PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DE QUITOSANA COM PRATA E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

ELINE TOURINHO RASMA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES / RJ

MARÇO - 2013

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DE QUITOSANA COM PRATA E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

ELINE TOURINHO RASMA

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Edmilson José Maria

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES / RJ

MARÇO - 2013

ELINE TOURINHO RASMA

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DE QUITOSANA COM PRATA E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Trabalho apresentado à disciplina Licenciatura em Química da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,

Aprovada em: __/ __/ _____

_____

Prof. Dr. José Glauco Ribeiro Tostes - UENF

_____

Msc. Paula dos Santos Gonçalves - UENF

_____

Prof. Dr. Edmilson José Maria (Orientador) – UENF

Campos dos Goytacazes, 25 de março de 2013

Dedico essa vitória a meus pais, pelo amor e pela força que me foram dados com tanto zelo e atenção durante todos esses anos. Sem estas nobres pessoas, nada disso faria sentido. Eles são a razão de todo o meu esforço.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela vida, por ter me permitido nascer numa família maravilhosa e por todas as oportunidades que obtive até os dias de hoje.

Agradeço às minhas inspirações de vida: Eloete e João Jorge. Muito obrigada por me ensinarem valores que um ser humano pode ter de melhor: moral, caráter e integridade. Sempre me apoiando, incentivando e mostrando a importância do conhecimento e de todo o esforço. Obrigada por serem meus pais. Eu me orgulho muito disso.

Juntamente a eles, deixo todo o meu agradecimento à minha querida e amada irmã Elissa, que com o seu amor e inteligência soube transparecer todo o seu carinho, amizade e incentivo.

Aos meus avós Astrogildo Tourinho, Dulce Rasma e a todos os meus familiares que sempre me apoiaram, incentivaram e me ajudaram de todas as maneiras possíveis para a realização desse sonho.

Ao meu noivo, Tadeu, e sua querida família, pelo amor, carinho, dedicação, pela enorme paciência, preciosa amizade, compreensão nos momentos de estresse e companheirismo em toda trajetória desta etapa da minha vida.

A todas as pessoas do laboratório que participaram e ajudaram a realizar este trabalho. Em especial, agradeço à Bárbara e Karoline pela ajuda com experimentos, pelas conversas e conselhos;

Às colegas de turma, pela convivência agradável.

A todos os amigos que fiz aqui em Campos dos Goytacazes, pelo ótimo ambiente de descontração e alegria que sempre proporcionaram;

Em especial, ao meu orientador, Professor Dr. Edmilson José Maria, pela oportunidade deste trabalho e, principalmente, pela orientação, por todo conhecimento transmitido e por confiar no meu potencial.

"No meio da confusão, encontre a simplicidade.
A partir da discórdia, encontre a harmonia.
No meio da dificuldade reside a oportunidade."
Albert Einstein

RESUMO

Neste trabalho foi realizado um estudo experimental na instituição de ensino superior de Campos dos Goytacazes, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, que ministra o curso de licenciatura em química, sobre a ação antibacteriana de uma membrana de quitosana complexada com o íon metálico, a prata. O trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de biofilmes à base de quitosana de camarão contendo prata para aplicação em atividades antibacterianas. A quitosana é um polissacarídeo natural, de grande importância econômica e ambiental. É derivada do processo de desacetilação da quitina, sendo esta encontrada em carapaças de crustáceos e insetos, e na parede celular de fungos. Logo, as membranas de quitosana tem se tornado material atraente para diversas utilizações, por terem um alto caráter bactericida e serem biodegradáveis. Possuem grande poder de adsorção de umidade e biocompatibilidade com o organismo humano, demonstrando um potencial para utilização como curativos bioativos, onde a membrana é absorvida pelo organismo durante o processo de cicatrização. O seu potencial bactericida pode ser ainda potencializado pela incorporação de prata, através da ação oligodinâmica dessa substância metálica em baixas concentrações.

Palavras - chave: Membranas de quitosana. Complexo íon prata e quitosana. Atividades antibacterianas.

ABSTRACT

In this work an experimental study in a higher education institution Campos dos Goytacazes, the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro who teaches the undergraduate course in chemistry, on the antibacterial action of a chitosan membrane ion complexed with metallic silver. The work aimed at the development of biofilm-based shrimp chitosan containing silver for use in antibacterial activities. Chitosan is a natural polysaccharide, a major economic and environmental. It is derived from the process of deacetylation of chitin, which is found in the shells of crustaceans and insects and the cell walls of fungi. Therefore, the chitosan membranes have become attractive materials for various uses, for having a high bactericidal character and being biodegradable. Have great adsorption power for moisture and biocompatibility with the human body, demonstrating the potential for use as bioactive dressings, where the membrane is absorbed by the body during the healing process. The potential bactericidal can be further enhanced by the incorporation of silver through the oligodynamic action of this substance at low metal concentrations.

Keyword: Chitosan Membranes. Silver ion complex and Chitosan. Antibacterial activities.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fórmula estrutural da quitina..... 23
Figura 2 Fórmula Estrutural da Quitosana..... 25
Figura 3 Foto de úlcera congênita 29
Figura 4 Membrana de quitosana sem o íon metálico..... 35
Figura 5 Membranas de quitosana complexadas com diversas concentrações de prata 36
Figura 6 Adsorção do íon metálico no polímero 37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Quantidade média de quitina em alguns organismos 22

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 Obtenção da Quitina..... 24
Esquema 2 Obtenção da membrana de quitosana sem metal 33
Esquema 3 Obtenção da membrana de quitosana com metal 34

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- **G.D.** Grau de desacetilação
- **NaOH** Hidróxido de sódio
- **HCl** Ácido Clorídrico
- **NaClO** Hipoclorito de Sódio
- **α** Alfa
- **β** Beta
- **γ** Gama
- **NH_3^+** Íon amônia
- **[s.d.]** Sem data
- **g** Grama

LISTA DE SIGLAS

- **DNA** *Deoxyribonucleic acid*
- **FDA** *Food and Drug Administration*
- **USP** Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

RESUMO ..... **vii**
ABSTRACT ..... **viii**
LISTA DE FIGURAS ..... **ix**
LISTA DE TABELAS ..... **x**
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS ..... **xi**
LISTA DE SIGLAS ..... **xii**

1. INTRODUÇÃO **15**
1.1 Pele 18
1.1.1Estrutura da Pele 18
1.1.2 Lesões na Pele 18
1.1.3 Queimaduras 19
1.2 Biopolímeros 20
1.2.1 Quitina 20
1.2.2 Quitosana 23
1.2.3 Propriedades Biológicas da Quitosana e Quitina 25
1.2.3.1 Atividade Antimicrobiana 25
1.2.3.2 Efeito Coagulante 25
1.2.3.3 Efeito Analgésico 26
1.2.3.4 Efeito Hipocolestrolêmico e Hipolipidêmico 26
1.2.3.5 Redução de Peso 26
1.2.3.6 Aceleração da Cicatrização 27
1.3 Ação Oligodinâmica da Prata 28

2. OBJETIVOS **30**
2.1. Objetivo geral 30
2.2Objetivos específicos 30

3. MATERIAIS E MÉTODOS **31**
3.1Reagentes, materiais e equipamentos utilizados 31

3.1.1 Reagentes 31
3.1.2 Materiais 31
3.1.3 Equipamentos 31
3.2 Método 31
3.2.1 Obtenção das Membranas de Quitosana sem Metais 32
3.2.2 Obtenção das Membranas de Quitosana com Metais 32
3.2.2.1 Preparação da solução de nitrato de prata..... 32
3.2.2.2 Preparação das Membranas de Quitosana com a prata 32

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 34
4.1 Membranas de Quitosana 34
4.2 Teste Antibacteriano 36

5. CONCULSÃO 38

6. REFERÊNCIAS 39

1. INTRODUÇÃO

Durante séculos, o tratamento de feridas obteve diversas oscilações com o intuito de melhores resultados cicatriciais em um menor intervalo de tempo. Na pré-história já utilizava-se vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e lama, que eram aplicados sobre as feridas.

