

Análise Comparativa das Propriedades de Membranas de Quitosana e Alginato Densas e Porosas Preparadas na Presença ou Ausência do Polímero Sintético Silpuran[®] 2130 A/B

A. L. R. PIRES¹, A. M. A. DIAS², H. C. SOUSA², M. E BRAGA², A. M. MORAES¹

¹ Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos

² Universidade de Coimbra, Departamento de Engenharia Química

E-mail para contato: ammoraes@feq.unicamp.br

RESUMO – A quitosana e o alginato destacam-se dentre os biopolímeros mais estudados para o tratamento de lesões de pele. A associação quitosana-alginato contribui para a melhoria das propriedades das membranas usadas como curativos, entretanto, estes dispositivos apresentam baixa porosidade e flexibilidade. Tais limitações podem ser contornadas pela adição na formulação do tensoativo Pluronic F68 (agente porogênico) e do agente siliconado Silpuran[®] 2130 A/B (polímero altamente flexível). Neste trabalho, avaliou-se a influência da adição simultânea destes aditivos nas propriedades dos curativos, analisando-se as variações de espessura, ângulo de contato, sorção e transmissão de vapor d'água. Observou-se que a incorporação de Silpuran[®] 2130 A/B, na presença ou não do tensoativo, reduz a espessura e aumenta a hidrofobicidade dos dispositivos, enquanto a adição de ambos os aditivos aumenta significativamente a sorção de vapor de água, porém não altera a transmissão de vapor de água.

1. INTRODUÇÃO

Os biomateriais apresentam-se como um campo de pesquisa multidisciplinar baseado na sinergia das áreas de biologia, engenharias e ciência dos materiais. Estão sendo utilizados há décadas no âmbito médico para melhorar a qualidade de vida dos pacientes (Holzapfel *et al.*, 2013). A seleção dos componentes que constituem um dado biomaterial é essencial para que sua aplicação seja bem sucedida, assim sua escolha deve ser definida a partir das propriedades específicas. Alguns tipos de biopolímeros, como a quitosana e o alginato, separadamente ou combinados, resultam em materiais com propriedades particulares para o tratamento de feridas, inclusive na confecção de curativos. Além disso, possuem vantagens apreciáveis, tais como biocompatibilidade e biodegradabilidade (Rodrigues *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2012).

A quitosana é um biopolímero que pode apresentar-se como um polícatión em condições apropriadas de pH. Este composto é derivado da quitina, um componente do exoesqueleto de crustáceos, sendo constituído de unidades de N-acetil glicosamina e D-glicosamina. É conhecida no campo do tratamento de feridas por estimular a proliferação celular e por ter propriedades bactericidas e fungicidas (Chen *et al.*, 2012; Paul e Sharma, 2004). O alginato é um biopolímero aniônico obtido

de algas marrons, composto por blocos de (1,4) β -D-manuronato (M) e α -L-guluronato (G). Seu uso na constituição de curativos é historicamente consolidado. Tal composto facilita a re-epitelização do ferimento devido ao ambiente úmido que proporciona à lesão. Os íons sódio no fluido da ferida convertem, lentamente, o alginato de cálcio reticulado do curativo em uma solução viscosa de alginato de sódio, aliviando a dor (Lee e Mooney, 2012; Goh *et al.*, 2012).

Quando misturados em fase aquosa, em pH adequado, a quitosana e o alginato combinam-se espontaneamente por forte atração eletrostática, formando um complexo polieletrólito (PEC) (Verma *et al.*, 2011). Esta combinação proporciona dispositivos com maior estabilidade a variações de pH e maior eficiência na liberação controlada de princípios ativos. No entanto, apresentam baixa resistência mecânica, flexibilidade e porosidade. Recentemente, Pires (2013) propôs a adição do composto siliconado Silpuran[®] 2130 A/B em membranas de quitosana-alginato e verificou que o agente siliconado contribui positivamente no aumento na tensão de ruptura e flexibilidade destes tipos de dispositivos. O Silpuran[®] 2130 A/B é um polidimetilsiloxano que possui grupos funcionais e agentes auxiliares para reticulação aditiva nos dois componentes da mistura (A e B). O componente A contém também catalisadores à base de platina. Segundo Colas e Curtis (2004), a platina é capaz de se ligar facilmente a compostos que possuem grupos amino em sua estrutura, desta forma, a adição de Silpuran[®] 2130 A/B pode também contribuir na formação de complexos mais estáveis.

