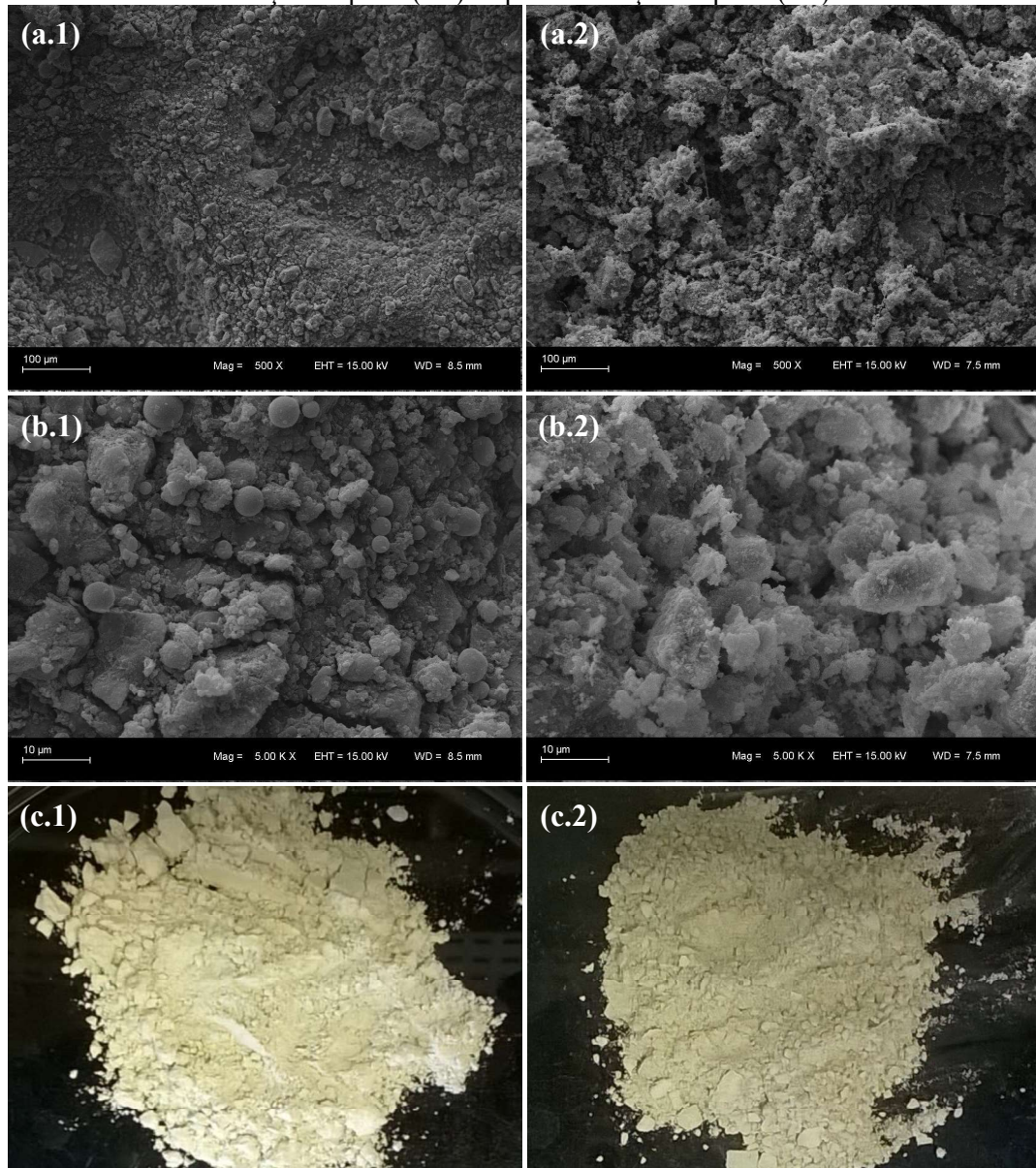
O pico observado em  $1630\text{ cm}^{-1}$  está relacionado com a vibração de flexão das moléculas de água presentes na zeólita. Sabe-se, também, que na zeólita clinoptilolita o íon  $\text{NO}_3^-$  apresenta uma banda vibracional em  $1350\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ , contudo, essa banda não é observada no espectro obtido, o que permite concluir que não foram adsorvidos íons nitrato na estrutura zeolítica (RIVERA-GARZA et al., 2000; TORRES, 2004).

Além disso, pela análise da Figura 14, observa-se o pico de maior intensidade do espectro de FTIR da zeólita clinoptilolita, identificado em, aproximadamente,  $1030\text{ cm}^{-1}$ , que é atribuído à vibração de alongamento das ligações assimétricas externas entre os tetraedros  $\text{TO}_4$  presentes na estrutura da zeólita. Além do mais, os picos perceptíveis entre  $650$  e  $800\text{ cm}^{-1}$  estão relacionados às vibrações de alongamento simétrico da ligação externa do tetraedro (em  $795\text{ cm}^{-1}$ ) e às vibrações de estiramento e curvatura dos anéis de 4 membros da molécula (MOZGAWA; KRÓL; BARCZYK, 2011; RIVERA-GARZA et al., 2000; YANG; XU, 1997).

#### 4.2.1.2 Morfologia

Na Figura 15 são apresentadas as imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura da zeólita clinoptilolita, bem como as fotografias desta zeólita, antes da adsorção com íons prata e após o maior tempo de contato entre a zeólita e a solução utilizado durante a realização dos estudos de impregnação de íons prata no material (1 hora).

Figura 15 – Microscopia eletrônica de varredura da zeólita clinoptilolita: antes da adsorção de prata, com ampliação de (a.1) 500 x e (b.1) 5000 x e após a adsorção de prata, com ampliação de (a.2) 500 x e (b.2) 5000 x. Potencial elétrico de aceleração de 15 kV. Fotografias da zeólita clinoptilolita: antes da adsorção de prata (c.1) e após a adsorção de prata (c.2).



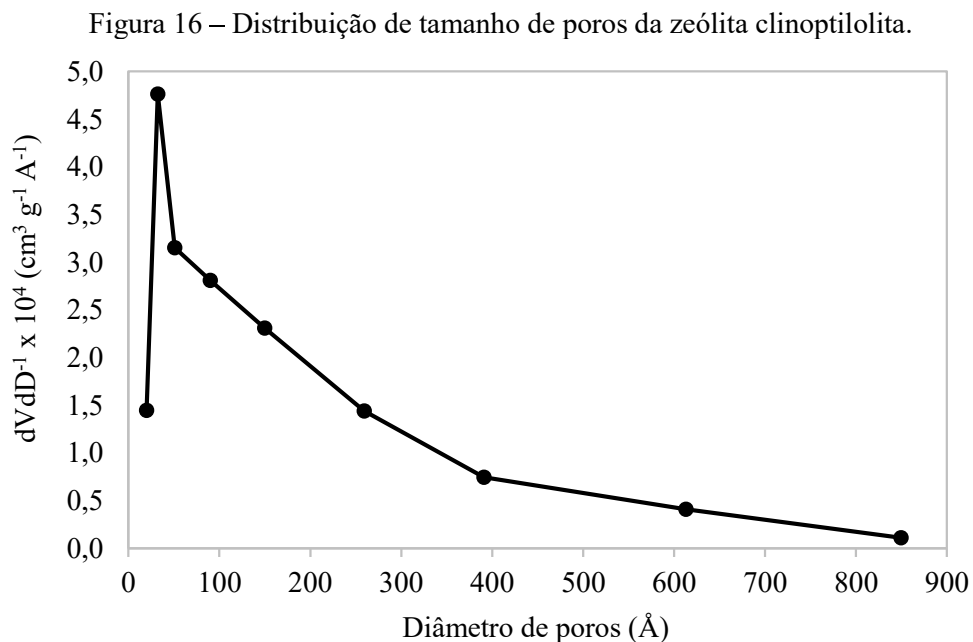
Pela análise da Figura 15 (a.1) e (b.1), pode-se verificar que a zeólita comercial clinoptilolita apresenta uma superfície irregular rugosa, o que provavelmente proporciona uma elevada quantidade de fendas e cavidades na estrutura, favorecendo o uso desta zeólita como adsorvente, em virtude da facilidade de acesso dos íons aos sítios de troca iônica (OLIVEIRA, 2011; ZANIN, 2013). Pelas imagens da Figura 15 (a.2) e (b.2), observa-se que o tamanho e o formato das partículas dos sólidos permanecem similares aos obtidos antes da adsorção de  $\text{Ag}^+$ , o que possivelmente indica que não houve alterações na estrutura do material em decorrência da presença dos íons prata.

Este mesmo resultado foi obtido nas micrografias para as amostras com os outros tempos de adsorção testados, devido a isso, optou-se por apresentar somente as imagens do maior tempo de contato. O mesmo comportamento também foi identificado nas fotografias apresentadas na Figura 15 (c.1) e (c.2), nas quais não é possível verificar diferenças na zeólita antes e após a adsorção dos íons prata. Outros autores reportaram comportamentos semelhantes ao impregnar a zeólita clinoptilolita, corroborando os resultados encontrados (BOSCHETTO, 2009; COPCIA et al., 2011; FERREIRA et al., 2012).

#### 4.2.1.3 Área específica e distribuição de tamanho de poros

Os resultados das análises de área específica (BET) e volume de poros (BJH) da zeólita clinoptilolita foram, respectivamente,  $35 \pm 0,1 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  e  $0,1 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ . Os valores obtidos para estas propriedades estão próximos às faixas comumente reportadas para as zeólitas naturais encontradas em depósitos em todo o mundo, visto que estas normalmente apresentam área específica entre 11 e  $27 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  e volume de poros que varia de 0,14 a  $0,33 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$  (ATES, 2014; ATES; AKGÜL, 2016; ATES; HARDACRE, 2012; SWENSON et al., 2012)

O diagrama que demonstra a distribuição de tamanho de poros da zeólita clinoptilolita é apresentado na Figura 16, na qual observa-se que a esta zeólita apresenta maior número de poros com diâmetro na faixa de 32 a 400 Å.





A distribuição de tamanho de poros da zeólita clinoptilolita é característica dos sólidos mesoporosos, que apresentam poros na faixa de 20 a 500 Å, contudo percebe-se que a clinoptilolita também apresenta macroporos. Considerando que o diâmetro iônico do íon prata é 1,26 Å, o tamanho dos poros da zeólita clinoptilolita são adequados para promover a mobilidade dos íons  $\text{Ag}^+$  através dos canais e a interação destes com a zeólita, favorecendo a troca iônica (AKGÜL et al., 2006).

#### 4.2.1.4 Capacidade de troca catiônica

A capacidade de troca catiônica está relacionada ao número de miliequivalentes (mEq) de um determinado cátion por grama ou por 100 gramas de zeólita. Essa propriedade se relaciona com a natureza das espécies catiônicas, o tamanho e a carga do cátion a ser trocado, a concentração das espécies catiônicas em solução e, também, com a razão Si/Al da estrutura zeolítica. Sabe-se que materiais com maiores valores de capacidade de troca iônica são mais eficientes para adsorção de íons, pois quanto maior a CTC do material, maior a quantidade de cátions que ele pode trocar (LOPES; GUILHERME, 1987; RIBEIRO; RODRIGUES, 2010). Ribeiro e Rodrigues (2010), afirmam que quando a relação Si/Al da zeólita clinoptilolita se encontra entre 4,25 e 5,25, a CTC pode chegar, em condições ideais, a 2,6 mEq  $\text{g}^{-1}$ , sendo que se a relação Si/Al for maior, o valor de CTC tende a aumentar.

Neste trabalho, na análise de capacidade de troca catiônica da zeólita clinoptilolita foi encontrado o valor de 1,42 mEq  $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$ . Na literatura são reportados diferentes valores para a capacidade de troca catiônica da zeólita clinoptilolita, que variam de 1,88 a 2,54 mEq  $\text{NH}_4^+$   $\text{g}^{-1}$  (MUMPTON, 1985; STYLIANOU et al., 2007). A CTC da clinoptilolita é relativamente baixa em comparação à CTC de outras zeólitas e a medida dessa propriedade pode dispersar dos valores teóricos devido a impurezas ou variações na composição química (BRECK, 1984). Apesar disso, o que promove a troca iônica é a seletividade da zeólita, que está relacionada, principalmente, ao tamanho desses íons. Dessa forma, segundo a literatura, há uma preferência da clinoptilolita por cátions grandes de acordo com a seguinte sequência:  $\text{Cs} > \text{Rb} > \text{K} > \text{NH}_4 > \text{Ba} > \text{Sr} > \text{Na} > \text{Ca} > \text{Fe} > \text{Al} > \text{Mg} > \text{Li}$  (MUMPTON, 1999).

Contudo, os estudos de adsorção de  $\text{Ag}^+$  feitos neste trabalho se mostraram satisfatórios em relação à quantidade de íons prata adsorvida ao se utilizar a zeólita clinoptilolita e há também outros estudos nos quais se percebe que o  $\text{Ag}^+$  foi satisfatoriamente adsorvido por esta zeólita (AKGÜL et al., 2006; COPCIA et al., 2011; ÇORUH; ŞENEL; ERGUN, 2010; LIHAREVA et al., 2010; RIVERA-GARZA et al., 2000).

#### 4.2.2 Impregnação da zeólita clinoptilolita com íons prata

A Tabela 7 apresenta os resultados dos ensaios de impregnação para as condições avaliadas.

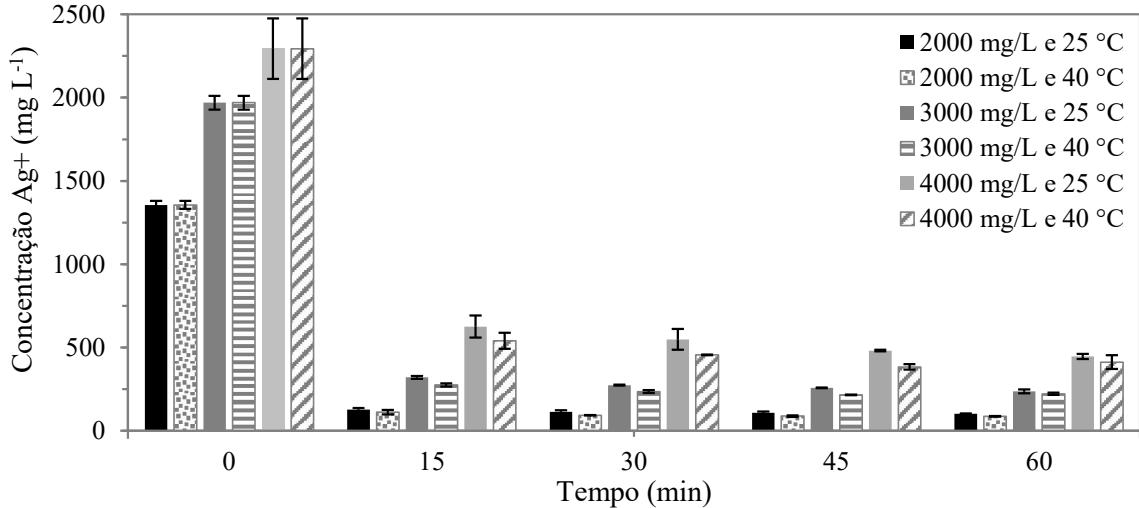
Tabela 7 – Concentração de  $\text{Ag}^+$  remanescente em solução, quantidade de  $\text{Ag}^+$  adsorvido e percentual de íons prata adsorvido na zeólita clinoptilolita, utilizando soluções de  $\text{AgNO}_3$  em diferentes concentrações, temperaturas e tempos de contato.

[ $\text{AgNO}_3$ ] ( $\text{mg L}^{-1}$ )	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	t (min)	[ $\text{Ag}^+$ ] ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Quantidade de $\text{Ag}^+$ adsorvida ( $\text{mg}_{\text{Ag}^+} \text{g}_{\text{zeólita}}^{-1}$ )	% de $\text{Ag}^+$ adsorvido
2000	25	0	1355 ± 24 <sup>b</sup>	-	-
2000	25	15	128 ± 9 <sup>ef</sup>	15,3 ± 0,4	91
2000	25	30	114 ± 8 <sup>ef</sup>	15,5 ± 0,4	92
2000	25	45	108 ± 7 <sup>ef</sup>	15,6 ± 0,4	92
2000	25	60	102 ± 1 <sup>f</sup>	15,7 ± 0,3	92
3000	25	0	1969 ± 40 <sup>a</sup>	-	-
3000	25	15	320 ± 8 <sup>cdef</sup>	20,6 ± 0,4	84
3000	25	30	274 ± 2 <sup>cdef</sup>	21,2 ± 0,5	86
3000	25	45	258 ± 1 <sup>def</sup>	21,4 ± 0,5	87
3000	25	60	237 ± 10 <sup>cdef</sup>	21,7 ± 0,4	88
4000	25	0	2293 ± 181 <sup>a</sup>	-	-
4000	25	15	625 ± 67 <sup>c</sup>	21 ± 1	73
4000	25	30	548 ± 62 <sup>cd</sup>	22 ± 2	76
4000	25	45	481 ± 5 <sup>cd</sup>	23 ± 2	79
4000	25	60	446 ± 15 <sup>cdef</sup>	23 ± 3	80
2000	40	0	1355 ± 24 <sup>b</sup>	-	-
2000	40	15	112 ± 13 <sup>ef</sup>	15,5 ± 0,1	92
2000	40	30	93 ± 1 <sup>f</sup>	15,8 ± 0,3	93
2000	40	45	88 ± 4 <sup>f</sup>	15,8 ± 0,3	94
2000	40	60	87 ± 1 <sup>f</sup>	15,9 ± 0,3	94
3000	40	0	1969 ± 40 <sup>a</sup>	-	-
3000	40	15	275 ± 10 <sup>cdef</sup>	21,2 ± 0,6	86
3000	40	30	236 ± 8 <sup>def</sup>	21,7 ± 0,6	88
3000	40	45	216 ± 1 <sup>def</sup>	21,9 ± 0,5	89
3000	40	60	222 ± 6 <sup>cdef</sup>	21,8 ± 0,4	89
4000	40	0	2293 ± 181 <sup>a</sup>	-	-
4000	40	15	540 ± 47 <sup>cd</sup>	22 ± 2	76
4000	40	30	456 ± 2 <sup>cde</sup>	23 ± 2	80
4000	40	45	383 ± 16 <sup>cdef</sup>	24 ± 3	83
4000	40	60	412 ± 41 <sup>cdef</sup>	24 ± 3	82

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Na Figura 17 está apresentado o diagrama que relaciona a quantidade de prata em solução com o passar do tempo de impregnação para cada uma das condições estudadas.