Na Mesopotâmia, elas eram lavadas com água ou leite, e o curativo era realizado com mel ou resina. Lã de carneiro, folhas e cascas de árvore eram utilizadas para sua cobertura. Os egípcios concluíram que uma ferida fechada cicatrizava mais rápido do que aberta, por isso, utilizavam tiras de pano para manter unidas as margens da lesão.

Hipócrates sugeria que as feridas contusas fossem tratadas com calor e pomadas para promover a supuração, remover material necrótico e reduzir a inflamação. No início da era cristã, Celsus preconizava o fechamento primário das feridas recentes e desbridamento das contaminadas para posteriormente poderem ser fechadas. Além disso, classificou os diferentes tipos de lesões de pele e deu detalhes do tratamento de cada uma delas.

A introdução das armas de fogo nas guerras europeias, no século XIV, levou ao surgimento de um novo tipo de ferida de cura mais difícil, e Ambroise Paré, na Renascença reformulou o tratamento. Logo, o avanço da química levou a descoberta de compostos de cloro e iodo que foram utilizados para limpeza do material e da pele, nos séculos XVIII e XIX.

Atualmente se pretende interferir na biologia molecular, abordando a síntese de substâncias envolvidas nos fenômenos cicatriciais. (BLANES, 2004)

Fibras de variados tipos têm sido amplamente utilizadas em curativos devido a suas propriedades, como área superficial elevada, maciez, alta capacidade de absorção de fluidos e facilidade de fabricação de produtos com diferentes características. Fibras feitas a partir fontes naturais, principalmente polissacarídeos, são consideradas promissoras devido à sua excelente biocompatibilidade, não toxicidade e potencial de bioatividade (KNILL *et al.*, 2004). Dentre os polissacarídeos comumente empregados para este fim, destaca-se a quitosana.

O uso de diversos agentes bioativos tem sido fundamental na prevenção e terapia de infecções. Além disso, uma das estratégias que tem ganhado atenção é o uso de metais nobres. (ATIYEH et al, 2007)

A modificação da superfície de polissacarídeos via ligação química com grupos organo funcionais tem sido extensivamente utilizada por muitos pesquisadores, em diferentes campos de trabalho. A introdução de certos grupos funcionais na matriz polimérica da quitosana propicia uma maior interação com um grande número de íons metálicos, através dos grupos amino livres, devido à desacetilação da quitina. (KLUG et al, 1998).

Nos últimos anos, a prata voltou a ter um enorme valor para a comunidade científica desempenhando um novo papel no desenvolvimento de sínteses de novos antibacterianos em função do aumento no número de bactérias resistentes aos antibióticos. (ARAÚJO, 2010)

As sínteses desses materiais tornaram-se importante, pois possuem uma alta relação superfície/volume, propriedades e comportamentos físicos e químicos diferentes. Isto possibilita aplicações em diversos segmentos como a medicina, biotecnologia, óptica, indústria alimentícia, catálises, eletrônicos, fármacos, dentre outros. (GÚSMAN; DILLE; GODET, 2009)

Conhecidas desde a antiguidade por gregos e romanos, as características antibacterianas de complexos de metais de transição, hoje, são potencializadas pela nanotecnologia. Esta é especializada em manipular matérias em tamanhos atômicos e moleculares (REIS, 2011), ou seja, em escala nanométrica, que variam de 1 a 100 nm.

As partículas de prata têm mostrado efeitos inibitórios e bactericidas, potencializadas quando agrupadas a polissacarídeos. (COSTA, 2009; & CARREIRA et al, 2009)

Os polissacarídeos, uma classe de macromoléculas naturais, têm capacidade extremamente bioativa, e são geralmente derivados de produtos agrícolas ou de crustáceos. Celulose e goma são exemplos de biopolímeros antigos, enquanto que a quitina e a quitosana são exemplos de biopolímeros obtidos recentemente. A utilização de polímeros naturais para aplicações diversificadas têm sido de vital importância para os avanços das ciências e

apresentam várias vantagens como ser de fácil obtenção, ser biocompatível e biodegradável. (AZEVEDO et al, 2007)

Biopolímeros isolados de organismos marinhos são uma nova classe de adsorventes de baixo custo, benignos ao meio ambiente e exibem uma alta especificidade em relação aos íons metálicos, principalmente os metais de transição. (VALENTINI et al, 2000)

Como exemplo, a quitosana, um biopolímero (polissacarídeo) derivado da quitina, com alto poder de adsorção, encontrada em grande quantidade na natureza, principalmente, em carapaças de crustáceos. (CANELLA; GARCIA, 2001). É um polímero biodegradável, muito versátil em suas aplicabilidade, permitindo a conformação em formas variadas, como fibras, glóbulos, membranas, filmes, etc. (CARDOSO et al, 2012).

Uma das utilizações da quitosana é na confecção de membranas para uso em queimaduras. (CUNHA et al, 2008). A incorporação de prata, que possui uma excelente ação bactericida, em membranas de quitosana, possibilita o desenvolvimento de um compósito, unindo suas propriedades, como a cicatrização realizada pelo polissacarídeo e a ação bactericida apresentada pelas partículas de prata, ideais para as aplicações em queimaduras, escaras até mesmo em diabéticos.

Após uma queimadura grave, a superfície ferida torna-se vulnerável a bactérias, devido à perda da camada de barreira protetora da pele. A presença de altos níveis de bactérias na ferida pode diminuir a disponibilidade de fatores de crescimento, o que pode retardar a cura. (PONTES; THIRÉ, 2011). A utilização dos biofilmes poliméricos em presença de partículas de prata evita o ataque de um vasto espectro de micro-organismos, reduzindo as infecções. A dispersão das partículas de prata contidas nos biopolímeros é conduzida de forma controlada, preservando a ação antibacteriana da ferida por longos períodos.