A estrutura porosa de um suporte favorece o transporte, dentro da matriz, de nutrientes, metabólitos, proteínas, gases, assim como vascularização geral e regeneração dos tecidos (Adekogbe e Ghanem, 2005). Dentre as alternativas para a confecção de um biomaterial poroso tem-se a incorporação de tensoativos, como o Pluronic F68. O efeito da adição deste surfactante em membranas de quitosana e alginato foi avaliado por Bueno e Moraes (2011) que notaram que o aspecto e a maleabilidade dos dispositivos mostraram-se adequados, porém sua resistência mecânica e flexibilidade também são baixas. Desta forma, no presente trabalho teve-se por meta comparar as propriedades de membranas densas e porosas de quitosana e alginato contendo ou não o agente siliconado Silpuran[®] 2130 A/B, a fim de analisar o potencial uso destes dispositivos na terapia de lesões de pele.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Preparação das membranas

A preparação das membranas foi realizada de acordo com os procedimentos propostos por Rodrigues *et al.* (2008), Bueno e Moraes (2011) e adaptados por Pires (2013). Para a produção dos dispositivos foram adicionados 180 mL de solução de quitosana a 1% (m/v) em ácido acético a 2% (m/v), com auxílio de uma bomba peristáltica (modelo Minipuls 3, Gilson), a 360 mL de solução de alginato 0,5% (m/v) em um reator de aço inoxidável encamisado com diâmetro interno de 10 cm e altura de 20 cm. A mistura das soluções foi realizada a uma vazão de 200 mL/h. Durante a adição, o sistema foi mantido a 25°C utilizando-se um banho termostático (214 M2, Quimis) e sob agitação constante de 500 rpm empregando-se um agitador mecânico (251 D, Quimis) provido de uma hélice

do tipo pás inclinadas de raio 2,1 cm. Ao término da adição, aumentou-se a taxa de agitação para 1000 rpm, agitando-se a mistura por mais 10 minutos. Em seguida, adicionou-se 13,0 mL de NaOH a 2M visando ajustar o pH para o valor de 7,0. Quando requerido, adicionou-se 180 µL de Silpuran® 2130 A e 180 µL de Silpuran® 2130 B à mistura, com intervalo de 1 minuto entre a adição dos dois compostos. A agitação e a temperatura foram mantidas constantes por mais 10 minutos. Foram adicionados 7,2 mL de solução de CaCl₂ a 2% para a reticulação primária do alginato não complexado com a quitosana, mantendo-se a agitação por 10 minutos. Para as formulações contendo Pluronic F68, o mesmo foi adicionado à solução de alginato a uma concentração de 0,02% em relação ao volume de solução de alginato. A mistura obtida foi desaerada em bomba vácuo (Q-355B2, Quimis) por 120 minutos quando na ausência do tensoativo. O material resultante foi dividido igualmente em termos mássicos em quatro placas de Petri de poliestireno de 15 cm de diâmetro e levada à estufa com circulação de ar (modelo 410D, Nova Ética) para secagem por 20 horas a 37 °C.

2.2. Caracterização das membranas

Espessura: A espessura das membranas foi determinada pela utilização de micrômetro digital IP54 (Mitutoya, model MDC-25S), através de medições em dez diferentes pontos ao longo da extensão da membrana, partir das quais foram calculados valores médios.

Ângulo de contato: As medidas de ângulo de contato foram feitas no equipamento OCA20 da marca Dataphysics. Devido à estrutura irregular da superfície das amostras, as mesmas foram fixadas sobre uma fita adesiva a fim de ajustar a superfície e melhorar a análise.