Figura 17 – Concentração de prata em solução após os ensaios de impregnação em função do tempo, para diferentes temperaturas e concentrações iniciais da solução de nitrato de prata.



Pela análise dos dados da Figura 17, observa-se que ocorreu uma redução acentuada da concentração de prata em solução nos 15 minutos iniciais do experimento. Esse comportamento também foi verificado em trabalhos de outros autores para a mesma zeólita, sendo que esse fenômeno se intensifica pela interação entre as cargas negativas da estrutura da zeólita e a carga positiva do íon Ag (AKGÜL et al., 2006). Além disso, a rápida adsorção no período inicial, provavelmente se dá em virtude do desequilíbrio de cargas resultante da relação Si/Al da zeólita, que fornece grande quantidade de sítios disponíveis para adsorção. Ainda, pode-se afirmar que conforme aumenta o tempo de contato entre a zeólita e a solução, diminui a quantidade de sítios disponíveis, o que leva à redução da taxa de adsorção.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 7, percebe-se que para todas as concentrações e temperaturas avaliadas é atingido um valor estatisticamente constante de prata remanescente em solução a partir de 15 minutos de experimento. Neste tempo, para a temperatura de 25 °C, a impregnação chegou a 91, 84 e 73 % da prata existente em solução para as concentrações de 2000, 3000 e 4000 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, e para a temperatura de 40 °C esses percentuais foram de 92, 86 e 76 %. Sendo assim, em relação às temperaturas selecionadas para a troca iônica, percebe-se que a diferença entre a quantidade de prata remanescente em solução, para um mesmo tempo, não foi significativamente influenciada pelo aumento da temperatura. Assim, a temperatura de 25 °C foi selecionada para dar continuidade aos experimentos, pois resulta em menor gasto energético para o aquecimento

do sistema. Além disso, optou-se por utilizar o tempo de 15 minutos e a concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup> para a solução de nitrato de prata.

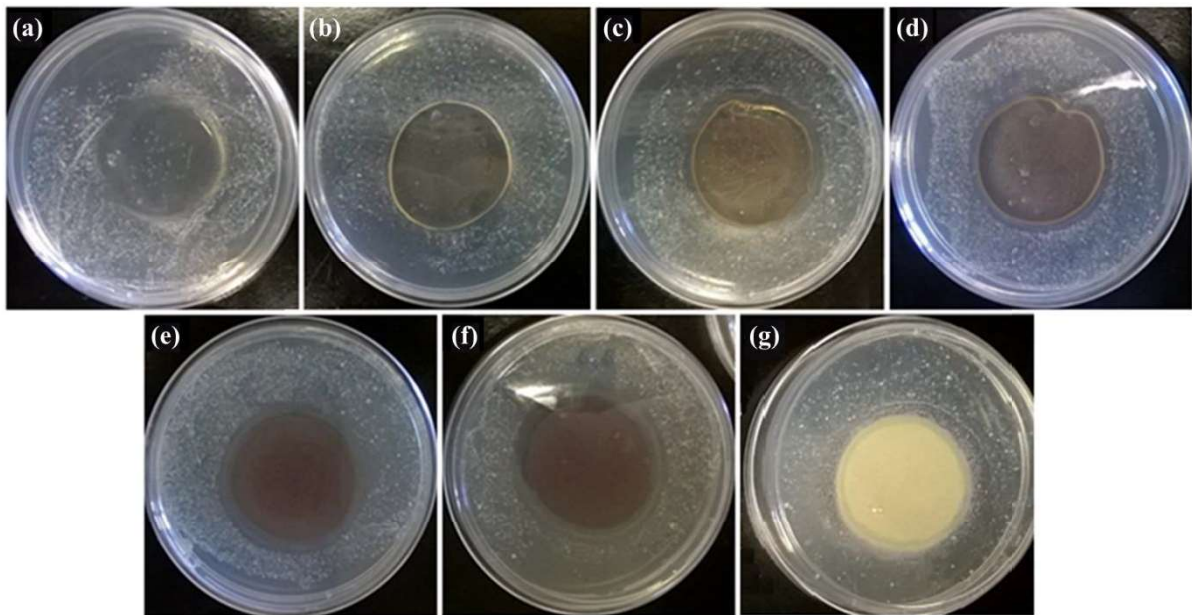
#### 4.3 ETAPA 3 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A partir dos resultados dos ensaios de caracterização feitos para os filmes com diferentes concentrações de gelatina e glicerol, decidiu-se que os filmes com 10 % (m/v) de gelatina e com as concentrações de 15 a 25 % (v/v) de glicerol são mais adequados para incorporação das zeólitas na solução formadora de filme. A justificativa para essa escolha é que para essas formulações foram obtidas características mais próximas das recomendadas para aplicação como curativos. Por exemplo, resistência à tração, percentual de alongação e capacidade de absorção de água próximos dos valores recomendados para essa aplicação. Além disso, estes filmes apresentaram características de textura mais desejáveis a curativos, quando considera o conforto relacionado ao contato com a pele.

O ensaio antimicrobiano preliminar teve como objetivo avaliar a quantidade de clinoptilolita-Ag necessária para que o filme apresentasse atividade antimicrobiana, com base em dados da literatura. Para concentrações de zeólita-Ag em torno de 0,1 ou 0,2 %, a maioria dos autores encontrou ausência ou fraca inibição microbiana, sendo que a inibição passou a ser percebida quando foram utilizadas concentrações maiores do que 0,5 % de zeólita-Ag (BOSCHETTO, 2009; FERNÁNDEZ et al., 2010; SANTOS, 2014).

Na Figura 18 está apresentado o resultado dos ensaios antimicrobianos preliminares. Analisando as imagens, pode-se perceber que para os filmes que não possuem zeólitas (Figura 18.a), com clinoptilolita não impregnada com íons Ag<sup>+</sup> (Figura 18.g) e para os filmes com 0,1 % de clinoptilolita-Ag na composição (Figura 18.b), não ocorre inibição da bactéria *Staphylococcus aureus*, pois não há evidências da formação de um halo de inibição e observa-se o crescimento de colônias, inclusive sob o filme. Em contrapartida, para os filmes com as demais concentrações de clinoptilolita-Ag (Figura 18.c a Figura 18.f), se percebe a formação de halo de inibição. Contudo, não se observa um aumento no diâmetro deste halo com o aumento da concentração de clinoptilolita-Ag. Dessa forma, é possível concluir que a atividade antimicrobiana dos filmes é devida à presença de íons prata e que estes estão sendo liberados da estrutura da zeólita e do filme, agindo como bactericida. Uma vez que a atividade antimicrobiana ocorreu para concentrações iguais ou maiores do que 0,5 % de clinoptilolita-Ag, optou-se por dar continuidade aos ensaios adicionando as concentrações de 0,5; 1 e 2 % (m/v) de clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag na formulação dos filmes.

Figura 18 – Ensaio antimicrobianos preliminares para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol (a) sem clinoptilolita e (b) 0,1 %, (c) 0,5 %, (d) 1 %, (e) 3 %, (f) 5 % de clinoptilolita-Ag e (g) 5 % de clinoptilolita.



#### 4.4 ETAPA 4 – FILMES DE GELATINA, GLICEROL E ZEÓLITAS

Nesta seção, são apresentados e discutidos os resultados relacionados à caracterização e avaliação antimicrobiana dos filmes que contêm zeólitas.

##### 4.4.1 Caracterização dos filmes de gelatina, glicerol e zeólitas

Dada a importância de verificar as diferenças nas propriedades dos filmes com zeólitas em relação aos filmes que não contêm zeólitas na formulação, nesta seção serão apresentados os resultados de caracterização dos filmes compostos por 10 % de gelatina e 15, 20 e 25 % de glicerol, contendo 0; 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag. Os filmes foram caracterizados em relação aos seguintes parâmetros: espessura, teor de umidade, permeabilidade ao vapor de água, fluxo de permeação de vapor de água, capacidade de absorção de água, propriedades mecânicas, caráter hidrofílico, estrutura química e propriedades térmicas. Para os filmes que contêm clinoptilolita-Ag, serão apresentados, também, os resultados da análise de microscopia eletrônica de varredura e espectrometria de absorção atômica com chama, para quantificação da prata presente nos filmes.

## 4.4.1.1 Espessura e teor de umidade

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados para espessura e teor de umidade obtidos para as formulações de filmes que contêm zeólitas. Observa-se que conforme aumenta a concentração de glicerol na formulação, aumenta a espessura do filme, da mesma forma que ocorreu para os filmes feitos apenas com gelatina e glicerol. Além disso, para os filmes que contêm 15 e 20 % de glicerol, não se percebeu um aumento significativo na espessura com a adição de zeólitas, em contrapartida, percebe-se que para os filmes com 25 % de glicerol a espessura aumenta com a adição de zeólitas ao filme.

Tabela 8 – Espessura e teor de umidade para os filmes com 10 % de gelatina com diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

[Glicerol] (% v/v)	[Zeólita] (% m/v)	Tipo de zeólita	Espessura (mm)	Teor de umidade (%)
15	0	-	0,58 ± 0,00 <sup>j</sup>	20,9 ± 0,8 <sup>ef</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	0,58 ± 0,01 <sup>j</sup>	27,3 ± 0,2 <sup>ab</sup>
	0,5	Clinoptilolita	0,60 ± 0,00 <sup>j</sup>	27,1 ± 0,5 <sup>ab</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	0,64 ± 0,00 <sup>ghij</sup>	26,5 ± 0,2 <sup>abc</sup>
	1	Clinoptilolita	0,61 ± 0,00 <sup>ij</sup>	27,8 ± 0,6 <sup>a</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	0,60 ± 0,00 <sup>ij</sup>	27,0 ± 0,8 <sup>ab</sup>
	2	Clinoptilolita	0,62 ± 0,00 <sup>hij</sup>	21,2 ± 0,8 <sup>def</sup>
20	0	-	0,73 ± 0,01 <sup>def</sup>	21,8 ± 0,9 <sup>def</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	0,67 ± 0,00 <sup>fghi</sup>	28,4 ± 0,6 <sup>a</sup>
	0,5	Clinoptilolita	0,68 ± 0,00 <sup>efgh</sup>	26,6 ± 0,5 <sup>abc</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	0,70 ± 0,00 <sup>defg</sup>	26,0 ± 0,3 <sup>abc</sup>
	1	Clinoptilolita	0,74 ± 0,00 <sup>de</sup>	26 ± 1 <sup>abc</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	0,75 ± 0,00 <sup>de</sup>	25,7 ± 0,4 <sup>abc</sup>
	2	Clinoptilolita	0,74 ± 0,00 <sup>de</sup>	24,3 ± 0,3 <sup>bcd</sup>
25	0	-	0,76 ± 0,01 <sup>cd</sup>	19,0 ± 0,5 <sup>f</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	0,88 ± 0,00 <sup>ab</sup>	23,6 ± 0,2 <sup>cde</sup>
	0,5	Clinoptilolita	0,90 ± 0,01 <sup>a</sup>	21,4 ± 0,5 <sup>def</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	0,87 ± 0,00 <sup>ab</sup>	21,4 ± 0,7 <sup>def</sup>
	1	Clinoptilolita	0,87 ± 0,00 <sup>ab</sup>	21,0 ± 0,6 <sup>ef</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	0,83 ± 0,00 <sup>bc</sup>	20,1 ± 0,4 <sup>f</sup>
	2	Clinoptilolita	0,84 ± 0,00 <sup>ab</sup>	18,7 ± 0,5 <sup>f</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Em relação ao teor de umidade, também apresentado na Tabela 8, pode-se observar que essa característica aumentou com a adição de zeólitas para os filmes que contêm 15 e 20 % de glicerol, em comparação ao teor de umidade apresentado pela mesma composição do filme sem zeólitas. No entanto, para os filmes com 25 % de glicerol, a umidade dos filmes que não contêm zeólita é estatisticamente igual à umidade dos filmes com diferentes concentrações de clinoptilolita e clinoptilolita-Ag. Assim, pode-se concluir que para a concentração de glicerol de 25 %, a adição de zeólitas, impregnadas ou não com íons prata, ao filme não exerce influência sobre o teor de umidade dos filmes.

As zeólitas são formadas por estruturas porosas que retêm umidade, sendo assim a água pode ficar armazenada nos poros desses materiais (RESENDE; MONTE, 2008). Em geral, para que a água retida nos seus poros seja eliminada, é necessário submeter as zeólitas ao aquecimento durante 8 horas, em média, em temperaturas entre 250 e 300 °C (FERREIRA, 1992). Desta forma, no ensaio que determina o teor de umidade dos filmes que contêm zeólitas, onde esses são submetidos à secagem (105 °C por 24 horas), as moléculas de água absorvidas nas zeólitas são difíceis de eliminar, visto que ficam dispostas no interior de seus poros. Para os filmes que contêm 25 % de glicerol, não foi verificado aumento no teor de umidade. Isso possivelmente se deve ao fato de ter ocorrido uma redução na absorção de água pelas zeólitas, então as moléculas de água permaneceram na estrutura do filme, sendo facilmente eliminadas durante o processo de secagem.

#### 4.4.1.2 Permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados de permeabilidade ao vapor de água e fluxo de permeação de vapor de água para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas. Pelos resultados apresentados na Tabela 9, pode-se observar que a PVA dos filmes que contêm 15 e 20 % de glicerol é estatisticamente igual entre si, independentemente da concentração de zeólitas, e também igual à PVA dos filmes com 15 ou 20 % de glicerol sem zeólitas na formulação. Isso não ocorreu para os filmes com concentração de 25 % de glicerol, pois nesse caso, quando adicionado 1 % de zeólita ao filme, há um aumento significativo na PVA em relação à permeabilidade ao vapor de água dos demais filmes. Os resultados obtidos são similares aos encontrados na literatura e não ocorreu um aumento na PVA em decorrência da adição de zeólitas aos filmes (YASSUE-CORDEIRO et al., 2015). Esse resultado indica que a adição das zeólitas não influencia na PVA, e que as

variações dessa propriedade são decorrentes, principalmente, da concentração de glicerol presente nos filmes.

Tabela 9 – Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e fluxo de permeação de vapor de água (FPVA) para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

[Glicerol] (% v/v)	[Zeólita] (% m/v)	Tipo de zeólita	PVA x 10 <sup>5</sup> (g m h <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> Pa <sup>-1</sup> )	FPVA (g h <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> )
15	0	-	4,66 ± 0,03 <sup>de</sup>	2,55 ± 0,03 <sup>bcd</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	5,16 ± 0,08 <sup>de</sup>	1,98 ± 0,08 <sup>defghi</sup>
	0,5	Clinoptilolita	5,41 ± 0,12 <sup>de</sup>	2,02 ± 0,05 <sup>defgh</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	5,83 ± 0,27 <sup>cde</sup>	2,01 ± 0,09 <sup>defgh</sup>
	1	Clinoptilolita	2,97 ± 0,12 <sup>e</sup>	2,01 ± 0,09 <sup>defgh</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	2,94 ± 0,15 <sup>e</sup>	1,23 ± 0,07 <sup>i</sup>
	2	Clinoptilolita	4,65 ± 0,12 <sup>de</sup>	1,90 ± 0,02 <sup>defghi</sup>
20	0	-	5,62 ± 0,49 <sup>de</sup>	2,92 ± 0,14 <sup>bc</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	3,78 ± 0,20 <sup>e</sup>	1,44 ± 0,07 <sup>ghi</sup>
	0,5	Clinoptilolita	4,58 ± 0,38 <sup>de</sup>	1,71 ± 0,12 <sup>efghi</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	4,31 ± 0,50 <sup>de</sup>	1,57 ± 0,18 <sup>fghi</sup>
	1	Clinoptilolita	3,83 ± 0,18 <sup>de</sup>	1,32 ± 0,07 <sup>hi</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	4,04 ± 0,29 <sup>de</sup>	2,23 ± 0,16 <sup>cdef</sup>
	2	Clinoptilolita	3,57 ± 0,16 <sup>e</sup>	2,00 ± 0,09 <sup>defghi</sup>
25	0	-	7,07 ± 0,39 <sup>bcd</sup>	3,82 ± 0,08 <sup>a</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	5,04 ± 0,30 <sup>de</sup>	2,35 ± 0,14 <sup>cde</sup>
	0,5	Clinoptilolita	10,27 ± 0,08 <sup>ab</sup>	2,90 ± 0,09 <sup>bc</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	11,26 ± 0,40 <sup>a</sup>	3,29 ± 0,12 <sup>ab</sup>
	1	Clinoptilolita	12 ± 3 <sup>a</sup>	2,16 ± 0,50 <sup>cdefg</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	8,88 ± 0,31 <sup>abc</sup>	1,69 ± 0,05 <sup>efghi</sup>
	2	Clinoptilolita	9,47 ± 0,30 <sup>ab</sup>	1,79 ± 0,05 <sup>defghi</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Por outro lado, em relação aos fluxos de permeação de vapor de água para os filmes com zeólitas, observa-se que os filmes com 10 % de gelatina e 15 % de glicerol, adicionados de zeólitas, possuem FPVA estatisticamente igual ao filme de mesma formulação, sem zeólitas. Enquanto que os filmes contendo 20 e 25 % de glicerol apresentaram FPVA maior para o filme sem zeólitas do que para os filmes de mesma formulação que contêm zeólitas. O fluxo de permeação de vapor de água tem relação direta com a PVA e com o gradiente de umidade relativa durante o experimento e é inversamente proporcional à espessura do filme,



então, pode-se inferir que as variações nas condições do ambiente durante o ensaio e o aumento na espessura dos filmes que contêm zeólitas, possivelmente, ocasionaram a diminuição no fluxo de permeação de vapor de água.

De acordo com Lamke, Nilsson e Reithner (1977) o fluxo de permeação ao vapor de água da pele humana, em condições normais, está em torno de  $8,5 \text{ g h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ , isto significa que a pele perde 8,5 g de água em um metro quadrado de área a cada hora. Já a pele com lesão por queimadura de primeiro grau apresenta FPVA em torno de  $12 \text{ g h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  e, quando a ferida está formando o tecido de granulação, o FPVA pode chegar a valores próximos a  $214 \text{ g h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . Considerando esses valores, percebe-se que o fluxo de permeação ao vapor de água para os filmes de gelatina, glicerol e zeólitas desenvolvidos neste trabalho são menores do que aqueles indicados para o tratamento de queimaduras.