1.1 Pele

1.1.1 Estrutura da Pele

A pele equivale a 15% do peso corporal do ser humano e é um órgão externo que reveste e delimita o organismo. Sua função principal é a manutenção do equilíbrio do organismo com o meio exterior, além de protegê-lo contra as agressões do meio externo, absorvendo parcialmente os raios ultravioletas (UV) e promovendo proteção imunológica e química. Através das glândulas presentes na pele são secretados eletrólitos e água, que atuam na manutenção do equilíbrio hidrolítico. A pele, ainda sintetiza e metaboliza hormônios como a testosterona, progesterona, estrógenos e glicocorticoides, atuando também no controle da temperatura corpórea, em processos que envolvem vasoconstrição e vasodilatação. (GIRATA, 2011)

A pele é composta de duas camadas: a epiderme e a derme. A epiderme é a camada mais externa e organizada em camadas. As várias camadas intimamente unidas umas aos outras, fornecem barreira contra a invasão de micro-organismos e água. O pigmento melanina, na epiderme, protege os tecidos subjacentes dos efeitos nocivos da luz ultravioleta. (BLANES, 2004)

Já a derme é a camada mais profunda e é formada por tecido conjuntivo, que se estende da epiderme até o tecido subcutâneo. Nesta camada situam-se os anexos da pele, muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos, formando uma base firme para a epiderme e os anexos cutâneos. (BLANES, 2004)

1.1.2 Lesões na Pele

Uma lesão é caracterizada como a interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou em menor extensão, gerada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, que aciona as frentes de defesa orgânica contra o ataque. (BLANES, 2004)

Sua classificação constitui uma importante forma de sistematização, sendo necessária para o processo de avaliação e tratamento. Assim, as feridas podem ser classificadas, de acordo com o tempo de reparação do tecido, em agudas e crônicas. (SANTOS, 2000)

As cirurgias ou traumas são, normalmente, as causas de lesões, que podem ser classificadas como feridas agudas com a reparação em tempo adequado, sem complicações, ou as feridas crônicas, que não são reparadas no tempo esperado, pois normalmente apresentam complicações.

O sistema de extensão do dano tissular é classificado da seguinte forma: por feridas superficiais, restritas à epiderme, feridas com perdas parciais (limitadas à epiderme e à porção superior da derme), e feridas por perda total com destruição da epiderme, derme e tecido subcutâneo, podendo invadir músculos, tendões e ossos.

Dentre os tipos de lesões de pele de maior ocorrência destacam-se as queimaduras. (GIRATA, 2011)

1.1.3 Queimaduras

As queimaduras são feridas traumáticas causadas, na maioria das vezes, por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos. Atuam nos tecidos de revestimento do corpo humano, determinando destruição parcial ou total da pele e seus anexos, podendo atingir profundas camadas.

Sua manifestação varia desde uma pequena bolha até formas mais graves capazes de desencadear respostas sistêmicas proporcionais à gravidade e extensão da lesão. Pode ser classificada de acordo com o agente causal, a profundidade ou a extensão. (GIRATA, 2011)

Quando, o grau da queimadura é descrito com base na sua profundidade, as lesões são classificada como de primeiro grau, quando é comprometida apenas a epiderme, apresentando eritema e dor; de segundo grau, quando atinge a epiderme e parte da derme, provocando a formação de flictenas; e de terceiro grau, quando envolve todas as estruturas da pele, apresentando-se esbranquiçada ou negra, pouco dolorosa e seca. Para a escolha do tratamento,

deve-se considerar não só a profundidade da lesão, mas também a sua fase evolutiva. (FERREIRA, 2003)

As queimaduras de primeiro grau, dependendo da extensão, geralmente evoluem rapidamente, regenerando-se em até cinco dias quando tratadas. Já a queimadura de segundo grau tem sido classificada como superficial e profunda, e a sua evolução dependerá desta graduação de profundidade e da ocorrência ou não de complicações, sendo as infecções uma das causas mais frequentes de piora tanto no âmbito tópico quanto no sistêmico.

As queimaduras de segundo e terceiro graus requerem um processo de desbridamento que consiste na retirada de tecidos desvitalizados. Esse processo pode ser demorado e necessitar de maior intervenção dependendo da profundidade e extensão da queimadura. Queimaduras, classificadas inicialmente como de segundo grau, podem aprofundar-se se ocorrer coexistência de infecção local. (FERREIRA, 2003)

As lesões resultantes das queimaduras são isquêmicas como consequência da trombose causada pelo trauma. As queimaduras profundas apresentam trombose em todas as camadas da pele atingidas e a diminuição da oxigenação nesses tecidos, o que dificulta o crescimento dos capilares e a cicatrização da ferida, pois todos os tecidos humanos requerem oxigênio para que se mantenham viáveis. Nas queimaduras profundas, há uma grande quantidade de tecidos necróticos, o que facilita o desenvolvimento de infecção, pois esses tecidos fornecem nutrientes para as bactérias que requerem pouco oxigênio para a sobrevivência, consumindo-o e diminuindo ainda mais a quantidade de oxigênio disponível para os tecidos. (WARD E SAFFLE, 1995)

1.2 Biopolímeros

1.2.1 Quitina

A palavra quitina (*chitin*) vem do grego *chiton*, que significa túnica ou armadura, o que se deve ao fato de que a quitina tenha sido identificada, inicialmente, no esqueleto externo de fungos, conchas e ossos. Assim como a

celulose, que é encontrada nas plantas, a quitina funciona como um material estruturante na parede das células de animais inferiores e plantas, cujos alimentos são ricos em nitrogênio. (AGBOH; QIN apud FIGUEIREDO, 2002). A quitina encontra-se na matriz da estrutura esquelética de invertebrados marinhos como camarão, siri e lagosta, insetos do grupo dos artrópodes, e nas paredes celulares de fungos como ascomicetos, zigomicetes, basidiomicetes e deuteromicetos (Tab. 1). (CAMPANA-FILHO et al, 2007)

Tabela 1: Quantidade média de quitina em alguns organismos

Crustáceos	Quitina (% em massa)
***Cancer* (Caranguejo)**	72,1[c]
***Carcinus* (Caranguejo)**	0,4 – 3,3[a]
***Callinectes* (Caranguejo Azul)**	14,0[a]
***Chionecetes* (Caranguejo Matsuba)**	25,9[d]
***Erimacrus* (Caranguejo)**	18,4[d]
***Patalithodes* (Caranguejo Rei)**	[d]10,6
***Pleuroncodes* (Caranguejo Vermelho)**	[b]; 10,4[a]; 1,3-1,8[b]35,0
Camarão do Alasca	28,0[d]
***Crangon* (Camarão)**	5,8[d]; 11,6[d]; 69,1[c]
***Macrobrachium rosenbergii* (Camarão de água doce)**	25,3 ± 0,2[e]; 24,4 ± 1,0[f]
Metapenaeus	32,4[d]
***Nephrops* (Lagosta)**	69,8[c]
***Homarus* (Lagosta)**	60,8 – 77,0[c]
Peneus	25,0[d]
Lepas	58,3[c]
***"Krill"* (zooplancton de mares frios)**	40,2 – 42,0[d]

a) Massa úmida do corpo; b) massa seca do corpo; c) fração orgânica da cutícula; d)massa total seca da cutícula; e) massa seca do abdômen; f) massa seca das cascas.
Fonte: CAMPANA-FILHO et al, 2007.