Sorção de vapor d'água: A sorção de vapor d'água foi avaliada gravimetricamente, medindo-se o aumento paulatino de massa de amostras contidas num ambiente de umidade relativa de 90% a 32°C. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando-se células de vidro com vedação de borracha que continham solução aquosa saturada de cloreto de potássio ao fundo. Dentro de cada célula foram dispostos frascos de vidro de 10 mL sem tampa que continham no seu interior as amostras de membranas de dimensões 1 cm x 1 cm. A massa de cada frasco foi medida ao longo do tempo até completar 24 horas de ensaio. Previamente aos ensaios, as amostras foram secas a 37 °C em estufa por 48 horas, sendo posteriormente armazenadas por 24 horas em sílica gel.

A capacidade de sorção de vapor (SV) foi calculada de acordo com a Equação 1:

$$SV = \frac{M_t - M_o}{M_t} \times 100 \quad (1)$$

onde M_t é a massa da amostra no tempo t e M_o é a massa inicial da amostra.

Transmissão de vapor d'água: A transmissão de vapor d'água foi analisada com base na norma ASTM E96-90D (2010), avaliando-se a quantidade de água evaporada através da amostra por meio de medidas da perda de massa. Células de permeabilidade foram preenchidas com 2 mL de água deionizada e a amostra foi fixada no topo do frasco com auxílio de tampa rosqueável e *o-ring* de borracha, a qual continha uma abertura circular central de $6,362 \times 10^{-5} \text{ m}^2$. As células foram pesadas e

colocadas em um dessecador de vidro com vedação de borracha que continha ao fundo solução aquosa saturada de cloreto de lítio a 32 °C a fim de se promover um equilíbrio de umidade relativa (RH) de cerca de 20%. A massa de cada frasco foi medida ao longo do tempo até completar 24 horas de ensaio. Previamente aos ensaios, as amostras foram secas a 37 °C em estufa por 48 horas e, em seguida, armazenadas por 24 horas em sílica gel.

Os valores de transmissão das amostras (TVA) ao vapor d'água foram calculados utilizando-se a Equação 2:

$$TVA = \frac{m}{A \Delta t} \quad (2)$$

onde m é a massa de vapor d'água que permeou através da amostra (g), Δt é o período de tempo (h) e A é a área em contato com a membrana (m^2).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Espessura

Na Figura 1 são apresentados os valores médios da espessura dos filmes de quitosana e alginato na presença ou ausência de Silpuran[®] 2130 A/B e Pluronic F68.

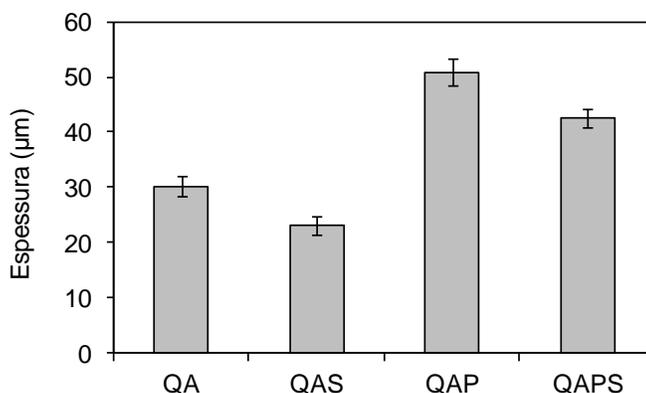


Figura 1 – Espessura média das membranas de quitosana e alginato (QA) preparadas somente na presença de: Silpuran[®] 2130 A/B (QAS), Pluronic F68 (QAP) ou com Silpuran[®] 2130 A/B e Pluronic F68 em conjunto (QAPS).

As formulações contendo o agente siliconado exibiram menores espessuras, com diminuição de

23% na ausência do tensoativo e de 16% na presença do mesmo. A redução da espessura pela incorporação de Silpuran[®] 2130 A/B em membranas constituídas somente de quitosana-alginato também foi notada por Pires (2013), que observou diminuição de 78%. Os maiores valores encontrados podem ser atribuídos à diferença da temperatura na etapa de secagem dos dispositivos, que ocorreu a 60 °C no trabalho de Pires (2013) e à 37 °C no presente trabalho. O uso da maior temperatura pode ter contribuído para a diminuição da solubilidade dos gases no interior da mistura polimérica, diminuindo consequentemente a quantidade de bolhas de ar e a espessura das membranas formadas após a secagem. Ainda, como já mencionado anteriormente, os catalisadores de platina presentes no Silpuran[®] 2130 A se ligam facilmente a compostos que possuem grupos amino em sua estrutura (Colas e Curtis, 2004). Assim, a interação entre a platina do agente siliconado e o grupamento amino da quitosana pode ter contribuído para a maior compactação dos filmes.