Considerando que a permeabilidade de filmes poliméricos depende de uma série de fatores, tais como a integridade do filme, a cristalinidade, a concentração de materiais hidrofílicos e hidrofóbicos na formulação e a mobilidade das cadeias do polímero, por exemplo, alterações podem ser feitas visando o aumento da PVA e do FPVA dos filmes (GARCIA; MARTINO; ZARITZKY, 2000). Nesse contexto, a diminuição da espessura dos filmes e a adição de agentes reticulantes, por exemplo, podem tornar os filmes mais permeáveis e mais adequados para a aplicação como curativos, contudo deve-se buscar um equilíbrio entre PVA, FPVA e as demais propriedades dos filmes, de forma que não haja redução das mesmas.

#### 4.4.1.3 Capacidade de absorção de água

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados de CAA em 60 minutos para os filmes com 10 % de gelatina, 15 a 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. Analisando os dados, observa-se que, em alguns casos, a CAA para os filmes que contêm zeólitas é significativamente maior do que a CAA dos filmes compostos apenas por gelatina e glicerol e, em outros, a CAA para os filmes com e sem zeólitas é estatisticamente igual.

Ninan et al. (2013) produziram *scaffolds* porosos de gelatina e glicerol e perceberam que a adição de zeólitas reduziu a absorção de água e, conseqüentemente, o inchamento. Os autores atribuíram esse resultado à redução no tamanho dos poros do *scaffold* em decorrência da adição das zeólitas. Nesse trabalho, nem todos os filmes desenvolvidos com zeólitas apresentaram aumento significativo na CAA, provavelmente porque a presença das zeólitas

esteja tornando o filme menos higroscópico, reduzindo, dessa forma, a absorção de água (TEIXEIRA, 2007).

Para os filmes obtidos com as demais formulações observa-se que a absorção de água aumentou com o tempo, contudo não se pode afirmar que diminuiu com o aumento da concentração de glicerol, pois as CAA são bastante semelhantes para as diferentes concentrações do plastificante nos filmes que contêm zeólitas. Os resultados da capacidade de absorção de água em função do tempo para os filmes de gelatina, glicerol e zeólitas estão apresentados no Apêndice A.

Tabela 10 – Capacidade de absorção de água (CAA) em 60 minutos para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

[Glicerol] (% v/v)	[Zeólita] (% m/v)	Tipo de zeólita	CAA em 60 minutos (%)
	0	-	192 ± 1 <sup>def</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	253 ± 6 <sup>a</sup>
	0,5	Clinoptilolita	235 ± 3 <sup>ab</sup>
15	1	Clinoptilolita-Ag	243 ± 11 <sup>cde</sup>
	1	Clinoptilolita	201 ± 3 <sup>cdef</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	196 ± 3 <sup>def</sup>
	2	Clinoptilolita	251 ± 6 <sup>a</sup>
	0	-	165 ± 4 <sup>gh</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	225 ± 5 <sup>abc</sup>
	0,5	Clinoptilolita	210 ± 2 <sup>bcd</sup>
20	1	Clinoptilolita-Ag	192 ± 2 <sup>defg</sup>
	1	Clinoptilolita	192 ± 6 <sup>defg</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	174 ± 3 <sup>fgh</sup>
	2	Clinoptilolita	179 ± 4 <sup>efgh</sup>
	0	-	165 ± 2 <sup>gh</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	180 ± 3 <sup>h</sup>
	0,5	Clinoptilolita	216 ± 13 <sup>bcd</sup>
25	1	Clinoptilolita-Ag	196 ± 3 <sup>def</sup>
	1	Clinoptilolita	175 ± 3 <sup>fgh</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	197 ± 5 <sup>cdef</sup>
	2	Clinoptilolita	178 ± 4 <sup>efgh</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

## 4.4.1.4 Propriedades mecânicas

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados de tensão e alongação na ruptura, e o módulo de Young para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas. Para os filmes que não contêm zeólitas, verifica-se que ocorre uma redução na tensão e no módulo de Young com o aumento da concentração de glicerol de 15 para 20 %. Contudo os valores dessas propriedades permanecem estatisticamente iguais quando a concentração de plastificante é aumentada de 20 para 25 %. Por outro lado, o percentual de alongação é estatisticamente igual, independente das concentrações do plastificante.

Tabela 11 – Tensão e alongação na ruptura e módulo de Young para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

[Glicerol] (% v/v)	[Zeólita] (% m/v)	Tipo de zeólita	Tensão (MPa)	Elongação (%)	Módulo de Young (MPa)
15	0	-	1,91 ± 0,05 <sup>abc</sup>	252 ± 2 <sup>bcde</sup>	0,80 ± 0,08 <sup>bcd</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	2,06 ± 0,09 <sup>ab</sup>	242 ± 14 <sup>de</sup>	0,66 ± 0,08 <sup>def</sup>
	0,5	Clinoptilolita	2,03 ± 0,03 <sup>ab</sup>	267 ± 16 <sup>bcde</sup>	0,69 ± 0,02 <sup>cde</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	1,93 ± 0,09 <sup>abc</sup>	232 ± 15 <sup>de</sup>	0,87 ± 0,03 <sup>abc</sup>
	1	Clinoptilolita	2,26 ± 0,02 <sup>a</sup>	263 ± 5 <sup>bcde</sup>	0,91 ± 0,02 <sup>ab</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	2,16 ± 0,07 <sup>ab</sup>	239 ± 6 <sup>de</sup>	0,98 ± 0,03 <sup>a</sup>
	2	Clinoptilolita	2,14 ± 0,07 <sup>ab</sup>	270 ± 15 <sup>bcde</sup>	0,91 ± 0,01 <sup>ab</sup>
20	0	-	1,30 ± 0,13 <sup>de</sup>	254 ± 18 <sup>bcde</sup>	0,34 ± 0,05 <sup>hij</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	1,94 ± 0,10 <sup>abc</sup>	368 ± 20 <sup>a</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>fg</sup>
	0,5	Clinoptilolita	2,04 ± 0,08 <sup>ab</sup>	327 ± 18 <sup>ab</sup>	0,58 ± 0,02 <sup>efg</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	1,58 ± 0,10 <sup>cd</sup>	270 ± 16 <sup>bcde</sup>	0,57 ± 0,02 <sup>efg</sup>
	1	Clinoptilolita	1,84 ± 0,06 <sup>bc</sup>	320 ± 7 <sup>abc</sup>	0,58 ± 0,03 <sup>efg</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	1,39 ± 0,08 <sup>de</sup>	253 ± 15 <sup>bcde</sup>	0,58 ± 0,01 <sup>efg</sup>
	2	Clinoptilolita	1,46 ± 0,04 <sup>d</sup>	269 ± 12 <sup>bcde</sup>	0,55 ± 0,02 <sup>efg</sup>
25	0	-	1,29 ± 0,08 <sup>de</sup>	259 ± 4 <sup>bcde</sup>	0,32 ± 0,05 <sup>hij</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	1,02 ± 0,05 <sup>f</sup>	295 ± 19 <sup>abcd</sup>	0,29 ± 0,03 <sup>ij</sup>
	0,5	Clinoptilolita	0,85 ± 0,10 <sup>f</sup>	250 ± 8 <sup>cde</sup>	0,22 ± 0,02 <sup>j</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	0,90 ± 0,04 <sup>f</sup>	270 ± 17 <sup>bcde</sup>	0,30 ± 0,01 <sup>ij</sup>
	1	Clinoptilolita	0,77 ± 0,06 <sup>f</sup>	228 ± 17 <sup>de</sup>	0,28 ± 0,02 <sup>ij</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	0,87 ± 0,06 <sup>f</sup>	228 ± 28 <sup>de</sup>	0,40 ± 0,02 <sup>ghij</sup>
	2	Clinoptilolita	0,80 ± 0,01 <sup>f</sup>	200 ± 15 <sup>e</sup>	0,41 ± 0,02 <sup>ghi</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

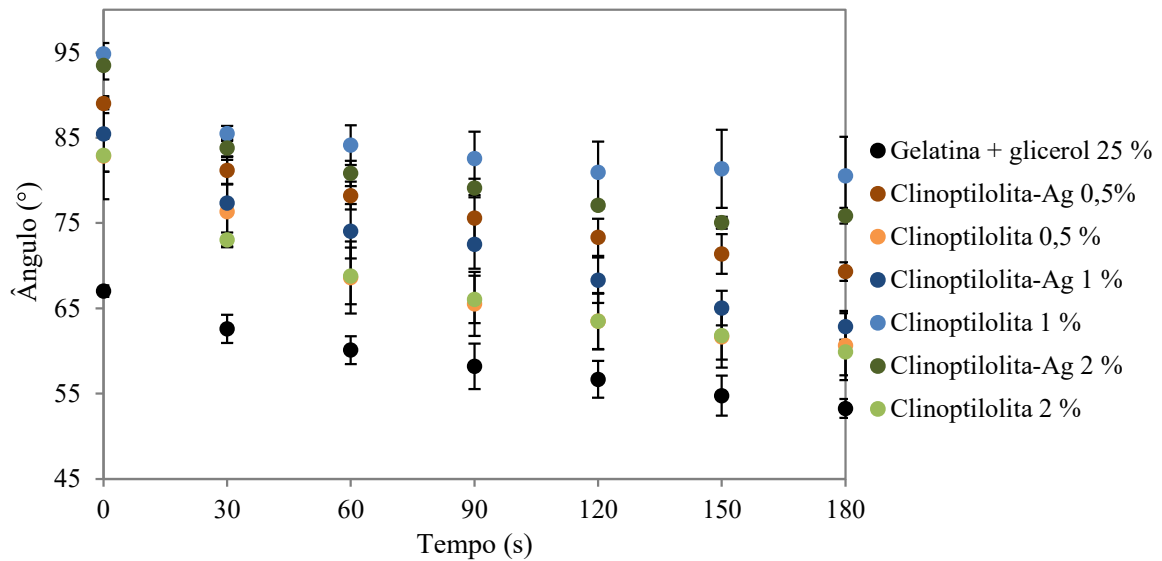
Adicionalmente, pela análise dos resultados apresentados na Tabela 11, verifica-se que a adição de clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag ao filme não modificou nenhuma das três características avaliadas para os filmes com 15 % de glicerol. Para os filmes que contêm 20 % de glicerol, houve um aumento da tensão quando foi adicionado 0,5 e 1 % de zeólitas, em relação ao filme formulado sem adição de zeólitas; por outro lado, quando foi adicionado 2 % de zeólitas, a tensão na ruptura foi estatisticamente igual à do filme sem zeólitas. O percentual de alongação permaneceu estatisticamente igual para a maioria dos valores encontrados, com exceção dos filmes com 0,5 % de zeólitas, que apresentaram maior alongação. Ainda, o módulo de elasticidade foi estatisticamente igual para todos os filmes que contêm zeólitas, independentemente da concentração, e foi maior do que o do filme que não contém clinoptilolita. No caso dos filmes formulados com 25 % de glicerol, observa-se uma diminuição da tensão na ruptura para todas as concentrações de zeólitas adicionadas ao se comparar com o filme que não contém zeólitas. Além disso, o módulo de Young e o percentual de alongação permaneceram estatisticamente iguais, independente da adição de zeólitas ao filme.

Normalmente, espera-se que a adição de zeólitas aos filmes aumente a tensão na ruptura e o módulo de elasticidade e reduza o percentual de alongação, aumentando, assim, a rigidez dos filmes (BENDAHOU et al., 2015; TEIXEIRA, 2007). Entretanto, esse comportamento não foi verificado para todos os filmes desenvolvidos nesse trabalho. Contudo, considerando os resultados encontrados, pode-se dizer que as propriedades mecânicas dos filmes que contêm zeólitas demonstram seu potencial para serem aplicados como curativos, visto que os curativos comerciais normalmente apresentam resistência à tração entre 0,1 e 0,33 MPa e alongação em uma faixa de 180 a 370 % (LEE et al., 2016).

#### 4.4.1.5 Caráter hidrofílico

Na Figura 19 estão apresentados os resultados das medidas do ângulo de contato em função do tempo para os filmes produzidos com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas. Observa-se que o ângulo de contato diminui com o passar do tempo e o filme continua absorvendo água, mesmo com a presença de zeólitas, portanto a adição das zeólitas apenas reduz a absorção de água pelo filme (EXTRAND; KUMAGAI, 1997; GUERRERO et al., 2011; NINAN et al., 2013). Os resultados de ângulo de contato para os filmes com as demais concentrações de glicerol estão apresentados no Apêndice B e demonstram comportamento semelhante.

Figura 19 – Ângulo de contato em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.



Na Tabela 12 estão apresentados os resultados de ângulo de contato no início do experimento, quando a gota é disposta sobre o filme, e em 30 segundos de ensaio, além da análise estatística dos dados. Pela análise dos resultados, verifica-se que, para a maioria das formulações avaliadas e em qualquer tempo, o ângulo de contato para os filmes que contêm zeólitas é maior do que o ângulo de contato dos filmes formulados apenas com gelatina e glicerol. Segundo Teixeira (2007), esse comportamento é justificado pela adição de compostos inorgânicos, como os aluminossilicatos, que provoca uma redução no caráter hidrofílico do filme, aumentando, assim o ângulo de contato.

Pode-se perceber, também, que os valores de ângulo de contato para os filmes com clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag não diferem estatisticamente entre si, portanto o fato da zeólita ser impregnada com prata não altera o caráter hidrofílico do filme. Ainda, para as concentrações de zeólita estudadas, em geral, os ângulos obtidos são estatisticamente iguais. Então, para as concentrações de glicerol e zeólitas avaliadas neste trabalho, a adição de maior quantidade de zeólitas não influencia diretamente na redução da hidroflicidade, visto que a menor e a maior concentração de zeólitas nos filmes provocaram a mesma redução na hidroflicidade.

Tabela 12 – Ângulo de contato inicial e para 30 segundos de ensaio para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

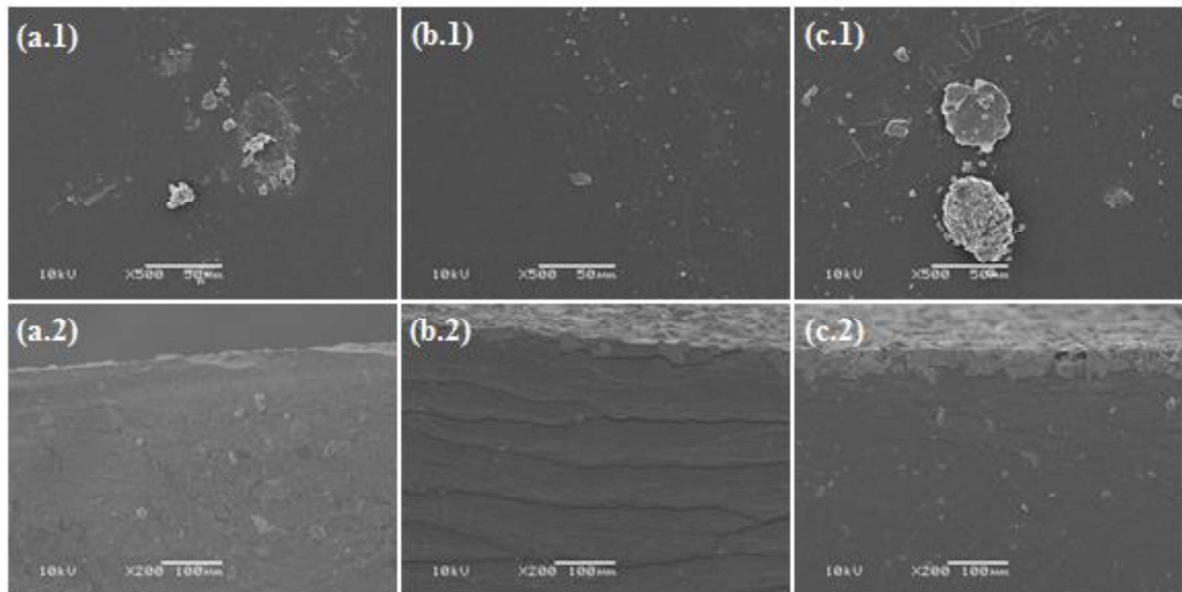
[Glicerol] (% v/v)	[Zeólita] (% m/v)	Tipo da zeólita	Ângulo de contato inicial (°)	Ângulo de contato 30 segundos (°)
15	0	-	73 ± 1 <sup>bc</sup>	64 ± 2 <sup>ef</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	87 ± 1 <sup>ab</sup>	84 ± 2 <sup>abcd</sup>
	0,5	Clinoptilolita	86 ± 5 <sup>ab</sup>	79 ± 3 <sup>abcd</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	83 ± 4 <sup>ab</sup>	78 ± 5 <sup>abcd</sup>
	1	Clinoptilolita	92 ± 1 <sup>a</sup>	86 ± 1 <sup>abc</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	93 ± 2 <sup>a</sup>	88 ± 1 <sup>ab</sup>
	2	Clinoptilolita	90 ± 2 <sup>a</sup>	79 ± 1 <sup>abcd</sup>
20	0	-	69 ± 2 <sup>c</sup>	61 ± 2 <sup>f</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	94 ± 1 <sup>a</sup>	88 ± 2 <sup>a</sup>
	0,5	Clinoptilolita	86 ± 3 <sup>ab</sup>	79 ± 2 <sup>abcd</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	88 ± 1 <sup>a</sup>	81 ± 1 <sup>abcd</sup>
	1	Clinoptilolita	88 ± 4 <sup>a</sup>	79 ± 3 <sup>abcd</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	85 ± 2 <sup>ab</sup>	81 ± 1 <sup>abcd</sup>
	2	Clinoptilolita	90 ± 1 <sup>a</sup>	76 ± 3 <sup>cd</sup>
25	0	-	67 ± 3 <sup>c</sup>	63 ± 4 <sup>ef</sup>
	0,5	Clinoptilolita-Ag	89 ± 1 <sup>a</sup>	81 ± 1 <sup>abcd</sup>
	0,5	Clinoptilolita	83 ± 1 <sup>ab</sup>	76 ± 2 <sup>bcd</sup>
	1	Clinoptilolita-Ag	85 ± 0 <sup>ab</sup>	77 ± 0 <sup>abcd</sup>
	1	Clinoptilolita	95 ± 0 <sup>a</sup>	86 ± 1 <sup>abc</sup>
	2	Clinoptilolita-Ag	94 ± 2 <sup>a</sup>	84 ± 4 <sup>abcd</sup>
	2	Clinoptilolita	83 ± 3 <sup>ab</sup>	73 ± 1 <sup>de</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.1.6 Morfologia

As micrografias dos filmes com 10 % de gelatina, 15 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de clinoptilolita-Ag estão apresentadas na Figura 20. Uma vez que, pela análise das micrografias obtidas para a zeólita clinoptilolita antes e após a impregnação com prata não foram observadas diferenças na morfologia, decidiu-se realizar a análise de MEV apenas para os filmes adicionados de clinoptilolita-Ag.

