

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Programa de Pós-Graduação
em Química



Produção de filmes compósitos à base de Gelatina, Bentonita e Sulfanilamida
para aplicação como cobertura para feridas

Luís Otávio de Araújo

Tese de Doutorado
Natal/RN, março de 2024

Luís Otávio de Araújo

Produção de filmes compósitos à base de Gelatina, Bentonita e Sulfanilamida para aplicação como cobertura para feridas.

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Profa. Dra. Sibeles B. C. Pergher

Coorientador: Profa. Dra. Kátia Anaya Jacinto

Natal, RN

2024

Luís Otávio de Araújo

PRODUÇÃO DE FILMES COMPÓSITOS À BASE DE GELATINA, BENTONITA E SULFANILAMIDA PARA APLICAÇÃO COMO COBERTURA PARA FERIDAS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovada em: 25 de março de 2024

Comissão examinadora:

Dra. Sibebe Berenice Castellã Pergher – UFRN (orientadora)

Dra. Katya Anaya Jacinto Scattone – UFRN (coorientador)

Dra. Dulce Maria de Araújo Melo – UFRN

Dr. Fábio Garcia Penha – IFRN

Dra. Iane Maiara Soares de Souza – UFRN

Dr. Ronaldo dos Santos Falcão Filho – IFRN

RESUMO

Há muito se discute sobre o tratamento e os prejuízos, sociais e econômicos, das feridas. Tema que vem se tornando cada vez mais relevante em virtude das bactérias resistentes a antibióticos. Nesse sentido, uma das abordagens para o tratamento de feridas infectadas é o uso de materiais compósitos antimicrobianos. Com base nisso, objetivou-se desenvolver filmes compósitos à base de Gelatina, Bentonita e Sulfanilamida com atividade antimicrobiana para cobertura de feridas. Os materiais de partida foram caracterizados por meio de difração de raios-X (DRX), espectroscopia por infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR), análise termogravimétrica (TG) e fluorescência de raios-X (FRX). Os filmes compósitos foram caracterizados quanto a capacidade de absorção de água, conteúdo de umidade, solubilidade e capacidade antimicrobiana *in vitro*. Para a análise dos resultados foi aplicado o teste estatístico ANOVA, considerando $p < 0,1$. Os resultados dos testes de umidade, capacidade de absorção de água e solubilidade foram significativos ao nível de probabilidade, com alguns filmes absorvendo mais de 200 % em 60 minutos. Mediante otimização simultânea por meio do planejamento do tipo Box-Behnken, uma formulação ideal contendo 14,88 % de Gelatina (m/v), 15 % glicerol (v/v) e 2,5 % Bentonita (m/m) foi obtida. A inserção da Sulfanilamida na estrutura da Bentonita deu-se por troca catiônica em diferentes pHs, e a sua entrada foi confirmada por meio de DRX e TG, onde atestou-se que o pH (pH = 4 e pH = 7) não interferiu na quantidade de antibiótico adsorvido, ficando em torno de 5 %. Os filmes compósitos contendo antibiótico mostraram-se eficientes frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, qualificando-os como coberturas promissoras para feridas.

Palavras-chave: Cobertura; Filmes compósitos; Gelatina; Bentonita; Sulfanilamida.

ABSTRACT

There has been much discussion about the treatment and social and economic damage of wounds. This topic has become increasingly relevant due to antibiotic-resistant bacteria. In this sense, one of the approaches to treating infected wounds is the use of antimicrobial composite materials. Based on this, the objective was to develop composite films based on Gelatin, Bentonite, and Sulfanilamide with antimicrobial activity for wound dressings. The starting materials were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA), and X-ray fluorescence (XRF). The composite films were characterized for water absorption capacity, moisture content, solubility, and *in vitro* antimicrobial capacity. For the analysis of the results, the ANOVA statistical test was applied, considering $p < 0.1$. The results of the tests for moisture, water absorption capacity, and solubility were significant at the probability level, with some films absorbing more than 200% in 60 minutes. Through simultaneous optimization using Box-Behnken design, an ideal formulation containing 14.88% Gelatin (w/v), 15% glycerol (v/v), and 2.5% Bentonite (w/w) was obtained. The insertion of Sulfanilamide into the Bentonite structure was carried out by cation exchange at different pHs, and its entry was confirmed by XRD and TGA, where it was attested that the pH (pH = 4 and pH = 7) did not interfere with the amount of adsorbed antibiotic, remaining around 5%. Composite films containing antibiotics were effective against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* microorganisms, qualifying them as promising wound dressings.