Nota-se ainda que as membranas contendo o tensoativo Pluronic F68 apresentaram maiores espessuras, tanto na presença quanto na ausência do agente siliconado, alcançando 43 e 51 μm , respectivamente. Tal comportamento já era esperado devido à maior porosidade favorecida pela adição do surfactante.

3.2. Ângulo de contato

Na Figura 2 são apresentados os aspectos das bolhas de água formadas após atingir a superfície das membranas e os valores do ângulo de contato inicial. Membranas contendo Silpuran[®] 2130 A/B apresentaram caráter hidrofóbico, uma vez que os ângulos de contato estão acima de 90°. O PDMS (polidimetilsiloxano) é caracterizado por possuir cadeia principal com repetidas ligações de silício-oxigênio (Si-O) e silício-metila (Si-CH₃), sendo estas dispostas em espirais e com os grupamentos metila expostos na região externa da cadeia, fornecendo assim propriedades hidrofóbicas ao material (Hassler *et al.*, 2011; Colas e Curtis, 2004; Brachaczek, 2014).

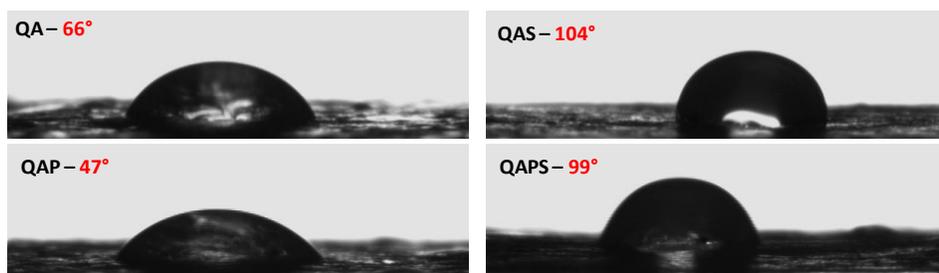


Figura 2 – Ângulo de contato inicial e aspecto das bolhas de água quando em contato com a superfície das membranas de quitosana e alginato (QA) preparadas somente na presença de: Silpuran[®] 2130 A/B (QAS), Pluronic F68 (QAP) ou com Silpuran[®] 2130 A/B e Pluronic F68 em conjunto (QAPS).

Ao contrário, a incorporação de Pluronic F68 em membranas de quitosana-alginato propiciou maior hidrofiliabilidade nas mesmas, com diminuição no ângulo de contato de 104° para 99° na presença do agente siliconado e de 66° para 47° na ausência do mesmo. Loh e Wang (2013) estudaram o efeito da adição de Pluronic em membranas de poli(flúoreto de vinilideno) e observaram

que o ângulo de contato diminuiu de 64° para 45° quando na presença do tensoativo. Nesta mesma perspectiva, Liu *et al.* (2012) adicionaram Pluronic F127 em membranas de cloreto de polivinila (PVC) a fim de melhorar a porosidade do material e constataram uma diminuição no ângulo de contato com a incorporação do tensoativo, de 86° para 70° .

3.3. Sorção e transmissão de vapor d'água

Na Figura 3 são apresentados os resultados para a capacidade de sorção e transmissão de vapor d'água das membranas de quitosana e alginato contendo ou não Pluronic F68 e Silpuran[®] 2130 A/B.