Figura 20 – Micrografias dos filmes com 10 % de gelatina, 15 % de glicerol e (a) 0,5; (b) 1 e (c) 2 % de clinoptilolita-Ag, sendo as imagens (1) da superfície em ampliação de 500 x e (2) da seção transversal em ampliação de 200 x.



Nas micrografias da superfície dos filmes (Figura 20 a.1, b.1 e c.1), é possível observar a distribuição das zeólitas no filme. É evidente que a adição da clinoptilolita-Ag causa modificações na morfologia dos filmes, que passaram a ser mais rugosos devido à presença das zeólitas. Observa-se, também, a presença de alguns aglomerados, o que permite concluir que a distribuição da clinoptilolita-Ag no filme não é homogênea. Essa não homogeneidade também pode ser observada visualmente.

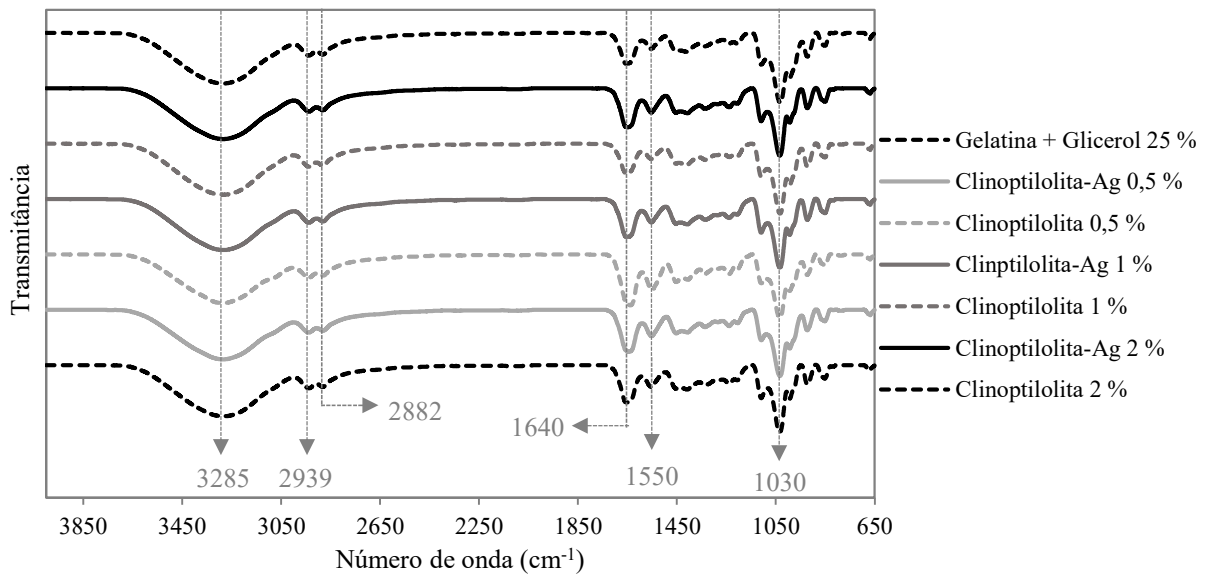
Esse resultado é corroborado pela análise das micrografias da seção transversal dos filmes (Figura 20 a.2, b.2 e c.2). Verifica-se que, para a concentração de 0,5 % de clinoptilolita-Ag, há uma boa distribuição das partículas na matriz de gelatina e glicerol, porém quando se utilizam as concentrações de 1 e 2 % de clinoptilolita-Ag na composição, ocorre um acúmulo de zeólitas na superfície, ou seja, nem todas as partículas de zeólitas ficam dispersas no filme.

#### 4.4.1.7 Análise química estrutural

Na Figura 21 estão apresentados os espectros de FTIR para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólita clinoptilolita e clinoptilolita-Ag. Nos espectros desses filmes foram observados os mesmos picos identificados para os filmes de gelatina e glicerol que não contêm zeólitas, provavelmente devido às interações químicas entre a gelatina e o glicerol. Porém, o pico relacionado à vibração do estiramento

das ligações assimétricas externas entre os tetraedros presentes na estrutura da clinoptilolita fica sobreposto à banda correspondente ao estiramento da ligação C-O da gelatina e do glicerol, visto que ambas as vibrações são identificadas no mesmo número de onda ( $1030\text{ cm}^{-1}$ ). Os espectros de FTIR dos filmes com e sem zeólita para os filmes com as concentrações de 15 e 20 % de glicerol estão apresentados no Apêndice C.

Figura 21 – Espectros de infravermelho por transformada de *Fourier* para os filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.



#### 4.4.1.8 Análises térmicas

Neste item estão apresentados os espectros da análise termogravimétrica e da calorimetria exploratória diferencial para os filmes desenvolvidos neste trabalho.

##### 4.4.1.8.1 Análise termogravimétrica

Na Tabela 13 estão apresentados os valores relacionados à perda de umidade, perda de massa não decorrente da umidade e temperatura *onset* da degradação de cada um dos filmes desenvolvidos neste trabalho. Os termogramas obtidos estão no Apêndice D.



Tabela 13 – Resultados de perda de umidade, perda de massa e  $T_{onset}$  obtidos através dos termogramas para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

[Glicerol] (% v/v)	[Zeólitas] (% m/v)	Tipo de zeólita	Perda de umidade (%)	Perda de massa (%)	Perda de massa total (%)	$T_{onset}$ (°C)
15	-	-	4	90	94	191,0
15	0,5	Clinoptilolita-Ag	5	88	93	177,2
15	0,5	Clinoptilolita	4	87	91	180,1
15	1	Clinoptilolita-Ag	6	85	91	169,3
15	1	Clinoptilolita	4	86	90	181,1
15	2	Clinoptilolita-Ag	4	85	89	184,3
15	2	Clinoptilolita	4	83	87	185,2
20	-	-	5	90	95	181,5
20	0,5	Clinoptilolita-Ag	5	89	94	155,2
20	0,5	Clinoptilolita	5	87	92	165,8
20	1	Clinoptilolita-Ag	8	85	93	166,1
20	1	Clinoptilolita	6	86	92	166,8
20	2	Clinoptilolita-Ag	6	85	91	164,0
20	2	Clinoptilolita	6	83	89	165,3
25	-	-	7	89	96	174,0
25	0,5	Clinoptilolita-Ag	5	90	95	167,0
25	0,5	Clinoptilolita	5	88	93	165,0
25	1	Clinoptilolita-Ag	6	88	94	167,9
25	1	Clinoptilolita	5	87	92	166,4
25	2	Clinoptilolita-Ag	6	85	91	166,2
25	2	Clinoptilolita	5	85	90	164,1

Pela análise dos dados, observa-se que não ocorreu variação considerável para o percentual de perda de umidade dos filmes, com diferentes concentrações de glicerol e zeólitas, visto que estes apresentam teores de umidade bastante próximos. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos no ensaio de determinação do teor de umidade.

Este mesmo comportamento foi observado para a perda de massa não decorrente da umidade, que foi ligeiramente menor para os filmes que contêm zeólitas quando comparado aos filmes sem zeólitas. Devido à presença das zeólitas, esperava-se que a perda de massa dos filmes fosse menor do que a perda de massa dos filmes formulados apenas com gelatina e glicerol, uma vez que o ensaio não atinge a temperatura de degradação da zeólita clinoptilolita. Adicionalmente, percebe-se que, para os filmes que contêm clinoptilolita, a perda de massa é ligeiramente menor do que para os filmes que contêm clinoptilolita-Ag,

possivelmente, devido às maiores quantidades de água e outros compostos voláteis na estrutura da zeólita impregnada com íons prata (BARBOSA et al., 2016).

Além disso, observa-se que para os filmes sem zeólitas, à medida que aumenta a concentração de glicerol, a  $T_{onset}$  sofre uma ligeira diminuição. Isto indica que a degradação inicia em temperaturas mais baixas com o aumento da concentração de glicerol na formulação. O que demonstra que a presença de grandes concentrações de plastificante pode ocasionar um prejuízo nas propriedades térmicas dos filmes, pois reduz sua estabilidade térmica.

A temperatura de degradação dos filmes que contêm zeólitas é menor do que a  $T_{onset}$  dos filmes feitos apenas com gelatina e glicerol. Em relação à presença de clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag, percebe-se que a temperatura de *onset* da degradação é maior na presença de  $Ag^+$ , da mesma forma que foi observado no trabalho de Pehlivan et al. (2005). A partir desse resultado, verifica-se que a adição de zeólitas aos filmes também causa uma redução na estabilidade térmica dos mesmos, visto que sua temperatura de início de degradação diminui.

#### 4.4.1.8.2 Calorimetria exploratória diferencial

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados de temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura de fusão e temperatura de máxima degradação ( $T_d$ ) para os filmes produzidos neste trabalho. As curvas de DSC estão apresentadas no Apêndice E.

Vale ressaltar que a temperatura de fusão foi identificada na primeira corrida, sendo que, em alguns casos, este evento térmico ocorreu em mais de uma etapa (identificadas como  $T_{m1}$  e  $T_{m2}$ ), o que pode ser decorrente das interações entre a gelatina, o glicerol e as zeólitas empregados na formulação do filme.

De um modo geral, observa-se que as temperaturas encontradas para um mesmo evento térmico são bastante semelhantes para as diferentes formulações de filmes avaliadas, acontecendo pequenos desvios. Além disso, conforme comentado anteriormente, são necessários dois ciclos de aquecimento para melhor observar esses eventos térmicos, visto que as temperaturas de transição vítrea e de fusão da gelatina e das misturas são próximas. Desta forma, observam-se valores próximos para as temperaturas de degradação dos filmes, indicando que a reação de degradação não sofre grande influência das diferenças na composição dos filmes. Esses mesmos comportamentos foram identificados no trabalho de Nunes (2014).

Tabela 14 – Temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura de fusão ( $T_m$ ) e temperatura de máxima degradação da amostra ( $T_d$ ) obtidas através das curvas de DSC para os filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas.

[Glicerol] (% v/v)	[Zeólita] (% m/v)	Tipo de zeólita	$T_g$ (°C)	$T_{m1}$ (°C)	$T_{m2}$ (°C)	$T_d$ (°C)
15	-	-	30,3	58,4	-	279,2
15	0,5	Clinoptilolita-Ag	30,7	58,0	67,1	258,2
15	0,5	Clinoptilolita	27,2	58,4	-	296,8
15	1	Clinoptilolita-Ag	29,0	53,1	-	279,8
15	1	Clinoptilolita	29,9	57,0	-	270,1
15	2	Clinoptilolita-Ag	28,5	55,8	-	292,4
15	2	Clinoptilolita	30,8	58,2	62,5	257,5
20	-	-	29,8	53,7	-	259,4
20	0,5	Clinoptilolita-Ag	30,3	53,8	61,1	268,1
20	0,5	Clinoptilolita	23,0	58,0	-	297,9
20	1	Clinoptilolita-Ag	27,7	59,1	-	279,7
20	1	Clinoptilolita	29,1	55,1	60,0	264,3
20	2	Clinoptilolita-Ag	27,5	56,7	-	260,7
20	2	Clinoptilolita	27,3	62,1	-	289,6
25	-	-	24,3	56,3	66,2	310,3
25	0,5	Clinoptilolita-Ag	28,1	62,5	72,5	252,1
25	0,5	Clinoptilolita	26,5	57,1	70,2	275,4
25	1	Clinoptilolita-Ag	25,6	56,0	69,9	283,9
25	1	Clinoptilolita	25,1	58,4	-	266,9
25	2	Clinoptilolita-Ag	27,3	54,1	69,1	266,0
25	2	Clinoptilolita	26,1	59,6	74,8	289,3

#### 4.4.1.9 Quantificação de prata dos filmes

Visando a quantificação da prata existente nos filmes produzidos com as diferentes concentrações de clinoptilolita-Ag, as amostras foram submetidas ao ensaio de espectrometria de absorção atômica com chama.

Na Tabela 15 estão apresentados os resultados desse ensaio para os filmes avaliados. Por meio desses resultados, observa-se que a concentração de íons prata obtida, para cada uma das concentrações de zeólita adicionadas aos filmes, difere significativamente ao aumentar as concentrações de clinoptilolita-Ag. Contudo estas concentrações se mantêm estatisticamente igual para uma mesma concentração de zeólita, independente da concentração de glicerol utilizada.

Tabela 15 – Quantidade de íons prata nos filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e clinoptilolita-Ag.

[Glicerol] (% v/v)	[Clinoptilolita-Ag] (% m/v)	[Ag <sup>+</sup> ] (mg/100 g)
15	0,5	4,5 ± 0,1 <sup>c</sup>
15	1	12 ± 2 <sup>b</sup>
15	2	30 ± 7 <sup>a</sup>
20	0,5	4,3 ± 0,1 <sup>c</sup>
20	1	13 ± 1 <sup>b</sup>
20	2	28 ± 7 <sup>a</sup>
25	0,5	6 ± 2 <sup>c</sup>
25	1	17 ± 4 <sup>b</sup>
25	2	34 ± 2 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Os experimentos de adsorção de íons Ag<sup>+</sup> na zeólita clinoptilolita resultaram em  $15,5 \pm 0,4$  mg<sub>Ag<sup>+</sup></sub> por grama de zeólita, portanto a quantidade de prata para os filmes com concentrações maiores de zeólitas se aproxima mais do valor esperado do que para as concentrações menores. Uma explicação para esse resultado, é que no ensaio de FAAS o filme e as zeólitas são decompostos, liberando a prata contida dentro dos poros e adsorvida na superfície das zeólitas (YASSUE-CORDEIRO et al., 2014). Além disso, as diferenças nesses valores podem ser decorrentes, também, da distribuição não homogênea das zeólitas na amostra de filme.

#### 4.4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana

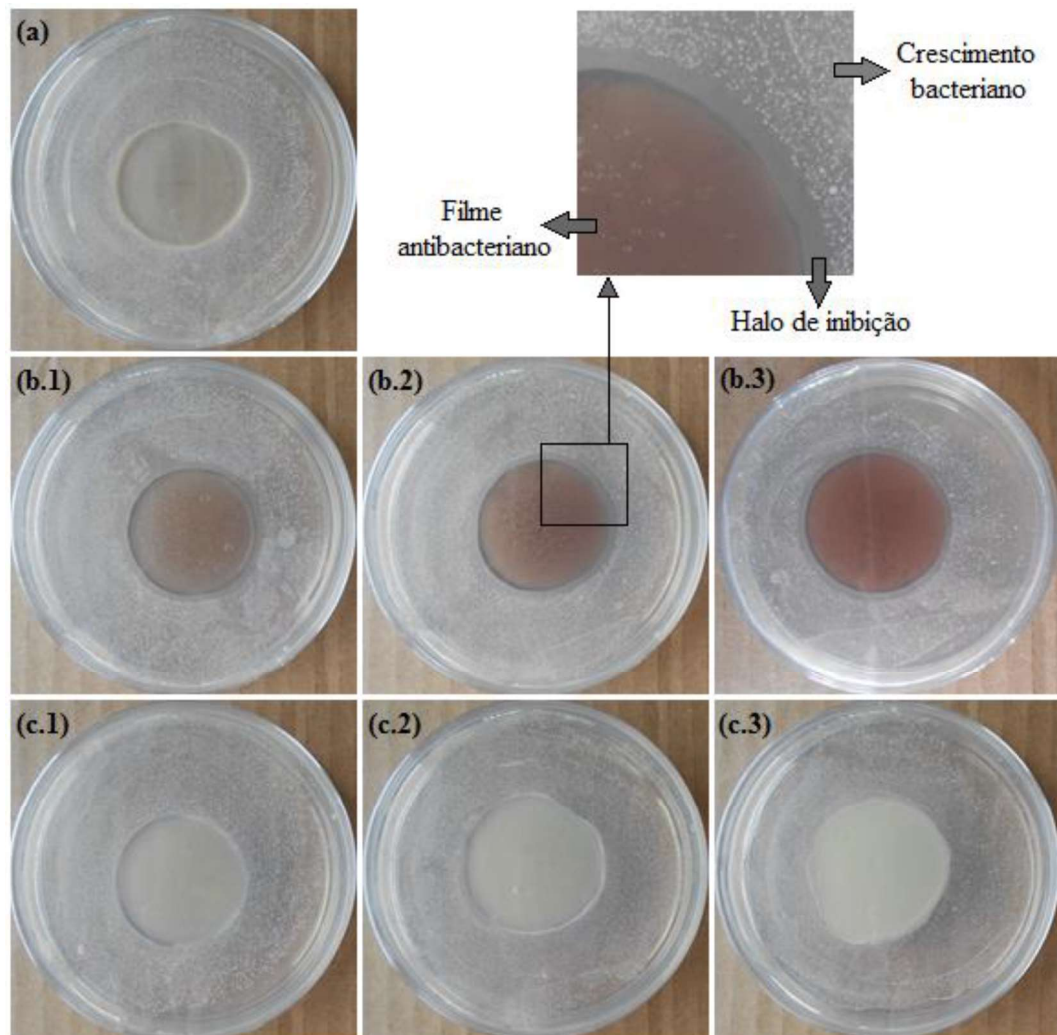
Nesta seção são apresentados os resultados obtidos para os ensaios antimicrobianos feitos para os filmes adicionados de zeólitas. Iniciou-se pela análise qualitativa feita para todos os filmes produzidos, seguida pela análise quantitativa, realizada apenas para os filmes que contêm clinoptilolita-Ag.