Keywords: Wound dressing; Composite films; Gelatin; Bentonite; Sulfanilamide

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVOS GERAIS	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1	BIOPOLÍMEROS.....	12
3.1.1	Classificação dos biopolímeros	14
3.1.2	Mecanismos de degradação dos biopolímeros	15
3.1.3	Hidrólise dos biopolímeros	16
3.1.4	Degradação de biopolímeros por ação de microrganismos	16
3.1.5	Fotodegradação de biopolímeros	17
3.2	POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS: DESAFIOS E LIMITAÇÕES	18
3.3	GELATINA	19
3.3.1	Gelatinização	21
3.3.2	Solubilidade	21
3.3.3	Caráter anfotérico	22
3.3.4	Viscosidade	22
3.3.5	Propriedades emulsificantes	22
3.3.6	Filmes de gelatina e suas aplicações	23
3.4	APLICAÇÃO DE PLASTIFICANTES NA OBTENÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS.....	24
3.5	COBERTURAS À BASE DE GELATINA	26
3.5.1	Coberturas	26
3.5.2	Filmes	27
3.5.3	Hidrogéis	28
3.5.4	Hidrocoloides	28
3.5.5	Hidrofibra	29
3.5.6	Coberturas de alginato	29
3.5.7	Coberturas antibacterianas	30
3.5.8	Coberturas compósitas com ação antimicrobiana	30
3.6	BENTONITA	33

3.7	AGENTES ANTIBACTERIANOS UTILIZADOS PARA FUNCIONALIZAR COBERTURAS	36
3.8	COBERTURAS À BASE DE GELATINA-BENTONITA INCORPORADAS COM SULFANILAMIDA.....	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1	MATERIAL.....	41
4.2	PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO DE EXPERIMENTOS.....	42
4.3	PREPARO DOS FILMES	45
4.4	PREPARO DOS FILMES NA COMPOSIÇÃO OTIMIZADA CONTENDO SULFANILAMIDA.....	46
4.5	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE TROCA CATIONICA	46
4.6	CONTEÚDO DE UMIDADE DOS FILMES	47
4.7	CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA.....	47
4.8	ENSAIO DE SOLUBILIDADE DOS FILMES	47
4.9	TESTE DE DISCO-DIFUSÃO EM ÁGAR	48
4.10	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS	50
4.10.1	Difração de raios X (DRX).....	50
4.10.2	Fluorescência de raios X (FRX).....	50
4.10.3	Análise termogravimétrica (TG/DTG)	50
4.10.4	Análise química estrutural.....	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE PARTIDA	52
5.1.1	Caracterização da Gelatina	52
5.1.2	Análise química estrutural.....	52
5.1.3	Análise termogravimétrica	53
5.1.4	Caracterização da Bentonita	55
5.1.5	Análise química estrutural	55
5.1.6	Análise mineralógica por difração de raios – X.....	57
5.1.7	Fluorescência de raios – X	58
5.1.8	Análise termogravimétrica	60
5.1.9	Capacidade de troca cationica.....	62
5.1.10	Caracterização da Sulfanilamida	63
5.1.11	Análise química estrutural.....	63

5.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	65
5.2.1	Delineamento experimental de Box-Behnken (DBB)	65
5.2.2	Modelo de regressão e superfície de resposta para o conteúdo de umidade (U) ..	67
5.2.3	Modelo de regressão e superfície de resposta para a capacidade de absorção de água (Ab)	71
5.2.4	Modelo de regressão e superfície de resposta para a solubilidade (S) dos filmes.	75
5.3	OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEA E VALIDAÇÃO DO MODELO	78
5.3.1	Determinação da composição otimizada dos filmes	78
5.3.2	Validação do modelo.....	79
5.4	SÍNTESE DOS FILMES NA COMPOSIÇÃO OTIMIZADA CONTENDO ANTIBIÓTICO.....	81
5.4.1	Inserção de Sulfanilamida na estrutura da Bentonita por troca catiônica	81
5.4.2	Análise química estrutural da Bentonita contendo Sulfanilamida	84
5.4.3	Análise termogravimétrica da Bentonita contendo Sulfanilamida.....	86
5.5	FILMES COMPÓSITOS ANTIMICROBIANOS À BASE DE GELATINA.....	89
5.5.1	Filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida.....	89
5.5.2	Análise química estrutural dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida	89
5.5.3	Análise termogravimétrica dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida	91
5.5.4	Conteúdo de umidade e solubilidade dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida	92
5.5.5	Capacidade de absorção de água dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida	93
5.5.6	Testes <i>in vitro</i> dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida.....	95
6	CONCLUSÃO	97
	REFERÊNCIAS	98

1 INTRODUÇÃO

As infecções sempre foram um dos principais problemas no manejo e tratamento de feridas. Além disso, as infecções em feridas podem causar sérios problemas, como a formação de exsudatos, atraso na cicatrização e a deposição inadequada de colágeno, ainda estando relacionadas de forma crucial ao aumento de morbidade e de mortalidade (OKUR et al., 2020; SHAO et al., 2017).