Destaca-se por ser facilmente obtida, não tóxica, biocompatível e biodegradável, possuindo baixa capacidade de adsorção, devido ao seu grupo amino acetilado, que se passar pelo processo de desacetilação, transforma-se

em quitosana, com o grupo amino livre, possibilitando a adsorção, por exemplo, de metais pesados e corantes. (LIMA; RIBEIRO; AIROLDI, 2012)

É um polímero linear que tem como unidade repetitiva um dissacarídeo unido por uma ligação glicosídica (Fig. 1). Possuem ligações do tipo o β(1→4), que se definem em terminais redutor e não-redutor das cadeias poliméricas, os quais correspondem às extremidades que contêm grupo hidroxila livre ligado ao carbono 1 (terminal redutor) e carbono 4 (terminal não-redutor) do anel de glicopiranose. (CAMPANA-FILHO et al, 2007)

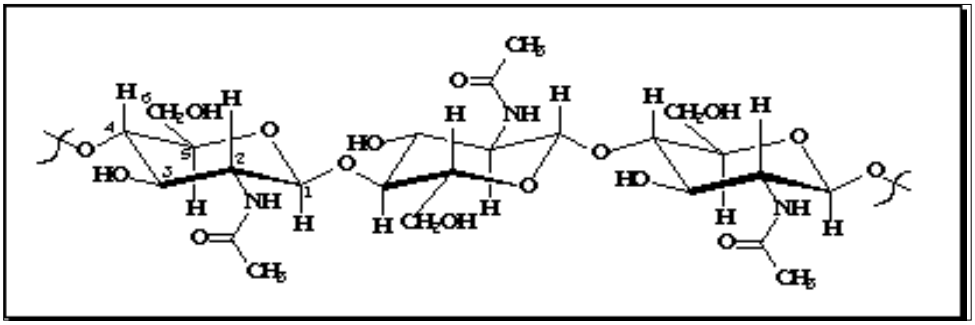
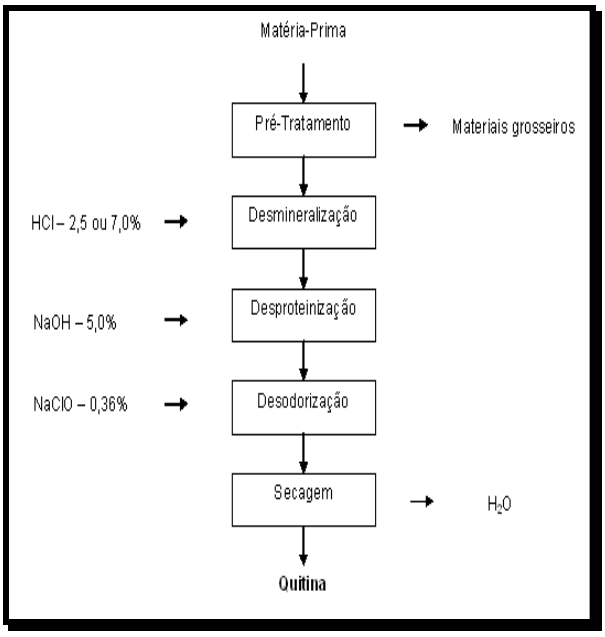


Figura 1: Fórmula estrutural da quitina. Fonte: polymar.com.br

Apesar de a quitina ser sintetizada por uma enorme quantidade de animais e vegetais, as principais fontes comerciais de obtenção desta são as carapaças de caranguejo e de camarão, descartadas pelas indústrias pesqueiras. Essas carapaças são compostas basicamente por proteínas, minerais e quitina, que durante a extração comercial, esses materiais são limpos e seguidamente transformados em flocos. Então, para se isolar a quitina, são seguidas três etapas: a desmineralização, desproteinação e a despigmentação. (CAMPANA-FILHO et al, 2007).

As etapas consistem em tratamentos com solução ácida para a remoção de minerais, lavagem com solução alcalina em temperatura ligeiramente elevada em varias repetições, para a remoção de proteínas e o processo de branqueamento, para retirar a pigmentação, até que se tenha a proteína purificada. (AGBOH; QIN apud FIGUEIREDO, 2002).

As etapas estão ilustradas no quadro (Fig. 2), a seguir:



Esquema 1: Obtenção da quitina

Fonte: SOBRINHO, 2007.

Como raramente ocorre em forma pura, a completa eliminação das outras substâncias associadas à quitina não é tão simples, logo dificilmente consegue-se atingir o padrão de pureza necessário para determinadas aplicações. (CAMPANA-FILHO et al, 2007)

1.2.2 Quitosana

A quitosana é um biopolímero, do tipo polissacarídeo linear derivado da desacetilação da quitina. Possui estrutura primária idêntica à da quitina, ressaltando que na quitosana predominam as unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose, como mostra a Figura 3.

A completa desacetilação da quitina é raramente realizada por serem necessárias muitas reações consecutivas, que favoreceriam sua progressiva despolimerização. Assim, o termo quitosana abrange o conjunto de copolímeros que contém pelo menos 50-60% dessas unidades (grau de desacetilação deve ser maior que 50%).

Não há limites bem definidos em termos dos conteúdos de unidades 2-acetamido-2-desoxi-Dglicopiranose e 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose para a distinção de quitina e quitosana, mas em função de suas composições distintas

os polímeros exibem propriedades bem diferentes. (CAMPANA-FILHO et al, 2007)

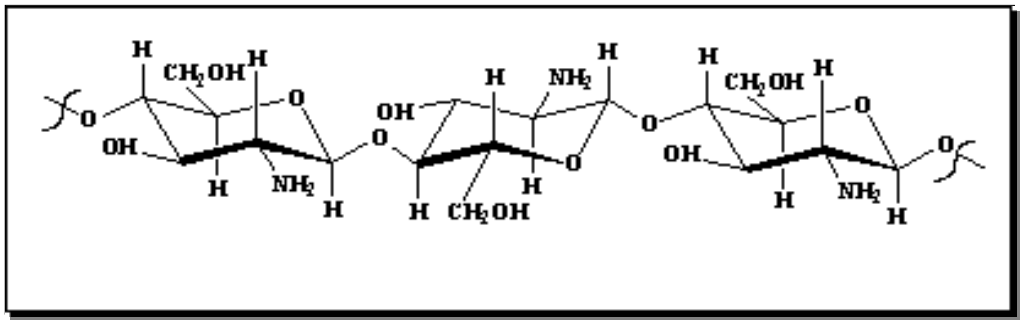


Figura 2: Fórmula estrutural da quitosana. Fonte: polymar.com.br

É possível pela solubilidade, fazer uma distinção rápida e simples entre quitina e quitosana, pois somente a quitosana é solúvel em soluções aquosas diluídas de vários ácidos, como os ácidos acético e clorídrico, que são os mais utilizados, quando a desacetilação da quitina se torna maior que 50%, ficando solúvel em meio ácido. (CAMPANA-FILHO et al, 2007)

De acordo com Agboh e Qin, atualmente, têm sido feitas várias tentativas de modificação das propriedades da quitina em quitosana, através de reações envolvendo os grupos – OH e NH_2, destacando-se as seguintes reações: (FIGUEIREDO, 2002)

- A acilação dos grupos amino da quitosana em solução leva a diminuição da solubilidade, formando-se um gel, e a sua acetilação leva a regeneração da quitina, obtendo-se fibras de quitina regeneradas com as propriedades originais;
- Alterações estruturais na quitina e quitosana, a partir da reação dos grupos – OH e NH_2 substituídos por halogêneos;
- A quelação de íons metálicos (Hg, Ag, Cu, Cd e Pb), devido à presença de grupos amina primária em quitosana.