##### 4.4.2.1 Análise qualitativa

Os resultados dos testes de difusão em placas mostraram a atividade antimicrobiana dos filmes que contêm clinoptilolita-Ag e a ausência desta atividade para os demais filmes. As imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem Ag<sup>+</sup>, submetidos à análise em ágar PCA com a bactéria *Staphylococcus*

*aureus*, estão apresentadas na Figura 22. Observa-se a formação de halo de inibição de aproximadamente 3 a 4 mm em torno de todos os filmes que contêm clinoptilolita-Ag. Em contrapartida, para os filmes sem zeólitas e para os que contêm zeólita clinoptilolita sem  $\text{Ag}^+$ , não se observa atividade antimicrobiana, comprovando que a ação bactericida realmente se deve à ação dos íons prata presentes nos filmes.

Figura 22 – Imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem  $\text{Ag}^+$ , submetidos à análise em ágar PCA com a bactéria *S. aureus*. (a) sem zeólitas, com (b.1) 0,5; (b.2) 1 e (b.3) 2 % de clinoptilolita-Ag e (c.1) 0,5; (c.2) 1 e (c.3) 2 % de clinoptilolita.



A análise de atividade antimicrobiana realizada pela coleta do *swab* da pele humana e cultivo dos microrganismos em ágar PCA e PDA, apresentou resultados semelhantes aos obtidos para o ensaio feito com a bactéria *Staphylococcus aureus*. A formação de halo de inibição microbiana foi observada apenas em torno dos filmes que continham clinoptilolita-Ag, para os demais filmes não houve formação de halo. As imagens obtidas nesta análise estão apresentadas na Figura 23, para o ágar PCA, e na Figura 24, para o ágar PDA.

Figura 23 – Imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem  $\text{Ag}^+$ , submetidos à análise em ágar PCA para o ensaio qualitativo com *swab* da pele. (a) sem zeólitas, com e sem  $\text{Ag}^+$ , (b.1) 0,5; (b.2) 1 e (b.3) 2 % de clinoptilolita- $\text{Ag}$  e (c.1) 0,5; (c.2) 1 e (c.3) 2 % de clinoptilolita.

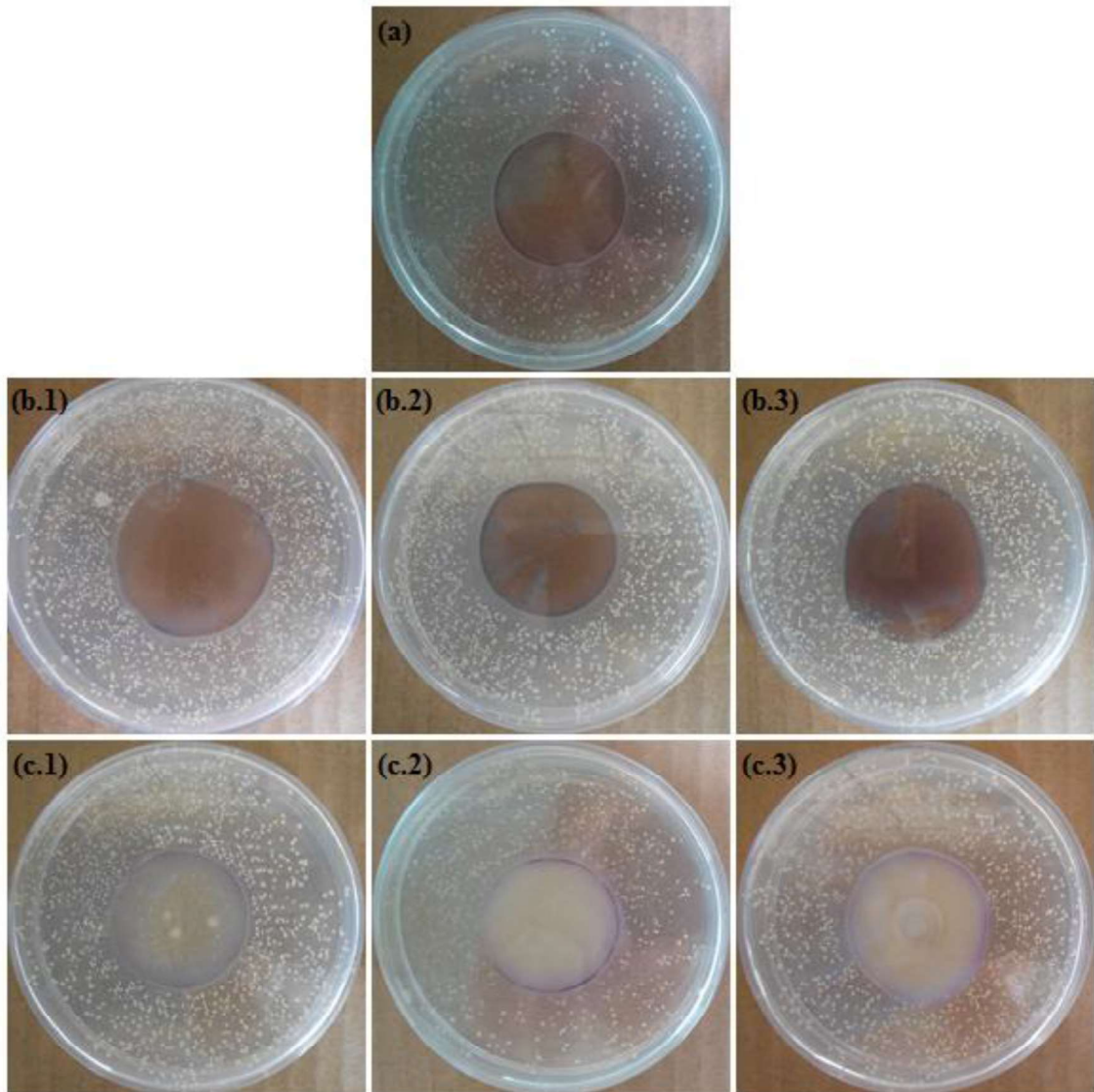
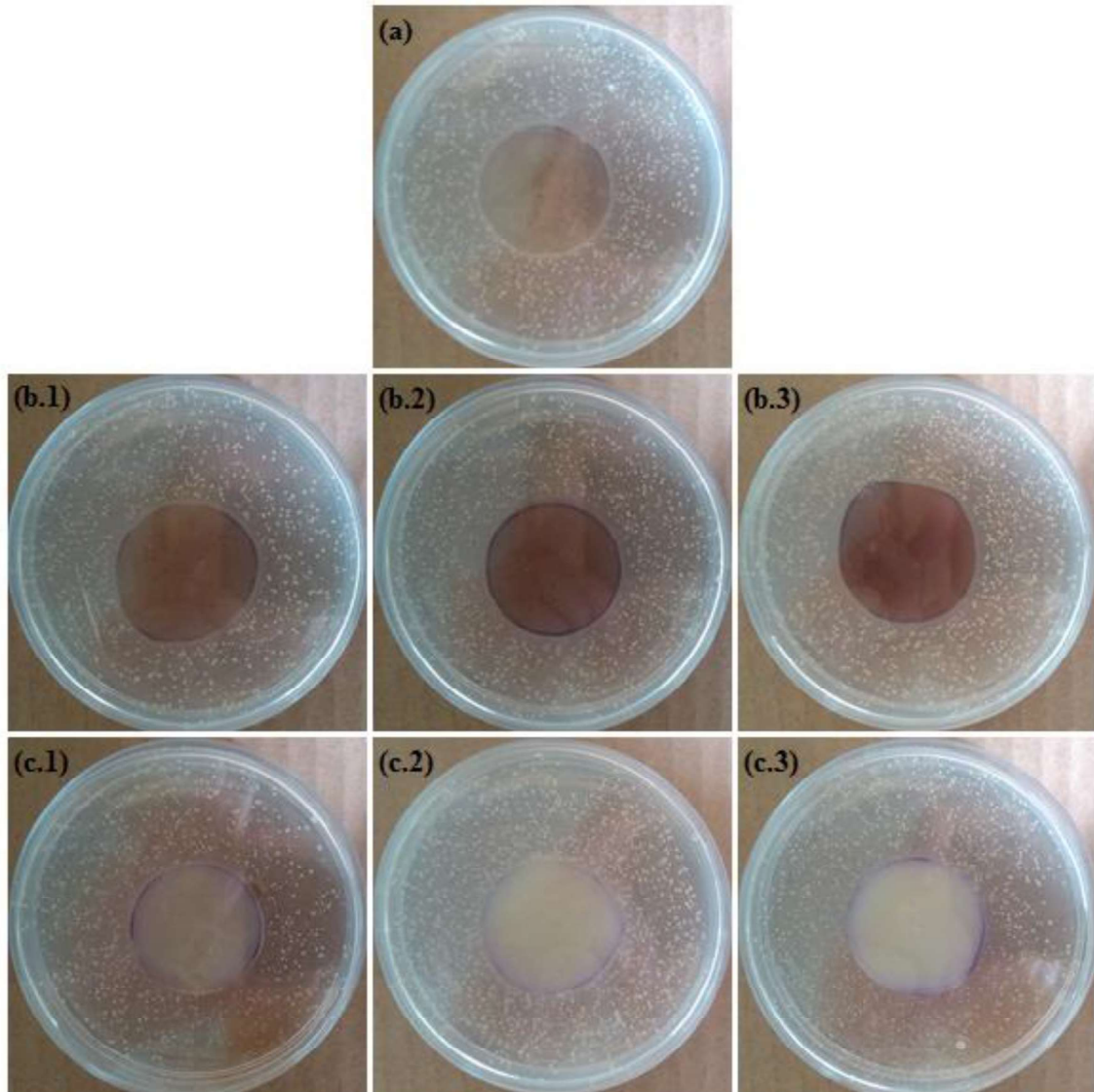


Figura 24 – Imagens dos filmes com 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas, com e sem  $\text{Ag}^+$ , submetidos à análise em ágar PDA para o ensaio qualitativo com *swab* da pele. (a) sem zeólitas, com (b.1) 0,5; (b.2) 1 e (b.3) 2 % de clinoptilolita- $\text{Ag}$  e (c.1) 0,5; (c.2) 1 e (c.3) 2 % de clinoptilolita.



Pela análise das imagens apresentadas nas Figuras 23 e 24, verifica-se que o crescimento microbiano para ambos os ágar utilizados foi muito similar, porém mais intenso do que o observado nas imagens da Figura 22. Para os experimentos realizados com *swab* em ágar PDA identificou-se, também, o crescimento de algumas colônias de fungos, sendo possível verificar diferenças entre os microrganismos encontrados nos diferentes meios de cultura. Esse resultado indica a maior carga microbiana da pele humana, dada por bactérias que se desenvolveram de forma semelhante nos dois meios de cultura (MACHADO, 2012).

Nota-se que ao comparar os halos de inibição em torno dos filmes com diferentes concentrações de clinoptilolita- $\text{Ag}$ , não houve diferenças expressivas no seu tamanho. De acordo com Boschetto (2009), isto pode ser explicado pela atividade antimicrobiana do

agente, que depende da sua solubilidade e, como o meio utilizado para o ensaio não apresenta grande quantidade de solvente, a difusão do agente antimicrobiano pode ter sido dificultada.

#### 4.4.2.2 Análise quantitativa

Os ensaios qualitativos permitiram concluir que a ação antimicrobiana se dá pela presença dos íons prata no filme. Com base nesses resultados, realizou-se a avaliação quantitativa, verificando a redução da contagem, em placas de Petri, de uma suspensão microbiana na presença de uma amostra de 2 cm<sup>2</sup> de filme contendo clinoptilolita-Ag imersa na solução.

Na Tabela 16 estão apresentados os resultados em termos de unidades formadoras de colônias em função do tempo para os filmes compostos por 10 % de gelatina, 25 % de glicerol e diferentes concentrações de clinoptilolita-Ag. Observa-se que, para todos os filmes avaliados, ocorreu uma redução acentuada na concentração bacteriana em solução nas primeiras horas de ensaio. Para melhor visualizar este comportamento, os gráficos que demonstram o número de colônias em função do tempo obtidos neste ensaio são apresentados no Apêndice F.

Tabela 16 – Número de colônias em cada tempo do ensaio antimicrobiano quantitativo para os filmes com 15, 20 e 25 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita-Ag.

[Gli] (% v/v)	[Cli-Ag] (% m/v)	Número de colônias							
		t0	1h	2h	3h	4h	6h	8h	24h
15	0,5	1430 ± 130*	790 ± 170*	560 ± 170*	420 ± 80*	400 ± 60*	320 ± 10*	260 ± 60*	0 ± 0
	1	1310 ± 140*	860 ± 120*	390 ± 10*	290 ± 20*	260 ± 10*	200 ± 10*	121 ± 6	0 ± 0
	2	1540 ± 170*	890 ± 90*	310 ± 60*	193 ± 13	88 ± 11	550 ± 10*	23 ± 4	0 ± 0
20	0,5	1500 ± 150*	1200 ± 120*	640 ± 90*	500 ± 150*	330 ± 70*	250 ± 60*	200 ± 20*	0 ± 0
	1	1250 ± 40*	920 ± 130*	520 ± 110*	370 ± 70*	220 ± 30*	200 ± 40*	170 ± 18	0 ± 0
	2	1090 ± 150*	820 ± 90*	340 ± 40*	260 ± 20*	104 ± 11	34 ± 4	26 ± 6	0 ± 0
25	0,5	1520 ± 140*	600 ± 180*	72 ± 8	43 ± 7	9 ± 4	5 ± 1	2 ± 1	0 ± 0
	1	1600 ± 140*	270 ± 90*	8 ± 4	3 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2	1590 ± 80*	141 ± 33	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

\*Resultados multiplicados pelo fator de diluição utilizado (1:10). [Gli] = concentração de glicerol e [Cli-Ag] = concentração de zeólita clinoptilolita-Ag na formulação do filme.

A análise dos resultados apresentados na Tabela 16, demonstra que, independente da concentração de glicerol no filme, a ação antimicrobiana dos filmes que contêm 2 % de clinoptilolita-Ag foi mais rápida do que a ação dos filmes com as demais concentrações de clinoptilolita-Ag. Entretanto, ao final do ensaio (24 horas), não foi registrada a contagem de



colônias bacterianas para nenhum dos filmes. Esse resultado indica que não restaram bactérias na suspensão bacteriana na qual o filme estava submerso. Desta forma, infere-se que qualquer uma das concentrações de clinoptilolita-Ag incorporadas aos filmes têm atividade bactericida satisfatória.

Além disso, observa-se que a ação antimicrobiana foi mais rápida conforme aumentou a concentração de glicerol no filme. Verifica-se que para os filmes com 25 % de glicerol, a partir de, aproximadamente, 2 horas de ensaio não se identificou atividade microbiana e para os filmes com 15 e 20 % de glicerol, a atividade bacteriana foi visível até aproximadamente 24 horas. Uma possível explicação é que os filmes com concentrações maiores de glicerol são mais solubilizáveis devido ao fato de serem mais hidrofílicos e higroscópicos, causando uma liberação mais rápida da prata.

## CONCLUSÕES

Neste trabalho foram desenvolvidos filmes ativos, utilizando gelatina e glicerol, e incorporando zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata aos filmes, visando a atividade antimicrobiana.

Para todas as formulações de gelatina e glicerol testadas houve a formação de filmes que puderam ser facilmente manuseados. Os filmes apresentaram características de maior extensibilidade e maleabilidade conforme aumentou a concentração de glicerol na sua composição. Além disso, não se observou influência da quantidade de plastificante na umidade e na capacidade de absorção de água dos filmes.

Os resultados de caracterização dos filmes de gelatina e glicerol permitiram concluir que as formulações mais adequadas para adição de zeólitas são aquelas que contêm 10 % de gelatina e 15 a 25 % de glicerol, visto que apresentaram os maiores fluxos de permeação de vapor de água (FPVA), característica desejável aos curativos. Além disso, os resultados de capacidade de absorção de água (CAA) e alongação ficaram na faixa esperada para esse tipo de aplicação e a tensão na ruptura foi maior do que os valores apresentados pelos curativos comerciais.

Com base nos resultados da zeólita comercial clinoptilolita e dos estudos de impregnação desta zeólita com íons prata, verificou-se que ela pode ser utilizada como plataforma para adsorção e posterior liberação dos íons  $\text{Ag}^+$  por troca iônica. Nesta etapa, concluiu-se que as condições mais satisfatórias para impregnação da zeólita com íons prata foram com a concentração de  $2000 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Ag}^+$ , temperatura de  $25^\circ\text{C}$  e tempo de 15 minutos.

O teste antimicrobiano preliminar mostrou que a zeólita clinoptilolita não impregnada com íons prata não exerce ação antimicrobiana, sendo esta exclusivamente devida à presença dos íons  $\text{Ag}^+$ . Percebeu-se, também, que concentrações relativamente baixas de clinoptilolita-Ag apresentaram ação antimicrobiana, desta forma concentrações de 0,5; 1 e 2 % de zeólitas adicionadas aos filmes foram avaliadas.

Para todas as formulações contendo zeólitas também ocorreu a formação de filmes que foram caracterizados em relação às propriedades relevantes para a aplicação desejada. Obtiveram-se resultados em conformidade com algumas das principais características desejáveis em curativos.

Os resultados obtidos nos ensaios antimicrobianos qualitativos permitiram concluir que a ação antimicrobiana é devida à presença dos íons  $\text{Ag}^+$ . Ainda, através dos ensaios

microbiológicos quantitativos, pôde-se concluir que todos os filmes que contêm clinoptilolita-Ag apresentaram atividade bactericida satisfatória, pois ao final das 24 horas de ensaio não foi identificado o crescimento de bactérias no ágar, comprovando a ação da prata sobre as bactérias.

A partir da avaliação de todos os resultados obtidos neste trabalho, pôde-se concluir que o filme com características mais apropriadas para uma possível aplicação como curativos é aquele formulado com 10 % (m/v) de gelatina, 25 % (v/v) de glicerol e 0,5 % (m/v) de zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata.