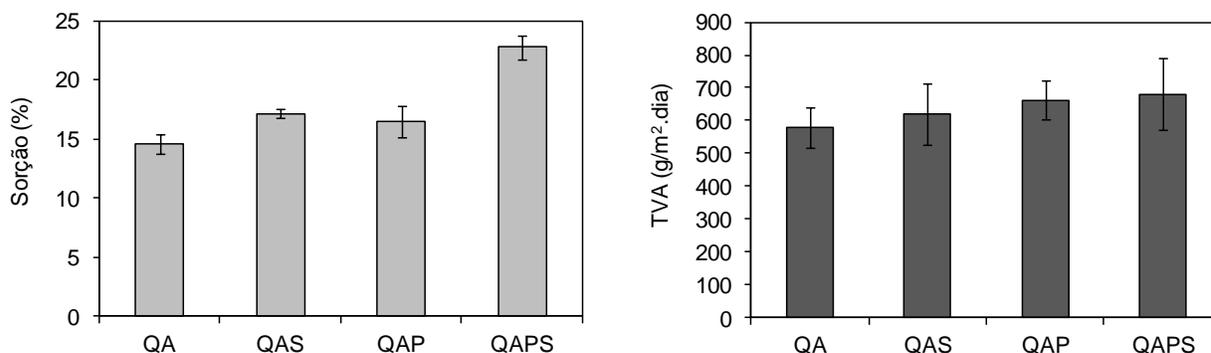


Figura 3 – Capacidade de sorção e transmissão de vapor d'água (TVA) das membranas de quitosana e alginato (QA) preparadas somente na presença de: Silpuran[®] 2130 A/B (QAS), Pluronic F68 (QAP) ou com Silpuran[®] 2130 A/B e Pluronic F68 em conjunto (QAPS).

Nota-se que as formulações contendo Silpuran[®] 2130 A/B apresentaram maior capacidade de sorção de vapor d'água do que as amostras obtidas na ausência do mesmo. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de que o agente siliconado, por ter uma estrutura bem mais flexível que o PEC de alginato e quitosana, pode facilitar a mobilidade das cadeias da matriz, alterando o volume livre existente entre as cadeias macromoleculares (Jadav *et al.*, 2012; Leitner *et al.*, 2014), contribuindo, assim e, para o aumento da sorção de vapor d'água.

Como já esperado, as formulações contendo Pluronic F68 apresentaram maiores capacidades de sorção do que as demais, devido ao maior número de poros presentes na estrutura. O maior valor encontrado foi em torno de 23% para as amostras contendo simultaneamente o tensoativo e o agente siliconado.

Nota-se que não houve alterações significativas na transmissão de vapor d'água com a adição de Pluronic F68 e de Silpuran[®] 2130 A/B nas membranas, observando-se variações entre 580 e 680 g/m².dia. A taxa de transmissão de vapor d'água é um parâmetro muito importante em aplicação

como curativos, uma vez que um alto valor de TVA pode levar à desidratação total da ferida, enquanto que uma baixa TVA pode levar à maceração do tecido em recuperação, causando dor ao paciente e atrasando a cicatrização. Assim, a taxa ótima de perda de água através da evaporação depende do tipo de lesão e do estágio da cicatrização, como por exemplo, a pele saudável ou ferimentos leves possuem uma TVA de 150-200 g/m².dia; já as queimaduras de primeiro grau têm TVA entre 250-300 g/m².dia e as feridas com granulação exibem valores entre 5000-5200 g/m².dia (Dias *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012) Assim, todas as membranas desenvolvidas neste trabalho apresentam potencial para utilização em lesões moderadamente exsudativas.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi avaliada a influência da adição do agente siliconado Silpuran[®] 2130 A/B nas propriedades das membranas densas e porosas de quitosana e alginato. A adição do gel de silicone resultou em menores espessuras, tanto na presença do agente porogênico Pluronic F68 quanto em sua ausência. Análises de ângulo de contato constataram caráter hidrofóbico das membranas contendo Silpuran[®] 2130 A/B e maior hidrofobicidade dos dispositivos contendo Pluronic F68. Membranas contendo o agente siliconado e o agente porogênico em conjunto apresentaram maior sorção de vapor d'água, no entanto não houve diferenças significativas quanto à transmissão de vapor d'água.