O Japão, EUA e China são os maiores produtores de quitosana de diversas formas, que ocorre de acordo com seu tipo de aplicabilidade, como fibras, glóbulos, filmes, membranas dentre outros. (BEPPU; ARRUDA; SANTANA, 1999).

A quitosana comercial possui, geralmente, o (G.D.) entre 70-95%, ou seja, as características da quitosana variam de acordo com o grau de desacetilação da quitina, por meio de processos químicos ou microbiológicos. As amostras podem ter características diferentes em relação à viscosidade e distribuição da massa molar, influenciando no desempenho final do polímero. (CANELLA; GARCIA, 2001)

1.2.3 Propriedades Biológicas da Quitosana e Quitina

1.2.3.1 Atividade Antimicrobiana

Dentre as inúmeras características que distinguem quitina e quitosana dos demais polissacarídeos destaca-se a atividade antimicrobiana. Esses polímeros provocam a inibição do crescimento de microrganismos. Segundo os pesquisadores Kumar e Olsen et al, a atividade antimicrobiana da quitosana é explicada por seus grupos amínicos, que em contato com fluídos fisiológicos, são protonados e ligados a grupos aniônicos dos micro-organismos e resulta na aglutinação das células microbianas e a inibição do crescimento destas. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

Resultados, demonstrados por Zheng e Zhu, sugerem que os efeitos da quitosana são distintos nos dois tipos de bactérias: no caso das gram-positivas, a hipótese é que quitosana de alta massa molecular forma películas ao redor da célula que acabam por inibir a absorção de nutrientes, enquanto que quitosana de baixa massa molecular penetra mais facilmente em bactérias gram-negativas, causando distúrbios no metabolismo desses microrganismos. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

1.2.3.2 Efeito Coagulante

Okamoto e colaboradores mostraram que a quitina e quitosana reduzem o tempo de coagulação sanguínea, numa hemóstase, dependendo da dose utilizada, sendo a quitosana (tempo de coagulação sanguínea de 3,7 minutos)

mais eficaz que a quitina (tempo de coagulação sanguínea de 4,7 minutos) na coagulação sanguínea sob a mesma concentração de 0,1 mg/mL, com o tempo de coagulação sanguínea de 12 minutos para o controle, apesar da quitina ter demonstrado maior capacidade de agregar plaquetas. Porém, a quitosana se mostra mais eficaz, devido a sua capacidade de agregar eritrócitos, além da agregação plaquetária. Pois a interação das cargas positivas dos grupos amínicos livres da quitosana receptam as cargas negativas dos eritócitos, que contém resíduos de ácido neuramínico e murâmico. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006)

1.2.3.3 Efeito Analgésico

Estudos, realizados por Okamoto, sugerem que o principal efeito analgésico da quitosana é decorrente da captura de hidrogênios ácidos liberados no local da inflamação pela ionização do grupo amínico a NH_3^+. A quitosana teria a propriedade de absorver a bradicinina, mediador químico na produção da dor do local inflamado, sendo liberada no sítio da inflamação e a quitina, tem a capacidade de absorção quase três vezes maior que esta. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006).

1.2.3.4 Efeito Hipocolestrolêmico e Hipolipidêmico

Devido à capacidade de se ligar aos lipídeos da dieta, a quitosana tem sido utilizada via oral na redução dos níveis de colesterol e triglicerídeos plasmáticos, interferindo na absorção intestinal dessas gorduras. Porém, a quitina e a celulose não apresentaram atividade hipocolesterolêmica. (KOIDE, 1998).

1.2.3.5 Redução de Peso

A redução de peso provocada pela administração de quitosana ainda gera muita discussão e polêmica na literatura. Existem trabalhos que atestam a

capacidade da quitosana em reduzir peso de pessoas obesas sem necessidade de alteração na dieta alimentar, outros afirmam que a redução de peso se deve a administração de quitosana quando acompanhada por alteração na dieta alimentar. (PITLLER et al, 1999 & FURDA, [s.d])

Embora não seja consenso no meio científico, quitosana é reconhecidamente segura e não-tóxica ao ser humano, podendo-se apontar que a dose utilizada em humanos é sempre menor que aquela utilizada em animais. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006)

De acordo com Ventura, dentre os mamíferos, o ser humano é exemplo raro em que quitinases específicas estão ausentes. Desta maneira, não é possível hidrolisar a quitosana de forma extensa, havendo apenas hidrólise parcial por bactérias da flora normal e hidrolases inespecíficas. Esta particularidade tem se mostrado como característica interessante, pois, na medida em que o polímero é catiônico, este se encontra solúvel no estômago (faixa de pH 1- 3), porém, precipita no intestino (pH 6,5). Esta característica físico-química é o ponto chave no “mecanismo de ação” da quitosana, pois a mesma interfere na emulsificação de lipídeos no estômago e, ao chegar ao intestino, devido à precipitação, o complexo não é absorvido. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006)

1.2.3.6 Aceleração da Cicatrização

Os macrófagos, células pertencentes ao tecido conjuntivo (MELDAU, 2010), ativados pelos oligômeros de quitina e quitosana de baixa massa molecular, liberam interleucina-1, que estimula a proliferação de fibroblastos e influencia a estrutura do colágeno. Liberam, também, *N*-acetilglicosaminidase, que hidrolisa a quitosana à monômeros de *N*acetilglicosamina e glicosamina, unidades de açúcares necessárias à biossíntese do ácido hialurônico e outros componentes da matriz extracelular pelos fibroblastos. (MUZZARELLI, 1997). As atividades bactericidas e bacteriostáticas sugerem que estes polímeros podem prevenir infecções, se aplicados diretamente no local da lesão. (KOIDE, 1998)

Quitina e quitosana são facilmente despolimerizadas pela lisozima, presente naturalmente no fluido da lesão, e funcionam como fontes de liberação retardada de monômeros *N*-acetilglicosamina no processo de cicatrização, favorecendo a reepitelização com formação de cicatriz lisa (Fig. 4) e a biodegradação do polímero. Isto se deve à baixa toxicidade da quitosana, que faz dela um polímero biocompatível. (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006)