Finalmente, os experimentos realizados neste estudo demonstram que os filmes desenvolvidos têm potencial para serem aplicados como curativos para diversos tipos de feridas, atuando como antimicrobiano e auxiliando também na cicatrização do ferimento. Contudo, verificou-se a necessidade de estudos complementares visando o aprimoramento e adequação de algumas de suas propriedades.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos resultados obtidos até o momento, foram propostas as sugestões listadas a seguir:

- estudar a liberação dos íons prata da estrutura da zeólita e da zeólita contida na matriz polimérica;
- utilizar outros métodos de produção dos filmes que possam tornar a distribuição da zeólita mais homogênea;
- realizar ensaios de permeabilidade ao oxigênio;
- estudar outros agentes antimicrobianos;
- avaliar a ação antimicrobiana também contra uma bactéria gram-negativa;
- desenvolver uma metodologia para o ensaio microbiológico quantitativo de forma que o filme não seja submerso em uma solução bacteriana, mas sim que fique em contato com uma superfície contaminada, simulando o contato com a pele.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **Papel e cartão - Determinação da capacidade de absorção de água - Método de Cobb: 535**ABNT NBR NM ISO, , 1999.

AKGÜL, M. et al. Removal of silver (I) from aqueous solutions with clinoptilolite. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 94, n. 1–3, p. 99–104, 2006.

ALVES, P. M. A. et al. Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 7, p. 1751–1757, 2011.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1113–1121, 2009.

ARMBRUSTER, T. Clinoptilolite-heulandite: applications and basic research. **Studies in Surface Science and Catalysis**, v. 135, p. 13–27, 2001.

ARVANITTOYANNIS, I. S.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 4, p. 371–382, 1998.

ASTM. D 882: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. **Astm**, v. 14, p. 1–10, 2002.

ASTM. **Standard test methods for water vapour transmission of materials. Designation: E96-10**Annual book of American standards testing methods standard, 2010.

ATES, A. Role of modification of natural zeolite in removal of manganese from aqueous solutions. **Powder Technology**, v. 264, p. 86–95, 2014.

ATES, A.; AKGÜL, G. Modification of natural zeolite with NaOH for removal of manganese in drinking water. **Powder Technology**, v. 287, p. 285–291, 2016.

ATES, A.; HARDACRE, C. The effect of various treatment conditions on natural zeolites: Ion exchange, acidic, thermal and steam treatments. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 372, n. 1, p. 130–140, 2012.

ATIYEH, B. S. et al. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature. **Burns**, v. 33, n. 2, p. 139–148, 2007.

ATOYEBI, O. A.; SOWEMIMO, G. O.; ODUGBEMI, T. Bacterial flora of burn wounds in Lagos, Nigeria: a prospective study. **Burns**, v. 18, n. 6, p. 448–51, 1992.

AUERBACH, S. M.; CARRADO, K. A.; DUTTA, P. K. (EDS.). **Handbook of zeolite science and technology**. Nova York: Marcel Dekker, Inc., 2003.

AZEREDO, H. M. C. DE; FARIA, J. DE A. F.; AZEREDO, A. M. C. DE. Embalagens ativas

para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 337–341, dez. 2000.

BAILEY, A. J.; PAUL, R. G. Collagen: A Not So Simple Protein. **Society of Leather Technologists and Chemists**, v. 82, n. 3, p. 104–110, 1998.

BANKER, G. S. Film Coating Theory and Practice. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, n. 55, p. 81–89, 1967.

BARBOSA, G. P. et al. Design and characterization of chitosan/zeolite composite films - Effect of zeolite type and zeolite dose on the film properties. **Materials Science and Engineering C**, v. 60, p. 246–254, 2016.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. DE. Glicerol: Um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 306–319, 2011.

BENBETTAÏEB, N. et al. Release of coumarin incorporated into chitosan-gelatin irradiated films. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 266–276, 2016.

BENDAHOU, D. et al. New nanocomposite design from zeolite and poly(lactic acid). **Industrial Crops and Products**, v. 72, p. 107–118, 2015.

BIERHALZ, A. C. K.; KIECKBUSCH, T. G. Caracterização de Biofilmes de Alginato e Pectina Reticulados com Íons  $Ca^{+2}$ : Efeito da Concentração de Plastificante In Congresso Brasileiro de Polímeros, 10., 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...** São Carlos: Associação Brasileira de Polímeros, 2009.

BIGI, A. et al. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. **Biomaterials**, v. 22, n. 8, p. 763–768, 2001.

BOGDANOV, B. et al. Natural zeolites: clinoptilolite review In International Science Conference, 4, 2009, Stara Zagora. **Anais...** Stara Zagora: Natural & Mathematical Science, 2009.

BOSCHETTO, D. L. **Filmes de polietileno impregnados com zeólita contendo prata para aplicação em embalagens com propriedades antimicrobianas**. 2009. 74f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2009.

BOSCHETTO, D. L. et al. Preparation and antimicrobial activity of polyethylene composite films with silver exchanged zeolite-Y. **Chemical Engineering Journal**, v. 204–205, p. 210–216, 2012.

BRANDRUP, J.; IMMERGUT, E. H.; GRULKE, E. A. (EDS.). **Polymer Handbook**. 4. ed. Nova York: John Wiley & Sons, 1999.

BRECK, D. W. **Zeolite molecular sieves: structure, chemistry and use**. Nova York: R.E. Krieger, 1984.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6.2, p. 127–139, 2011.

BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. L. Active packaging for food application. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, p. 222, 2001.

BROWN, M. E. **Introduction to Thermal Analysis**. Londres: Chapman and Hall, 1988.

CALABRIA, G. **Laudo 16697**: Zeólita Clinoptilolita 0325. Cotia: Celta Brasil, 2016.

CAO, N.; YANG, X.; FU, Y. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 729–735, 2009.

CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. Staphylococcus aureus bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 70–76, 2005.

CHAIRMAN, D. S. C. et al. Recommended Nomenclature for Zeolite Minerals: Report of the Subcommittee on Zeolites of the International Mineralogical Association, Commission on New Minerals and Mineral Names. **The Canadian Mineralogist**, v. 35, p. 1571–1606, 1997.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 23, n. 97, p. 1273–1335, 1998.

CHOI, O. et al. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 3066–3074, 2008.

**Clinoptilolite**. Disponível em: <<http://www.iza-online.org/natural/Datasheets/Clinoptilolite/clinoptilolite.htm>>. Acesso em: 15 fev. 2017.

COPCIA, V. E. et al. Antibacterial activity of silver-modified natural clinoptilolite. **Journal of Materials Science**, v. 46, n. 22, p. 7121–7128, 2011.

CORRALES, M.; FERNÁNDEZ, A.; HAN, J. H. Antimicrobial Packaging Systems. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging**. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 2013. p. 624.

ÇORUH, S.; ŞENEL, G.; ERGUN, O. N. A comparison of the properties of natural clinoptilolites and their ion-exchange capacities for silver removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 180, n. 1–3, p. 486–492, 2010.

CUQ, B. et al. Selected Functional Properties of Fish Myofibrillar Protein-Based Films As Affected by Hydrophilic Plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 622–626, 1997.

DE MACEDO, J. L. S.; ROSA, S. C.; CASTRO, C. Sepsis in burned patients. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 6, p. 647–652, 2003.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1473–1482, 2009.

DOULA, M. K. Synthesis of a clinoptilolite-Fe system with high Cu sorption capacity. **Chemosphere**, v. 67, n. 4, p. 731–740, 2007.

DOYLE, B. B.; BLOUT, E. R.; BENDIT, E. G. Infrared spectroscopy of collagen and collagen like polypeptides. **Biopolymers**, v. 14, n. 5, p. 937–957, 1975.

EARNEST, C. M. (ED.). **Compositional Analysis by Thermogravimetry**. Filadélfia: ASTM, 1988.

ENOCH, S.; HARDING, K. Wound Bed Preparation: The Science Behind the Removal of Barriers to Healing. **Wounds**, v. 15, n. 7, p. 213–229, 2003.

ERBACHER, P. et al. Transfection and physical properties of various saccharide, poly(ethylene glycol), and antibody-derivatized polyethylenimines (PEI). **The journal of gene medicine**, v. 1, n. 3, p. 210–22, 1999.

EUROPEAN COMMISSION. **Commission Regulation (EC) No.450/2009** of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. Bruxelas, 2009.

EXTRAND, C. W.; KUMAGAI, Y. An experimental study of contact angle hysteresis. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 191, n. 2, p. 378–383, 1997.

FERNÁNDEZ, A. et al. Migration of antimicrobial silver from composites of polylactide with silver zeolites. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, 2010.

FERREIRA, L. et al. Antimicrobial activity of faujasite zeolites doped with silver. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 160, p. 126–132, 2012.

FERREIRA, V. F. Alguns aspectos sobre a secagem dos principais solventes orgânicos. **Química Nova**, v. 15, n. 4, p. 348–350, 1992.

FERRET, L. S. **Zeólitas de cinzas de carvão: síntese e uso**. 2004. 154f.. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica) - Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

FLANINGEN, E. M.; KHATAMI, H.; SZYMANSKI, H. A. Infrared structural studies of zeolites frameworks. **Advances in Chemistry**, v. 101, n. 28, p. 201–229, 1971.

GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 941–947, 2000.

GIRAUDIER, S. et al. Influence of weak and covalent bonds on formation and hydrolysis of gelatin networks. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 5, p. 1662–1666, 2004.

GRAY, D. E. (ED.). **American Institute of Physics Handbook**. Nova York: McGraw-Hill, 1963.

GUERRERO, P. et al. Functional properties of films based on soy protein isolate and gelatin processed by compression molding. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 1, p. 65–72, 2011.

HAN, J. H. (ED.). **Innovations in Food Packaging**. Plano: Elsevier Science & Technology



Books, 2005.

HANANI, Z. A. N. Gelatin. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (Eds.). . **Encyclopedia of Food and Health**. Waltham: Academic Press, 2016. p. 4006.

HESS, C. T. **Clinical Guide to Skin and Wound Care**. 7. ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

HOSSEINI, S. F. et al. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 172–182, 2015.

HOSSEINI, S. F. et al. Development of bioactive fish gelatin/chitosan nanoparticles composite films with antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1266–1274, 2016.

HOWARD, K. A. et al. Influence of hydrophilicity of cationic polymers on the biophysical properties of polyelectrolyte complexes formed by self-assembly with DNA. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1475, n. 3, p. 245–255, 2000.

IMMERGUT, E. H.; MARK, H. F. Principles of plasticization. In: **Plasticization and Plasticizer Processes**. Filadélfia: American Chemical Society, 1965.

JACKSON, M. et al. Beware of connective tissue proteins: Assignment and implications of collagen absorptions in infrared spectra of human tissues. **BBA - Molecular Basis of Disease**, v. 1270, n. 1, p. 1–6, 1995.

JOHNSON, R. M.; MWAIKAMBO, L. Y.; TUCKER, N. Rapra Review Reports. v. 14, n. 3, p. 3144, 2003.

KATHA, S. S. Alfred Nobel's unusual creativity: an analysis. **Medical Hypotheses**, v. 53, n. 4, p. 338–344, 1999.

KEENAN, T. R. Gelatin. In: DOMB, A. J.; KOST, JOSEPH; WISEMAN, DAVID (Eds.). . **Handbook of Biodegradable Polymers**. Amsterdã: Harwood Academic Publishers, 1998. p. 527.

KNOTHE, G. et al. (EDS.). **Manual do Biodiesel**. 1. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2006.

KOGEL, J. E. et al. (EDS.). **Industrial minerals e rocks: commodities, markets and uses**. 7. ed. Littleton: Society for Mining, Metallurgy and Exploration, Inc, 2006.

KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. (EDS.). **Edible coatings and films to improve food quality**. Boca Raton: CRC Press, 1994.

LAMKE, L. O.; NILSSON, G. E.; REITHNER, H. L. The evaporative water loss from burns and the water-vapour permeability of grafts and artificial membranes used in the treatment of burns. **Burns**, v. 3, n. 3, p. 159–165, 1977.

LANSDOWN, A. B. G. Silver in health care: Antimicrobial effects and safety in use. **Current Problems in Dermatology**, v. 33, p. 17–34, 2006.

LANSDOWN, A B. G. et al. Silver absorption and antibacterial efficacy of silver dressings. **Journal of wound care**, v. 14, p. 155–160, 2005.

LANSDOWN, A B. G.; WILLIAMS, A. How safe is silver in wound care? **Journal of wound care**, v. 13, n. 4, p. 131–136, 2004.

LEE, S. M. et al. Physical, morphological, and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing. **Biomaterials research**, v. 20, n. 1, p. 15, 2016.

LIDE, D. R. (ED.). **Handbook of Chemistry and Physics**. Boca Raton: CRC Press, 1998.

LIHAREVA, N. et al. Ag<sup>+</sup> sorption on natural and Na-exchanged clinoptilolite from Eastern Rhodopes, Bulgaria. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 130, n. 1–3, p. 32–37, 2010.

LIU, F. et al. Tailoring physical properties of transglutaminase-modified gelatin films by varying drying temperature. **Food Hydrocolloids**, v. 58, p. 20–28, 2016.

LIU, F. et al. Study of combined effects of glycerol and transglutaminase on properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 65, p. 1–9, 2017.

LIU, S. et al. Synthesis and characterization of the Fe-substituted ZSM-22 zeolite catalyst with high n-dodecane isomerization performance. **Journal of Catalysis**, v. 330, p. 485–496, 2015.

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. **Interpretação e análise de solo: conceitos e aplicações**. São Paulo: ANDA, 1987.

LU, G. et al. A novel in situ-formed hydrogel wound dressing by the photocross-linking of a chitosan derivative. **Wound Repair and Regeneration**, v. 18, p. 70–79, 2010.

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. C. Artigo revisão: uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 174–183, 2008.

LUZ, A. B. DA. **Zeólitas: Propriedades e Usos Industriais**. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, 1995.

MACEDO, J. L. S. DE; SANTOS, J. B. Bacterial and fungal colonization of burn wounds. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 5, p. 535–539, 2005.

MACHADO, A. **Microrganismos e hospedeiros: microbiota residente, transitória e doenças**. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2012/12/Microrganismos-e-hospedeiros.pdf>>. Acesso em: 30 mar. 2017.

MAGALHÃES, F. C. **Materiais componentes do concreto - especificações e ensaios**. Disponível em: <[http://academico.riogrande.ifrs.edu.br/~fabio.magalhaes/mat\\_construcao\\_arquivos/Apostilas/mcc.pdf](http://academico.riogrande.ifrs.edu.br/~fabio.magalhaes/mat_construcao_arquivos/Apostilas/mcc.pdf)>. Acesso em: 12 fev. 2017.

MAGDALENA, C. P. **Síntese de zeólita de cinzas de carvão modificada por surfactante e aplicação na remoção de ácido laranja 8 de solução aquosa**: estudo em leito móvel, coluna de leito fixo e avaliação ecotoxicológica. 2015. 202f.. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

MARIOD, A. A.; ADAM, H. F. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 12, n. 2, p. 135–147, 2013.

MARK, H. F. **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**. 3. ed. Nova York: John Wiley & Sons, 2013.

MARTUCCI, J. F.; ACCAREDDU, A. E. M.; RUSECKAITE, R. A. Preparation and characterization of plasticized gelatin films cross-linked with low concentrations of Glutaraldehyde. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 7, p. 3282–3292, 2012.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A.; VÁZQUEZ, A. Creep of glutaraldehyde-crosslinked gelatin films. **Materials Science and Engineering A**, v. 435–436, p. 681–686, 2006.

MATSUMURA, Y. et al. Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate 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.

MERCK. **Potato Dextrose Agar**. Merck Microbiology Manual. Darmstadt: Merck, 2006.

MERCK. **Plate Count Agar**. Merck Microbiology Manual. Darmstadt: Merck, 2015.

MI, F. L. et al. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. **Biomaterials**, v. 22, n. 2, p. 165–173, 2001.

MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. Síntese, caracterização e degradação “in vitro” do poli(L-ácido láctico). **Polímeros**, v. 16, n. 1, p. 26–32, 2006.

MOZGAWA, W.; KRÓL, M.; BARCZYK, K. FT-IR studies of zeolites from different structural groups. **Chemik**, v. 65, n. 7, p. 671–674, 2011.

MUMPTON, F. A. Using Zeolites in Agriculture In Innovative Biological Technologies for Lesser Developed Countries. **Anais...** Washington: 1985.

MUMPTON, F. A. La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 7, p. 3463–3470, 1999.

NINAN, N. et al. Synthesis and characterisation of gelatin/zeolite porous scaffold. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 9, p. 2433–2445, 2013.

NINAN, N. et al. Antibacterial and wound healing analysis of gelatin/zeolite scaffolds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 115, p. 244–252, 2014.

NORDBERG, G. F. et al. (EDS.). **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed. Cambridge: Academic Press, 2011.

NUNES, Y. L. **Preparação E caracterização de bioblendas poliméricas a partir de gelatina bovina e de tilápia com amido de milho**. 2014. 113f.. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

OFORI, R. A. **Preparation of gelatin from fish skin by an enzyme aided process**. 1999. 148f.. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Montreal, 1999.

OLIVEIRA, S. A. DE. **Estudo da adsorção de metais pesados em zeólitas para fins de uso em barreira reativa**. 2011. 251f.. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

PATEL, Z. S.; MIKOS, A. G. Angiogenesis with biomaterial-based drug- and cell-delivery systems. **Journal of Biomaterials Science**, v. 15, n. 6, p. 701–726, 2004.

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

PEHLIVAN, H. et al. Characterization of pure and silver exchanged natural zeolite filled polypropylene composite films. **Composites Science and Technology**, v. 65, n. 13, p. 2049–2058, 2005.

PEREIRA, A. P. V. **Análise e caracterização de tecidos porcino e bovino fixados com glutaraldeído para aplicação em biopróteses cardíacas**. 2009. 100f.. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

PETKOWICZ, D. I. **Zeólitas sintetizadas com fontes alternativas de silício e alumínio: Aplicação Em Fotocatálise**. 2009. 124f.. Dissertação (Mestrado em ciência dos Materiais) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

POLAT, E. et al. Use of natural zeolite (clinoptilolite) in agriculture. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Reserarch**, v. 12, n. December 2004, p. 183–189, 2004.

PROLAB. **Entenda o que é um swab estéril e qual sua utilidade em um laboratório de microbiologia**. Disponível em: <<http://www.prolab.com.br/blog/entenda-o-que-e-um-swab-esteril-e-qual-sua-utilidade-em-um-laboratorio-de-microbiologia/>>. Acesso em: 22 mar. 2017.