5. REFERÊNCIAS

- ADEKOGBE, I.; GHANEM, A. Fabrication and characterization of DTBP-crosslinked chitosan scaffolds for skin tissue engineering. *Biomaterials*, v.26, p.7241-7250, 2005.
- BRACHACZEK, W. The modelling technology of protective silicone coatings in terms of selected physical properties: Hydrophobicity, scrub resistance and water vapour diffusion. *Prog. Org. Coat.*, v.77, p.859-867, 2014.
- BUENO, C.Z.; MORAES, A.M. Development of porous lamellar chitosan-alginate membranes: Effect of different surfactants on biomaterial properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.122, p.624-631, 2011.
- CHEN, J.P.; KUO, C.Y.; LEE, W.L. Thermo-responsive wound dressings by grafting chitosan and poly(N-isopropylacrylamide) to plasma-induced graft polymerization modified non-woven fabrics. *Appl. Surf. Sci.*, v.262, p.95-101, 2012.
- COLAS, A.; CURTIS, J. *Biomaterials science, an introduction to materials in medicine*. San Diego: Editora Elsevier Academic Press, 2004.
- DIAS, A.M.A.; BRAGA, M.E.M.; SEABRA, I.J.; FERREIRA, P.; GIL, M.H.; SOUSA, H.C. Development of natural-based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide. *Int. J. Pharm.*, v.408, p.9-19, 2011.
- GOH, C.H.; HENG, P.W.S.; CHAN, L.W. Alginates as a useful natural polymer for

- microencapsulation and therapeutic applications. *Carbohydr. Polym.*, v.88, p.1-12, 2012.
- HASSLER, C.; BORETIUS, T.; STIEGLITZ, T. Polymers for neural implants. *Polym. Phys.*, v.49, p.18-33, 2011.
- HOLZAPFEL, B.M.; REICHERT, J.C.; SCHANTZ, J.T.; GBURECK, U.; RACKWITZ, L.; NOTH, U.; JAKOB, F.; RUDERT, M.; GROLL, J.; HUTMACHER, D.W. How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. *Adv. Drug Deliver. Rev.*, v.65, p.581-603, 2013.
- JADAV, G.L.; ASWAL, V.K.; BHATT, H.; CHAUDHARI, J.C.; SINGH, P.S. Influence of film thickness on the structure and properties of PDMS membrane. *J. Memb. Sci.*, v.415, p.624-634, 2012.
- LEE, K.Y.; MOONEY, D.J. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog. Poly. Sci.*, v.37, p.106-126, 2012.
- LEE, Y.H.; CHANG, J.J.; YANG, M.C.; CHIEN, C.T.; LAI, W.F. Acceleration of wound healing in diabetic rats by layered hydrogel dressing. *Carbohydr. Polym.*, v.88, p.809-819, 2012.
- LEITNER, L.; HARSCOAT-SCHIAVO, C.; VALLIÈRES, C. Experimental contribution on the understanding of transport through polydimethylsiloxanenano-filtration membranes: influence of swelling, compaction and solvent on permeation properties. *Polym. Test.*, v.33, p.88-96, 2014.
- LIU, B.; CHEN, C.; ZHANG, W.; CRITTENDEN, J.; CHEN, Y. Low-cost antifouling PVC ultrafiltration membrane fabrication with Pluronic F127: Effect of additives on properties and performance. *Desalination*, v.307, p.26-33, 2012.
- LOH, C.H.; WANG, R. Insight into the role of amphiphilic pluronic block copolymer as pore-forming additive in PVDF membrane formation. *J. Memb. Sci.*, v.446, p.492-503, 2013.
- PAUL, W.; SHARMA, C.P. Chitosan and alginate wound dressings: A short review. *Trends Biomater Artif Organs.*, v.18, n.1, p.18-23, 2004.
- PIRES, A.L.R. Desenvolvimento de curativos flexíveis e neutralizados de quitosana e alginato contendo AlphaSan® RC2000; Dissertação de mestrado; Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas; Campinas, 2013.
- RODRIGUES, A.P.; SANCHEZ, E.M.S.; COSTA, A.C.; MORAES, A.M. The influence of preparation condition on the characteristics of chitosan-alginate dressings for skin lesions. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.109, p.2703-2710, 2008.
- VERMA, D.; DESAI, M. S.; KULKARNI, N.; LANGRANA, N. Characterization of surface charge and mechanical properties of chitosan/alginate based biomaterials. *Mater. Sci. Eng. C*, v.31, p.1741-1747, 2011.

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq pelo apoio a este trabalho.