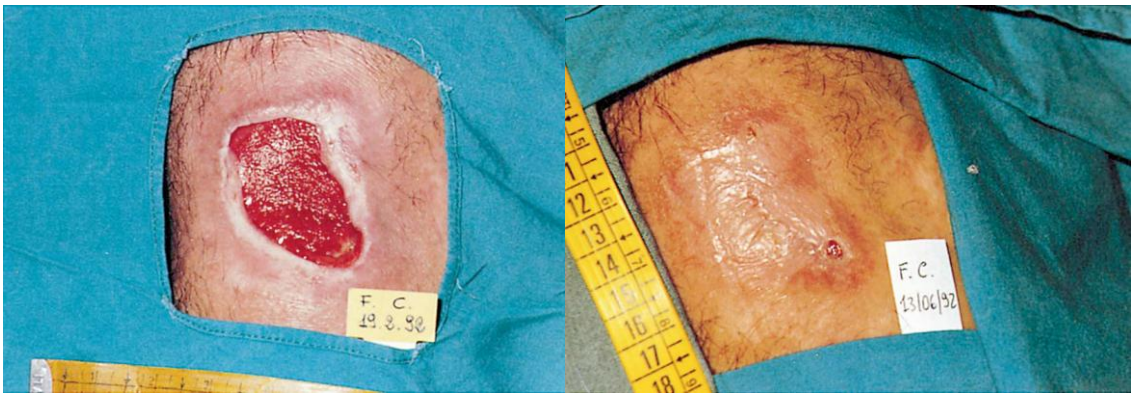


Figura 3: A cura de uma úlcera congênita em um paciente de 20 anos de idade. A úlcera estava coberta com metilpirrolidinona quitosana, com mudanças frequentes (8 de Fevereiro de 1992), e alguns dias depois em19 Fevereiro de 1992 (foto da esquerda) os primeiros sinais de cicatrização foram observada na área periférica; (foto da direita) completa cura foi observada em 13 de Junho de 1992. Dimensões em centímetros.
Fonte: MUZZARELLI, 1997.

No Japão, já se encontra disponível pele artificial de quitina, a Besquitin *WR*, que pode ser aplicada em casos de queimaduras superficiais, profundas e de terceiro grau, além de lesões traumáticas e abrasivas, promovendo hemostasia, analgesia e aceleração da epitelização. (KIFUNE apud SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006)

1.3 Ação Oligodinâmica da Prata

Ação oligodinâmica, o termo origina-se do grego "*oligos* = pequeno" e "*dinamikós* = poder", significa que substâncias metálicas em concentrações muito baixas, particularmente a prata, possuem a capacidade de afetar atividades de organismos vivos, como exemplo as bactérias, impedindo sua proliferação através da assepsia de efeito oligo-dinâmico do íon prata, sem prejuízo ao ser humano. Pois dependendo das condições em que se encontra

o organismo vivo e da concentração da substância oligodinamicamente ativa, esta última poderá estimular, inibir, ou até mesmo destruir o organismo vivo. (BORZANI, 2003; & NOBRE; YOKOYA, 2005)

No Brasil, a ação oligodinâmica da prata sobre microrganismo foi estudada por Roberto Hottinger, Professor da Escola Politécnica da USP, no período de 1900 a 1942. Na década de 1920, ele conduziu em seus trabalhos o processo por ele denominado “esterilização doméstica de água”, que ainda hoje é muito empregado. (BORZANI, 2003)

Esses produtos atuam por meio da ionização dos compostos metálicos bactericidas, evitando que os metais puros sejam liberados no meio ambiente, de maneira a não prejudicar o ser humano, principalmente os íons prata, que atuam fortemente na destruição dos micróbios. (NOBRE; YOKOYA, 2005)

Há dois tipos de ações antibactericidas em relação ao íon de prata, sendo o primeiro a ação catalítica do íon de prata que destrói a membrana plasmática das bactérias, pela diferença de potencial (eletropotência) entre a parte interna e externa das células, devido à liberação do íon de prata na água ou no ar ambiente úmido. E em segundo, ocorre à penetração do íon de prata na membrana plasmática da célula bacteriana, destruindo o citoplasma da célula, esta ação também ocorre em ambientes úmidos (água ou ar). (NOBRE; YOKOYA, 2005)

Assim, pelas razões expostas anteriormente, buscou-se neste trabalho explorar o desenvolvimento de curativos de quitosana contendo prata para o tratamento de lesões na pele, visando a ação antibacteriana.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de biofilmes à base de quitosana de camarão contendo prata para aplicação em atividades antibacterianas.

2.2 Objetivos Específicos

- Produção de esferas, membranas e biofilmes de quitosana com e sem materiais particulados de prata;
- Caracterização físico-química e estrutural dos produtos desenvolvidos;
- Verificação da eficiência dos produtos em simulação de atividades antibacterianas;
- Avaliação biológica dos biofilmes impregnados com as partículas de prata.

3. MATERIAIS E MÉTODO

3.1. Reagentes, materiais e equipamentos utilizados:

3.1.1 Reagentes:

- Quitosana padrão (Sigma – Aldrich, lote número 06714DJ com grau de acetilação de 95%);
- $C_2H_4O_2$ - Ácido Acético Glacial;
- $AgNO_3$ - Nitrato de Prata (VETEC, lote número 115-152-0);
- Água destilada;
- NaOH - Hidróxido de sódio 1M (VETEC, lote número 983223);

3.1.2 Materiais:

- Balões Volumétricos de 100 mL;
- Agitador Magnético;
- Placas de Petri;
- Béquer 250 mL;
- Bastão de Vidro;

3.1.3 Equipamentos:

- Placa de Agitação Magnética (IKA C-MAG HS7);
- Estufa (Med – Clave Modelo 3).

3.2. Método:

O procedimento utilizado é baseado na metodologia descrita por Cardoso et al. (2012).

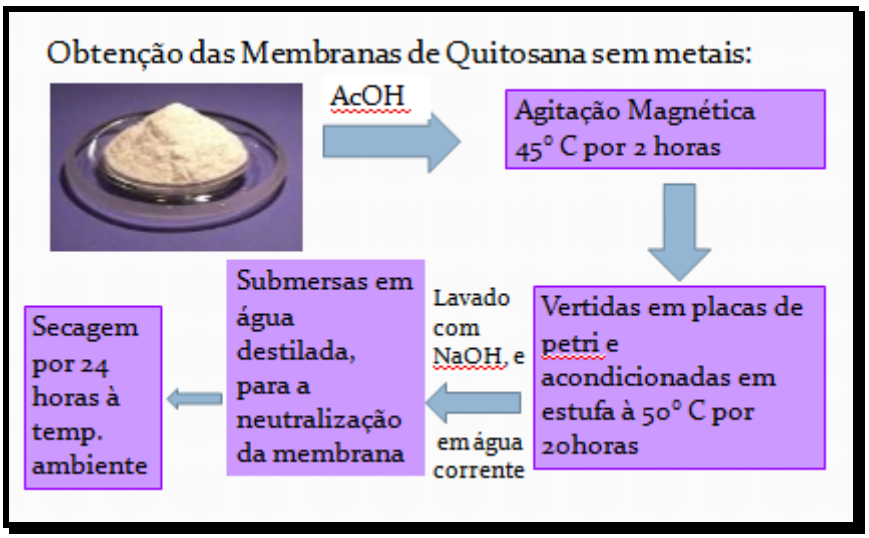
3.2.1 Obtenção das Membranas de Quitosana sem Metais:

Para a preparação das membranas de quitosana sem metal, iniciou-se a preparação da solução de quitosana diluindo-se 1g de quitosana em 100 ml de uma solução a 1% de ácido acético glacial e em seguida, manteve-se a solução sob agitação magnética a 45 °C por 2 horas.