RADHESHKUMAR, C.; MÜNSTEDT, H. Antimicrobial polymers from polypropylene/silver composites-Ag<sup>+</sup> release measured by anode stripping voltammetry. **Reactive and Functional Polymers**, v. 66, n. 7, p. 780–788, 2006.

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

RESENDE, N. DAS RAÇAS DE A. DA M.; MONTE, M. B. DE M. Zólitais Naturais. In: LUZ, A. B. DA; LINS, F. A. F. (Eds.). **Rochas e Minerais Industriais - Usos e Especificações**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. p. 889–915.

RIBEIRO, K. D. F.; RODRIGUES, S. Uso de Zeólitas na Redução do Teor do Cátion Níquel de Efluentes Galvânicos. **Cerâmica Industrial**, v. 15, p. 2–6, 2010.

RIETH, M. **Animal Origin Declaration 104070**. Darmstadt: Merck, 2016.

RIVERA-GARZA, M. et al. Silver supported on natural Mexican zeolite as an antibacterial material. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 39, n. 3, p. 431–444, 2000.

ROBERTS, S.; CHAMBERS, S. Diagnosis and management of Staphylococcus aureus infections of the skin and soft tissue. **Internal Medicine Journal**, v. 35, n. SUPPL. 2, 2005.

ROMANO, I. et al. Controlled antiseptic/eosin release from chitosan-based hydrogel modified fibrous substrates. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 306–314, 2015.

ROONEY, M. L. (ED.). **Active Food Packaging**. North Ride: Springer Science & Business Media, 1995.

SAI, K. P.; BABU, M. Studies on Rana tigerina skin collagen. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry & Molecular Biology**, v. 128, n. 1, p. 81–90, 2001.

SALAMONE, J. C. (ED.). **Concise Polymeric Materials Encyclopedia**. Boca Raton: CRC Press, 1998.

SANTOS, A. F. **Produção de filmes ativos a base de amido e zeólita modificada com prata**. 2014, 44f.. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

SANTOS, D. O. et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, 2007.

SEARS, J. K.; DARBY, J. R. **The Technology of Plasticizers**. Nova York: Wiley, 1982.

SHOJAEE, M. et al. Fabrication and characterization of ovalbumin films for wound dressing applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 158–164, 2015.

SHUBHRA, Q. T. H. Gelatin film and fiber reinforced gelatin composites. In: BORAN, G. (Ed.). **Gelatin: production, applications and health implications**. Nova York: Nova Science Publishers, 2013. p. 87–110.

SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Phase transitions of pigskin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4–6, p. 377–382, 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, n. 1, p. 177–182, 2004.

SONG, W. et al. Microbiologic aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea. **Burns**, v. 27, n. 2, p. 136–139, 2001.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in food packaging**. San Diego: Oxford, 2005. p. 403–433.

STYLIANOU, M. A. et al. Use of natural clinoptilolite for the removal of lead, copper and zinc in fixed bed column. **Journal of Hazardous Materials**, v. 143, n. 1–2, p. 575–581, 2007.

SWENSON, P. et al. Pervaporative desalination of water using natural zeolite membranes. **Desalination**, v. 285, p. 68–72, 2012.

SZOSTAK, R. **Handbook of Molecular Sieves**. Nova York: Chapman and Hall, 1992.

SZOSTAK, R. **Molecular Sieves: Principles of synthesis and identification**. 2. ed. Nova York: Blackie Academic & Professional, 1998.

TEIXEIRA, E. DE M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. 2007. 201f.. Tese (Doutorado em Ciência - Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 3, p. 478–487, 2005.

TORRES, F. J. C. **Seletividade da clinoptilolita natural por metais tóxicos em sistemas aquosos**. 2004. 152f.. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

TRINH, Q.-H.; KIM, S. H.; MOK, Y. S. Removal of dilute nitrous oxide from gas streams using a cyclic zeolite adsorption–plasma decomposition process. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p. 12–22, 2016.

TURI, E. A. (ED.). **Thermal Characterization of Polymeric Materials**. 2. ed. Nova York: Academic Press, 1997.

VANIN, F. M. et al. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 5, p. 899–907, 2005.

VASCONCELOS, Y. **Resíduos bem-vindos**. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2012/06/14/residuos-bem-vindos/>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

VELÁZQUEZ-MEZA, M. E. Surgimiento y disseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. **Salud Publica de Mexico**, v. 47, n. 5, p. 381–387, 2005.

WANG, W.; TETLEY, L.; UCHEGBU, I. F. The Level of Hydrophobic Substitution and the Molecular Weight of Amphiphilic Poly-L-lysine-Based Polymers Strongly Affects Their Assembly into Polymeric Bilayer Vesicles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.

237, n. 2, p. 200–207, 2001.

WAY, D. V. **Estudo da reação de produção de partículas de gelatina para aplicação na liberação controlada de doxiciclina**. 2013. 107f.. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

WU, Y. B. et al. Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 4, p. 435–440, 2004.

YANG, C.; XU, Q. States of aluminum in zeolite  $\beta$  and influence of acidic or basic medium. **Zeolites**, v. 19, n. 5–6, p. 404–410, 1997.

YASSUE-CORDEIRO, P. H. et al. Estudo da análise textural e propriedade de barreira de filmes poliméricos de quitosana com zeólita Y trocada com prata In X Encontro Brasileiro sobre Adsorção. **Anais...** Guarujá: 2014.

YASSUE-CORDEIRO, P. H. et al. Desenvolvimento e caracterização de filmes compostos de quitosana e zeólitas com prata. **Polímeros**, v. 25, n. 5, p. 492–502, 2015.

ZANIN, E. **Adsorção de metais residuais do efluente da indústria gráfica em clinoptilolita**. 2013. 101f.. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, 2013.

## APÊNDICE A – CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA

Neste apêndice estão apresentados os gráficos da capacidade de absorção de água em função do tempo para os filmes compostos por 5 e 7 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol (Figura A1) e para os filmes que contêm 10 % de gelatina, 15 e 20 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag (Figura A2).

Figura A1 – Capacidade de absorção de água para os filmes com (a) 5 e (b) 7 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol.

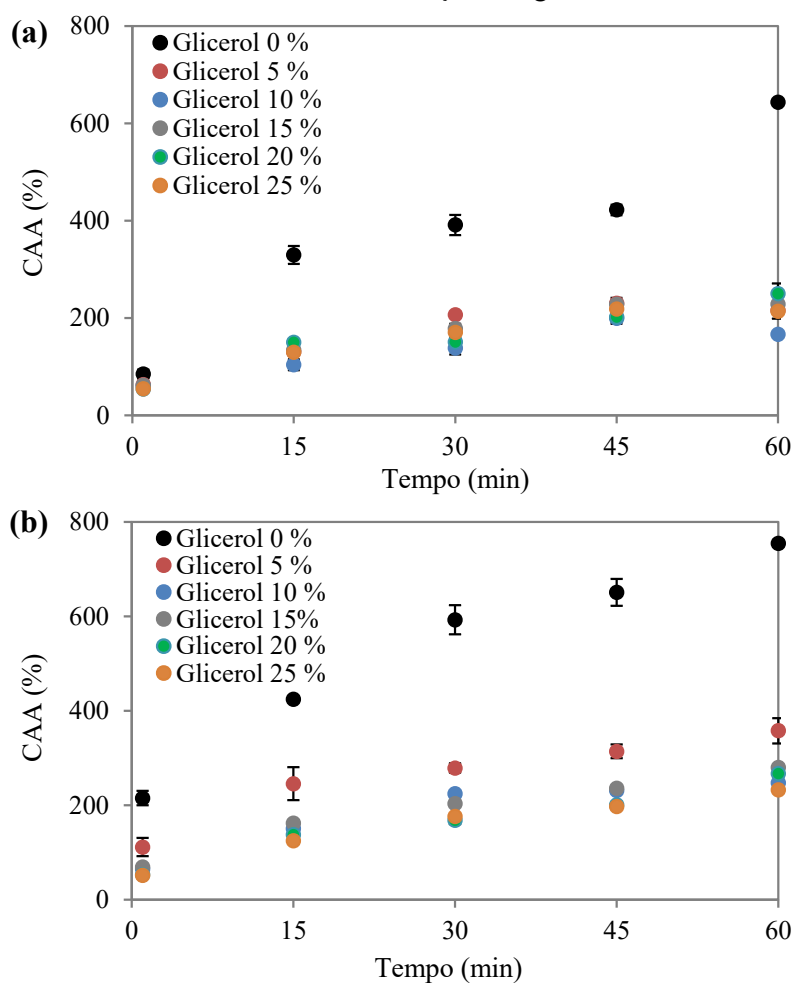
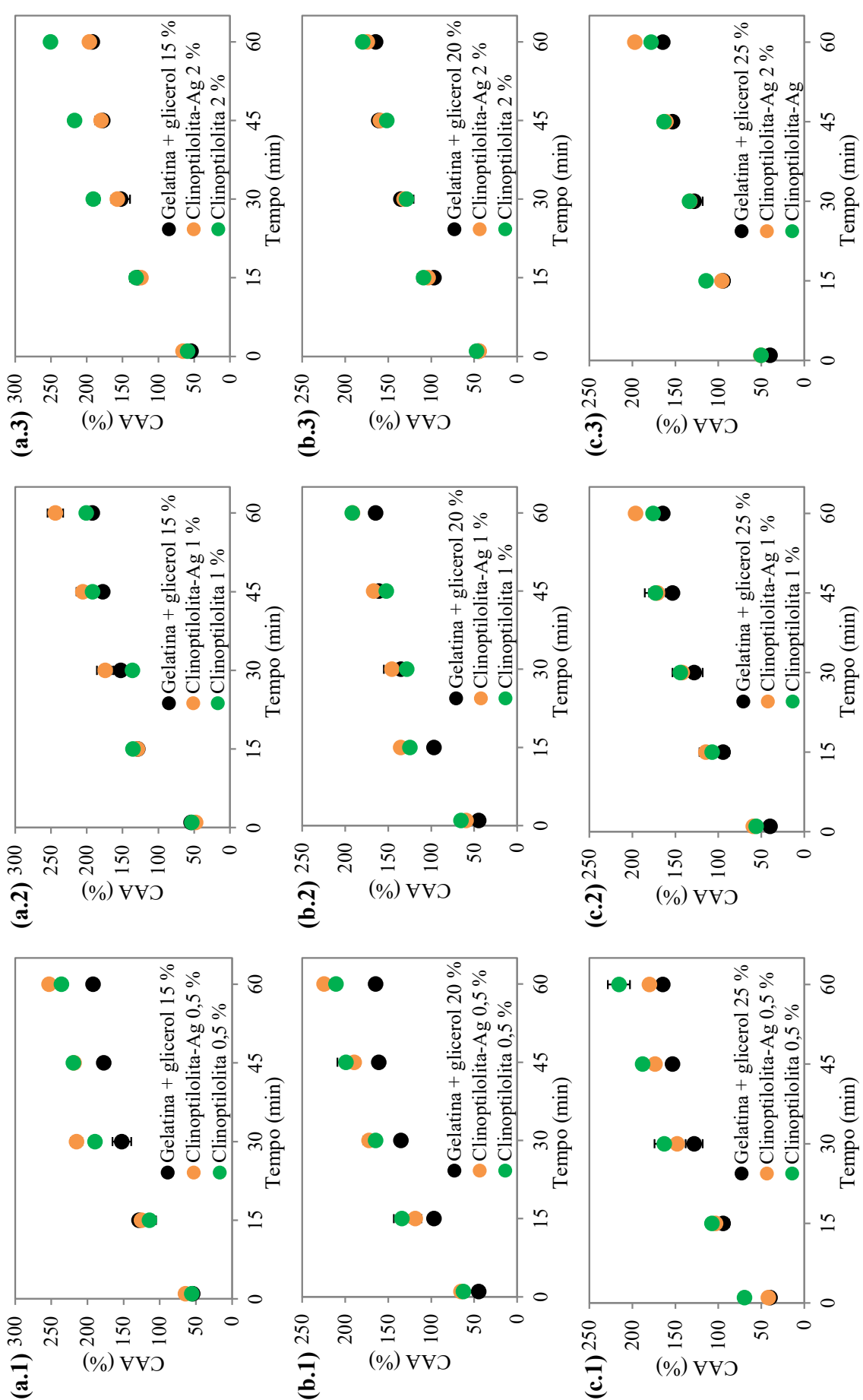




Figura A2 – Capacidade de absorção de água para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólita.



## APÊNDICE B – ÂNGULO DE CONTATO

Neste apêndice estão apresentados os gráficos do ângulo de contato em função do tempo para os filmes compostos por 5 e 7 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol (Figura B1) e para os filmes que contêm 10 % de gelatina, 15 e 20 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag (Figura B2).

Figura B1 – Ângulo de contato em função do tempo para os filmes com (a) 5 e (b) 7 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol.

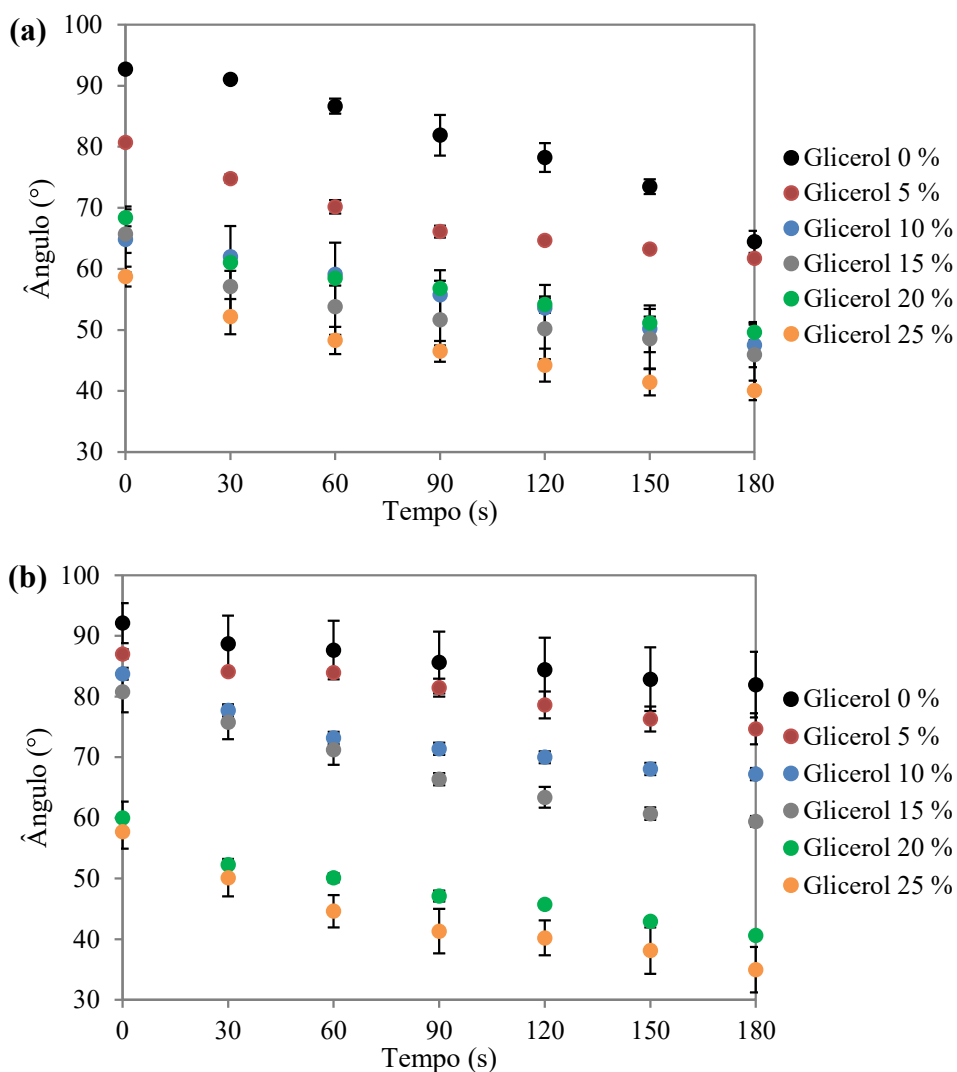
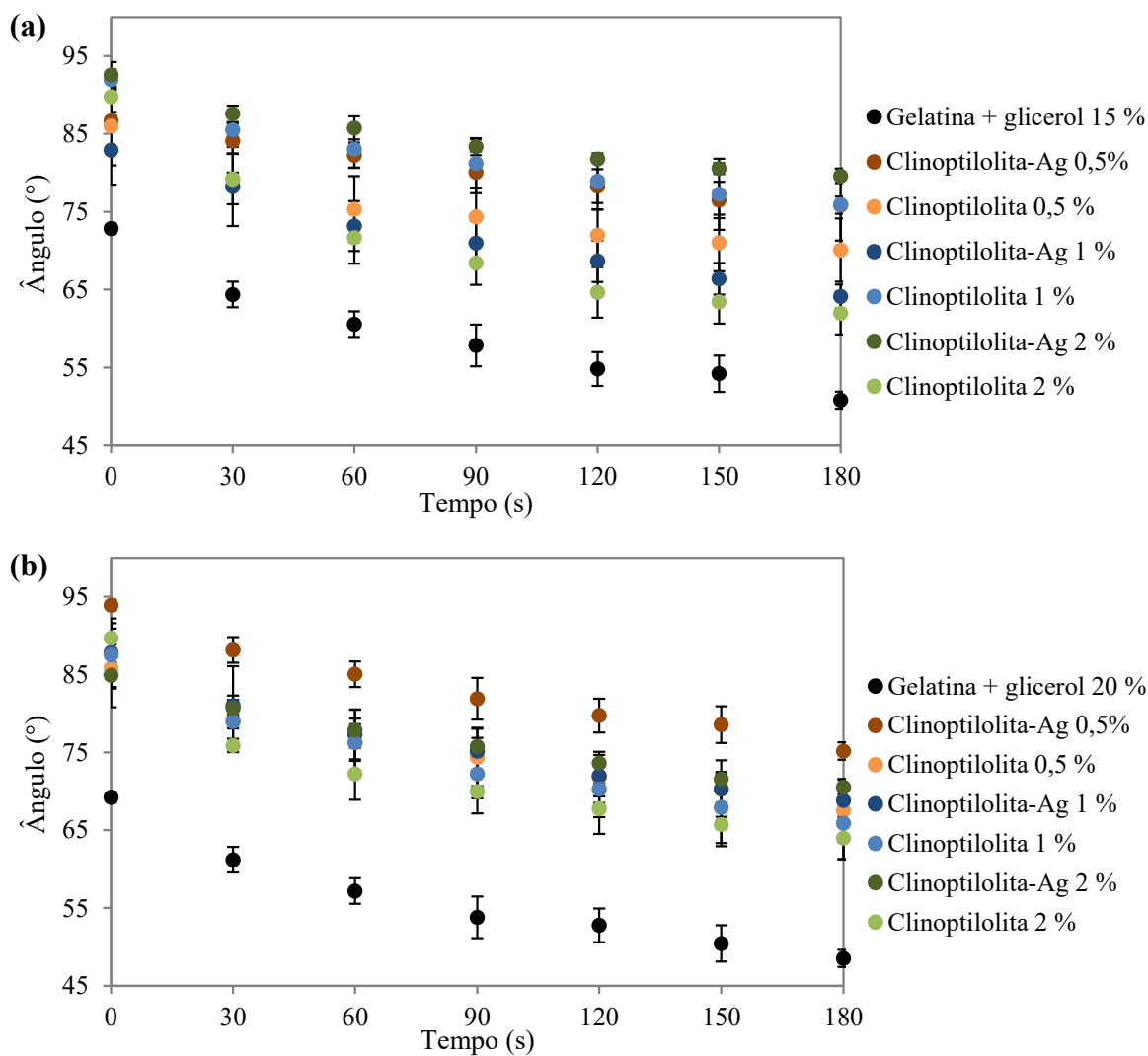