Após as 2 horas sob agitação magnética, a solução foi vertida em placas de petri, e acondicionadas em estufa a 50 °C por 20 horas para a evaporação do ácido e a formação das membranas. Depois da secagem das membranas, as mesmas foram retiradas da estufa e 50 ml de uma solução de hidróxido de sódio a 1M foi adicionado a fim de assegurar a completa neutralização das membranas.

Em seguida, as membranas foram lavadas em água corrente para retirada da solução de hidróxido de sódio e posteriormente submersas em água destilada por tempo suficiente para que a neutralização das membranas fosse atingida. Após a neutralização das membranas, as mesmas foram secadas por 24horas a temperatura ambiente.

Segue abaixo o esquema do método utilizado (Esquema 2):



Esquema 2: Obtenção da membrana de quitosana sem o metal.

3.2.2 Obtenção das Membranas de Quitosana com Metais:

3.2.2.1 Preparação da solução de nitrato de prata:

Para preparação da solução de nitrato de prata foi dissolvido uma massa equivalente molar a 10^{-3} g de prata em 100 ml de água destilada.

3.2.2.2 Preparação das Membranas de Quitosana com a prata:

Obtidas as soluções de quitosana e de prata, as mesmas foram misturadas colocando quantidades estequiométricas. A solução de prata foi introduzida na solução de quitosana, misturando-se sob uma placa de agitação magnética por 20min. Após a mistura, 50 ml da solução quitosana/metal foi vertida em placa petri, seguindo o mesmo procedimento da secagem e neutralização das membranas de quitosana sem metal.

Foram somente preparadas membranas com 1% de massa de metal, uma vez que um maior teor de metal deixou as membranas muito mais frágeis.

Abaixo, segue o esquema 3, para a obtenção da membrana com a complexação dos metais.

Esquema 3: Obtenção da membrana de quitosana com metal.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Membranas de Quitosana:

O processo de produção da membrana de quitosana é simples, mas requer alguns cuidados para se obter um produto de qualidade.

De acordo com o procedimento utilizado por Cardoso et al (2012), qualitativamente e de forma macroscópica, as membranas de quitosana sem a complexação do metal obtidas neste trabalho demonstraram ser estáveis, com poucas imperfeições, ausência de macroporos e resistentes mecanicamente.

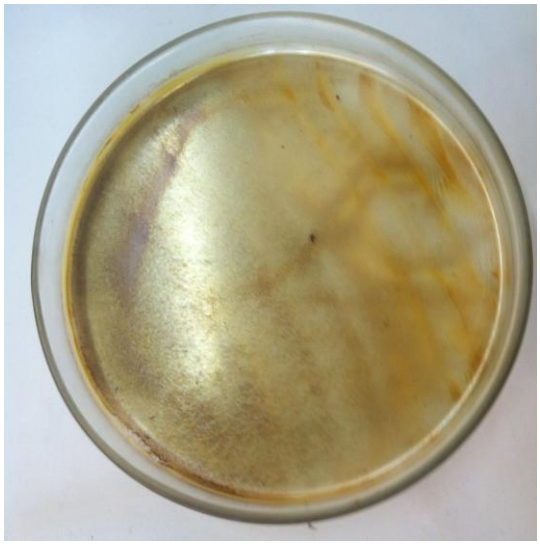
A Figura 5 mostra o aspecto típico, avaliado a olho nu, das membranas sem metal.

Figura 4: Membrana de quitosana sem a complexação com o íon metálico.

Porém, as membranas de quitosana complexadas com metal, que no caso deste trabalho, foi feita a utilização do íon prata, demonstraram ser mais instáveis e quebradiças, provavelmente devido a concentração de partículas de prata complexadas no polímero, pois quanto maior a concentração do íon metálico, mais quebradiça se tornava a membrana.

Na Figura 6 pode-se observar o aspecto típico, avaliado a olho nu, das membranas com concentrações variadas de prata.

a)



b)

c)

Figura 5: Membranas de quitosana complexadas com concentrações variadas de prata. a) 1,0g de prata; b) 0,01g de prata; c) 0,001g de prata.

Logo, observou-se que a diminuição da concentração de íons prata na membrana de quitosana, a tornaria mais estável.

A consequente interação deste polímero com o íon metálico segue um processo de quelação como a proposta mostrada na figura 7.

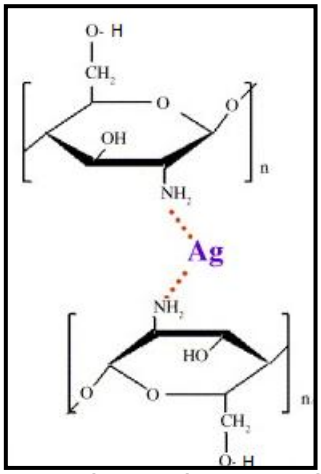


Figura 6: Adsorção do íon metálico no polímero quitosana.

4.2 Teste antibacteriano:

As amostras das membranas de quitosana sem o metal e com metal, foram mandadas para o Laboratório de Sanidade Animal, responsável pelo Professor Olney Vieira da Motta, localizado no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, na Universidade Estadual do Norte Fluminense.

O inóculo foi padronizado a partir de um cultura pura de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e de *Escherichia coli* ATCC 25922 e verificou-se que não houve halos de inibição nas bactérias. Não houve halos de inibição tanto para a amostra da membrana sem o metal, como era o esperado, como para a amostra da membrana preparada com um 1% de massa do metal. Possivelmente devido a baixa concentração de partículas de prata adicionadas à membrana de quitosana.

Entretanto, o esperado seria a inibição bacteriana na membrana com adição de íons prata.

Segundo a autora Girata (2011), a melhora do aspecto e da estabilidade da membrana, mesmo quando complexada com a prata, ocorre quando se adiciona a quitosana, o polímero alginato de cloro, pois se tornam mais resistentes e gelatinosas, favorecendo uma melhor complexação dos íons metálicos ao biopolímero. Além disso, a autora Girata (2011) constatou moderada citotoxicidade a fibroblastos das membranas de quitosana e alginato

contendo prata, supondo-se, entretanto, que os benefícios da utilização de curativos com prata superem a desvantagem de seu efeito citotóxico.

5. CONCLUSÃO

O processo de produção da membrana de quitosana foi simples e eficiente para as membranas sem a adição do íon metálico, o que não foi observado, quando se utilizou o processo para a adição do íon metálico, já que não foi possível a formação da membrana estável.

As membranas de quitosana sem o agente antimicrobiano não apresentaram efeito bactericida, assim como as membranas de quitosana complexadas ao íon metálico.

Através dessa observação, concluiu-se que a concentração do íon metálico foi baixa, por isso não foi possível à inibição das bactérias. Porém, em maiores concentrações, as membranas ficaram quebradiças e instáveis, impossibilitando-as de se manterem como membranas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, E. A. **Caracterização físico-química e ação antimicrobiana de nanopartículas de prata obtidas por uma nova síntese.** 2010. 110f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Escola de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa.

ATIYEH, B. S.; COSTAGLIOLA, M.; HAYEK, S. N.; DIBO, S.A. ***Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature*.** *Burns v.33*; p. 139-148, 2007.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK, M. V. L.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. . **Revista Eletrônica de materiais e processos,** Campina Grande, v.2, n.3, p. 1 – 8, 2007. Disponível em: <www.dema.ufcg.edu.br >. Acesso em: 02 ago. 2012.