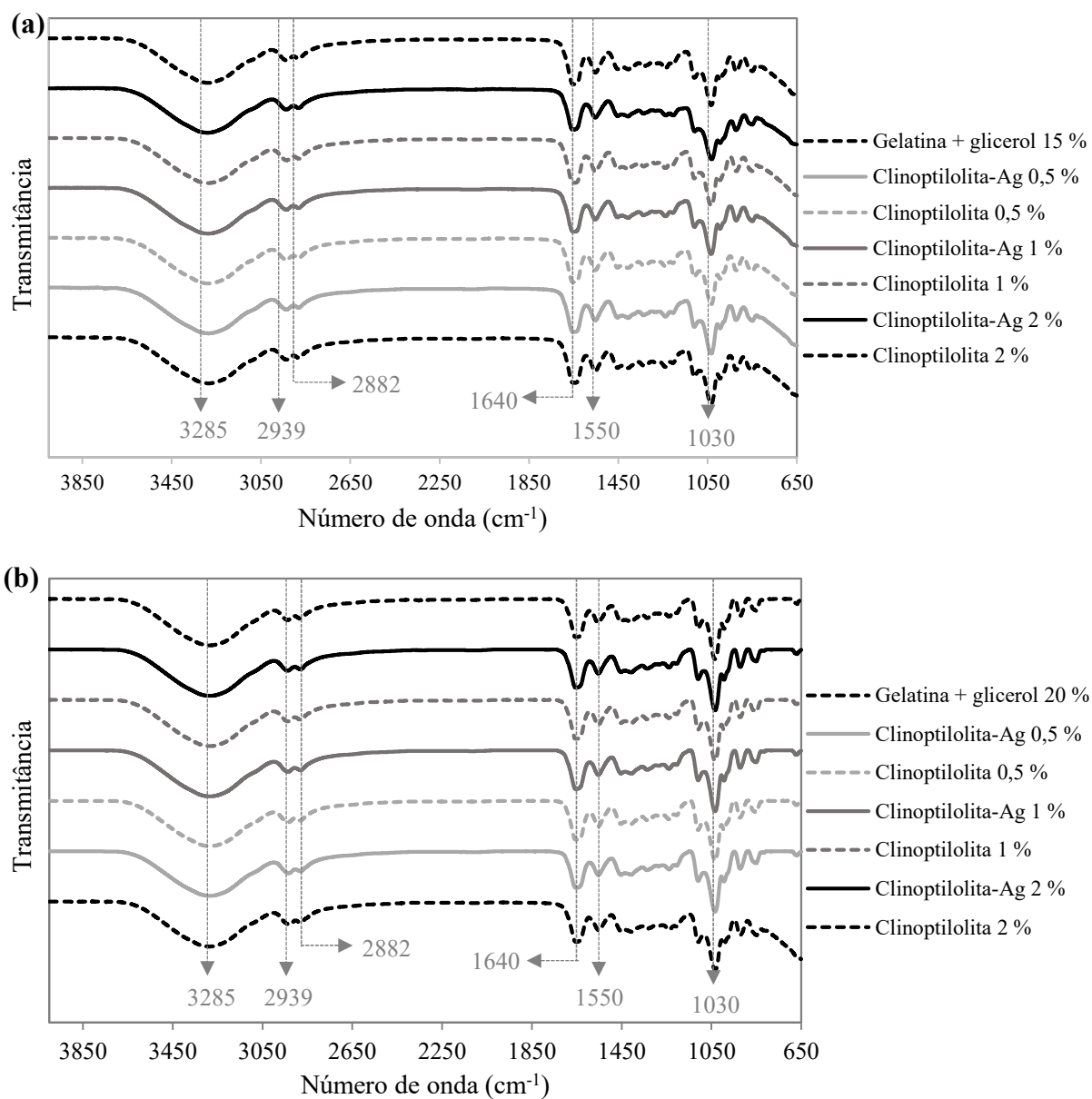
Figura B2 – Ângulo de contato em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15 e (b) 20 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.



## APÊNDICE C – ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE *FOURIER*

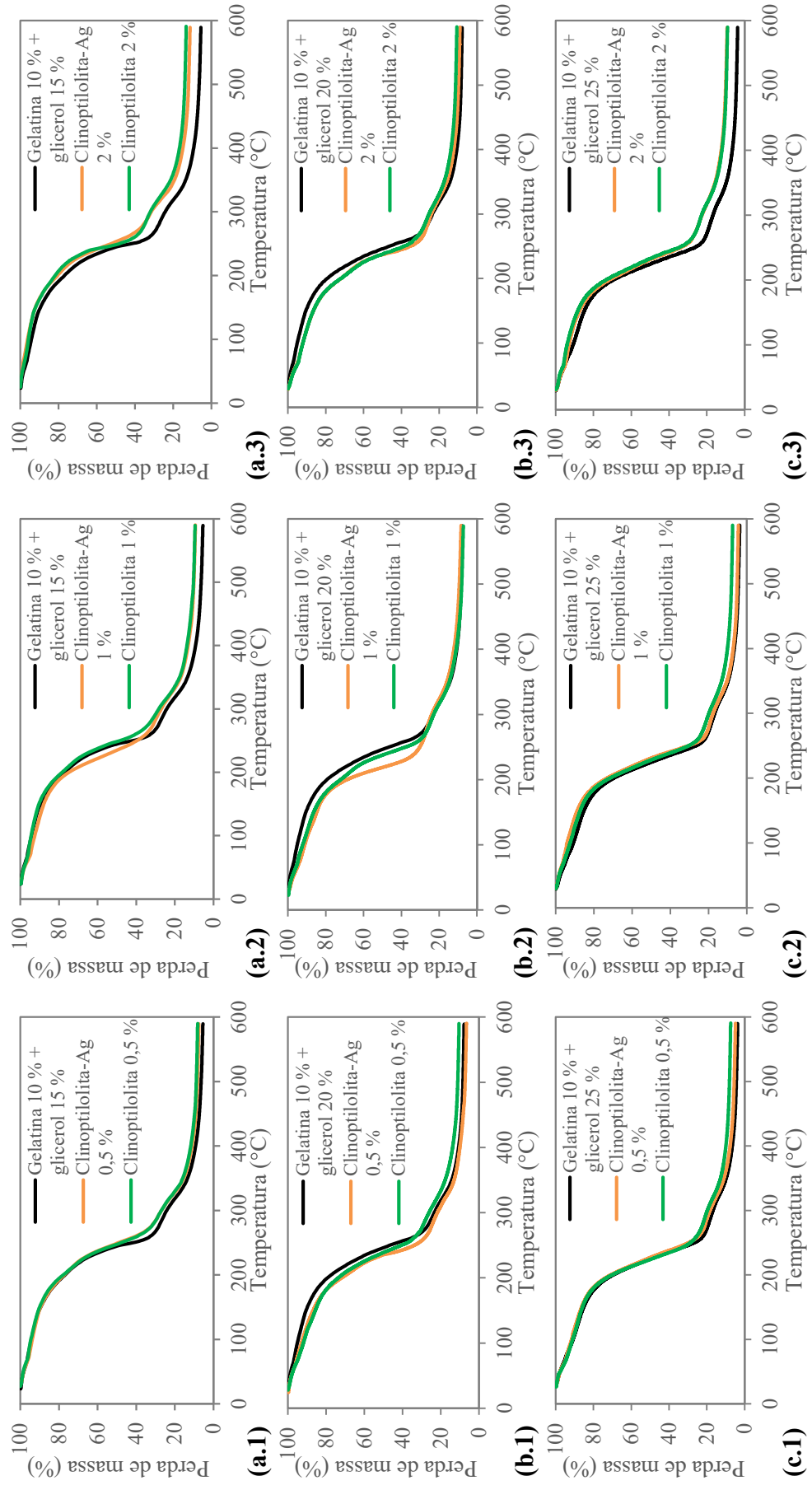
Neste apêndice estão apresentados os espectros de FTIR dos filmes que contêm 10 % de gelatina, 15 e 20 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag (Figura C1).

Figura C1 – Espectros de infravermelho por transformada de *Fourier* para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15 e (b) 20 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.



APÊNDICE D – ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Neste apêndice estão apresentados os termogramas dos filmes com 10 % de gelatina e diferentes concentrações de glicerol e zeólitas (Figura D1).  
 Figura D1 – Termogramas para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólita.



## APÊNDICE E – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

Neste apêndice estão apresentadas as curvas obtidas para a primeira corrida (Figura E1) e para a segunda corrida (Figura E2) das análises de DSC dos filmes que contêm 10 % de gelatina, 15, 20 e 25 % de glicerol e 0,5; 1 e 2 % de zeólita clinoptilolita ou clinoptilolita-Ag.

Figura E1 – Curvas da primeira corrida da análise de DSC para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.

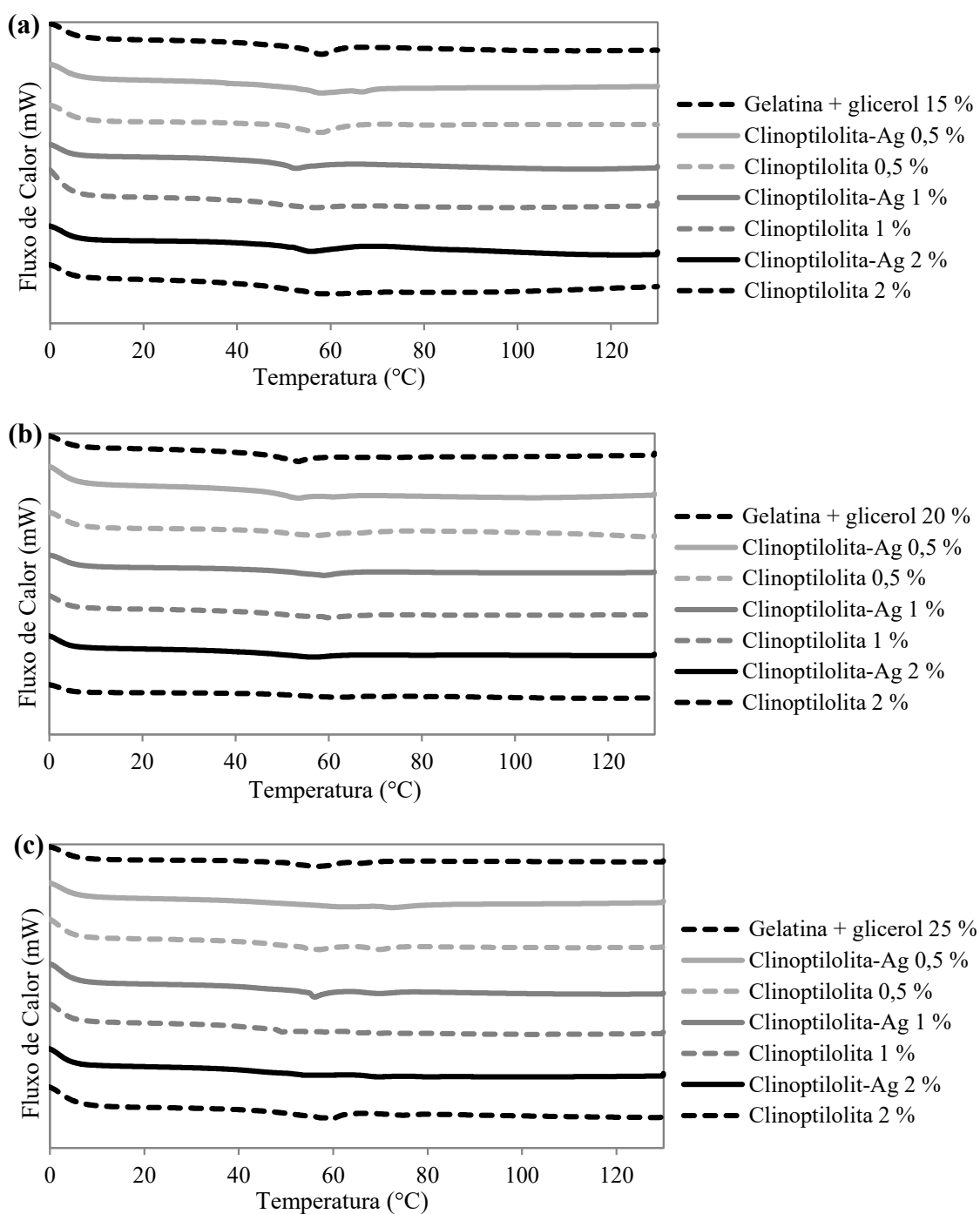
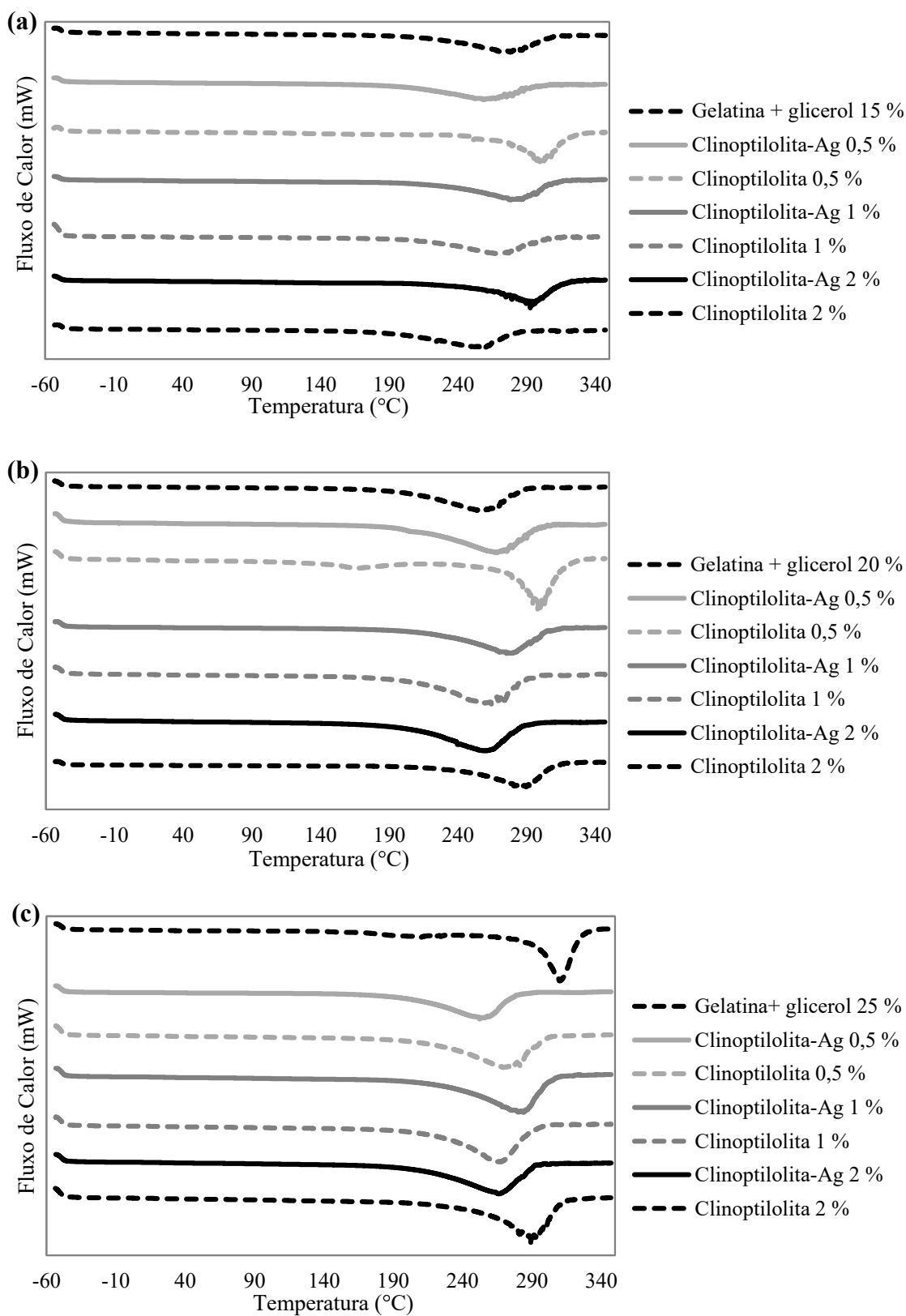


Figura E2 – Curvas da segunda corrida da análise de DSC para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15, (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de zeólitas.



## APÊNDICE F – ENSAIO ANTIMICROBIANO QUANTITATIVO

Neste apêndice estão apresentados os gráficos obtidos para o ensaio antimicrobiano quantitativo (Figura F1) que avaliou o crescimento de unidades formadoras de colônia em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, 15, 20 e 25 % de glicerol e que contêm diferentes concentrações de clinoptilolita-Ag.

Figura F1 – Unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de suspensão bacteriana em função do tempo para os filmes com 10 % de gelatina, (a) 15 e (b) 20 e (c) 25 % de glicerol e diferentes concentrações de clinoptilolita-Ag.