BEPPU, M. M.; ARRUDA, E. J.; SANTANA, C. C. Síntese e Caracterização de Estruturas Densas e Porosas de Quitosana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Ano 9, n. 4, p. 163 – 169, out./dez. 1999.

BLANES, L.**Tratamento de feridas**. Baptista-Silva JCC Editor. Cirurgia vascular: guia ilustrado. São Paulo, 2004.

BORZANI, W. Ação Oligodinâmica. **Revista de Graduação da Engenharia Química**, Ano 6, n. 11, jan./jun 2003. Disponível em: < http://www.hottopos.com/regeq11/borzani.htm>. Acesso em: 03 ago. 2012.

CAMPANA – FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β – quitina. **Química Nova**, Ano 30, n. 3, p. 644 - 650, 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v30n3/25.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2012.

CANELLA, K. M. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, Ano 24, n. 1, p. 13-17, 2001. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/qn/v24n1/4443.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2012.

CARDOSO, M. J. B.; BARBOSA, R. C.; RIES, A., FIDELIS, T.; FOOK, M. V. L. Ensaios físico-químicos e mecânicos de membranas de quitosana com cobre, zinco e magnésio. **Revista Eletrônica de materiais e processos,** Campina Grande, v.7, n.1, p. 1 – 6, 2012. Disponível em: <www.dema.ufcg.edu.br >. Acesso em: 26 jul. 2012.

CARREIRA, C. M.; PEREIRA, C. A.; BOMBANA, A. C.; JORGE, A. O. C. Eficácia antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre esporos, leveduras e bactérias. In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 8; 9, 2009, são José dos Campos, **Anais...** São José dos Campos: 2009, p. 1 – 6. Disponível em: < http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/0173_1015_01.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2012.

COSTA, C. S. **Efeito in vitro de nanopartículas de prata em creatina quinase e cadeia respiratória celular.** 2009, 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. Criciúma.

CUNHA, P. L. R.; ARGELIM, A. L.; MELO, V. M. M.; THIRÉ, R. M. S. M.; SOARES, G. D. A.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. Membranas de quitosana incorporadas com nanopartículas de prata: obtenção, caracterização e atividade bactericida. In: Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química, 31, 2008, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Associação Brasileira de Química, 2008, p. 1-2.

FENG, Q.L.; WU, J.; CHEN, G.Q.; CUI, F.Z.; KIM, T.N.; KIM, J.O. *A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus.* ***Journal of Biomedical Materials Research***, v. 52, n. 4, p. 662-668, dez. 2000. Disponível em: <http://www.sovereignsilver.info/pdf/3.pdf>. Acesso em: 09 ago. 2012.

FERREIRA, E; LUCAS, R.; ROSSI, L. A.; ANDRADE, D.; "Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura"; ***Revista da. Escola de Enfermagem*.** USP, 2003

FIGUEIREDO, S. A. R. C. **Remoção de corantes têxteis em solução aquosa usando materiais naturais contendo quitina.** 2002. 430f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto.

FURDA, I. *Aminopolysaccharides—Their Potential as Dietary Fiber. In: ACS –* ***Symposium Series***, 214, Minneapolis. **Anais...** Minneapolis. P. 105 – 122. Disponível em: <**http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-1983-214.ch008**>. Acesso em: 04 ago. 2012.

GIRATA, A. K. **Desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata.** 2011. 129f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GÚSMAN, M. G.; DILLE, J.; GODET, S. *Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity.* ***Journal of Chemical and Biomolecular Engineering***, v.2, n. 3, 2009.

KNILL, C. J.; KENNEDY, J. F.; MISTRY, J.; MIRAFTAB, M.; SMART, G.; GROOCOCK, M. R.; WILLIANS, H. J. *Alginate fibres modified with unhydrolysed and hydrolised chitosans for wound dressings.* ***Carbohydrate Polymers****,* v. 55, p. 65-76, 2004.

KLUG, M.; SANCHES, M. N. M.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Análise das isotermas de adsorção de Cu (II), Cd (II), Ni (II) e Zn (II) pela N-(3,4-dihidroxibenzil) quitosana empregando o método da regressão não linear. **Química Nova**, Ano 21, n. 4, p. 410 - 413, 1998.

KOIDE, S. S. *Chitin-chitosan: properties, benefits and risks.* ***Sci-verse – Science Direct*****,** v.18, n.6, p. 1091-1101, 1998.

LIMA, I. S.; RIBEIRO, E. S.; AIROLDI, C. O emprego de quitosana quimicamente modificada com anidrido succínico na adsorção de azul metileno. **Química Nova**, Ano 29, n. 3, p. 501 - 506, 2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/qn/v29n3/29279.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2012.

MELDAU, D. C. **Macrófagos.** Infoescola, 2010. Disponível em: < http://www.infoescola.com/citologia/macrofagos/>. Acesso em: 04 ago. 2012.

MUZZARELLI, R. A. A. *Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives.* ***CMLS - Cellular and molecular life science*****,** v. 53, n.2, p. 131 – 140, 1997.

NOBRE, G.H., YOKOYA, N.; Bactericida Inorgânico – Para uso em materiais plásticos. ***Real Trade***, 2005. Disponível em: <http://www.realtrade.com.br/portugues/artec/plastico.html>. Acesso em: 03 ago. 2012.

PITTLER, M. H.; ABBOT, N. C.; HARCKNESS, E. F.; ERNST, E. *Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction.* ***European Journal of Clinical Nutrition,*** v. 53, n. 5, p. 379 – 381, 1999.

PONTES, J. F. R.; THIRÉ, R. M. S. M. Produção e caracterização de biomateriais a base de quitosana/nanopartículas de prata. In: Painel Pemm , 2, 2011, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: COPPE – UFRJ Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós – Graduação e Pesquisa de Engenharia. 2011. p. 1-2.

REIS, A. **UFSC estuda produção de nanopartículas de prata e impregnação em diferentes materiais.** Notícias da UFSC, 2011. Disponível em: <http://noticias.ufsc.br/2011/06/03/ufsc-estuda-producao-de-nanoparticulas-de-prata-e-impregnacao-em-diferentes-materiais-2/> Acesso em: 25 jul.2012.

SANTOS, V. L. C. G. "**Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio**". In: Duarte YAO, Diogo MJD. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu; p.265-306, 2000.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, Ano 29, n. 4, p. 776 - 785, 2006.

SOBRINHO, A. B. P. **Síntese e Caracterização de quitina, quitosana e glucosamina a partir de carapaças de crustáceos.** 2007, 40f. Monografia (Conclusão de Curso) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes.

VALENTINI, A.; LARANJEIRA, M. C. M.; FIORI, S.; FÁVERE, V. T. Processo alternativo para a remoção de cobre (II) e níquel (II) de soluções aquosas

utilizando cápsulas de quitosana – álcool polvinílico. **Química Nova**, Ano 23, n.1, p. 12- 15, 2000.

WARD, R.S., SAFFLE, J.R. “Topical agents in burn and wound care”. *Physical Therapy*, v.75. p.526-38, 1995