Estima-se que 58 milhões de pessoas são afetadas por feridas graves anualmente, das quais 5 milhões morrem por não receberem atenção específica no tratamento de feridas, segundo dados da Organização Mundial de Saúde, OMS (VERMA et al., 2024). Portanto, a recuperação de feridas é uma questão médica, social e econômica, sendo o curativo o aspecto mais importante a se observar em um tratamento (SWETHA MENON et al., 2024).

A adesão bacteriana à cobertura é o primeiro passo no desenvolvimento da infecção, portanto, o desenvolvimento de novas coberturas com amplo espectro de atividade antimicrobiana para o tratamento de feridas é crucial. Nesse sentido, os materiais compósitos vêm ganhando destaque no tratamento de feridas.

Compósitos podem ser definidos como uma combinação de dois ou mais materiais que juntos originam um novo material. Tais materiais podem ser muito efetivos na construção de curativos antimicrobianos, possuindo também, ampla aplicação nos mais variados campos da ciência. Diversos biopolímeros vêm ganhando notoriedade na fabricação de compósitos com aplicações biomédicas, como: pectina, quitina, quitosana, alginato, colágeno, gelatina, queratina e diversos outros.

Os biopolímeros possuem propriedades interessantes para aplicações biológicas. Dentre as macromoléculas naturais, o colágeno e a gelatina são os mais apropriados para o desenvolvimento de curativos e de materiais biomiméticos para a pele humana, pois são de fácil obtenção, biocompatíveis, biodegradáveis e não possuem imunogenicidade considerável (GASPAR-PINTILIESCU; STANCIUC; CRACIUNESCU, 2019).

Soma-se a isso, a estrutura molecular variada da gelatina, que permite a formação de diferentes ligações químicas, característica que a torna atrativa na produção de filmes (HUBNER et al., 2020; NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014).

Contudo, a maioria dos filmes fabricados a partir de biopolímeros são naturalmente frágeis, necessitando da adição de plastificantes (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005). Plastificantes são compostos com baixa massa molar incorporados nas soluções formadoras de

filmes, com o objetivo de melhorar propriedades mecânicas do material resultante. Portanto, é de fundamental importância o controle da concentração de plastificante na solução formadora de filme como um parâmetro a ser otimizado. Inúmeros plastificantes estão disponíveis, sendo o glicerol o mais amplamente utilizado (JOMLAPEERATIKUL; POOMSA-AD; WISSET, 2017).

Materiais inorgânicos (óxidos, zeólitas e argilas) podem ser utilizados em filmes como suportes para liberação de fármacos, além de influenciarem processos como a coagulação sanguínea, proliferação de células, melhoria de propriedades mecânicas e térmicas (HUBNER et al., 2020; JIAN et al., 2020; XU et al., 2021).

A Montmorilonita, principal constituinte da argila Bentonita, tem sido estudada por décadas, devido a sua estrutura versátil e possibilidade de aplicações na indústria farmacêutica (JAYRAJSINH et al., 2017). A estrutura porosa da Bentonita pode acomodar, no espaço interlamelar, diferentes compostos orgânicos, sem perder a integridade cristalográfica e alcançando capacidades de troca catiônica de 70 – 120 meq/100 g. As interações com antibióticos são muito vantajosas no desenvolvimento de sistemas de liberação modificadas, pois estes sistemas vêm ganhando muito interesse nos campos farmacêutico e veterinário (JAYRAJSINH et al., 2017; RAPACZ-KMITA et al., 2017).

Embora uma ampla variedade de antibióticos seja conhecida, menos de 1% desse total é utilizado no manejo de feridas, devido a problemas de toxicidade e ou falta de absorção via células. Até agora, apenas antibióticos das classes dos aminoglicosídeos, beta-lactâmicos, glicopeptídicos, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclina foram utilizados para produção de curativos antimicrobianos (SIMÕES et al., 2018).

As Sulfonamidas possuem importante papel na medicina por serem os primeiros antibióticos sintéticos disponíveis para uso. Possuem amplo espectro de ação contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, tendo versatilidade de uso ainda como molécula antiviral, antifúngica, antiinflamatória e antitumoral. O mecanismo de ação das Sulfonamidas envolve a inibição da síntese do ácido fólico pelos microrganismos, sem o qual as bactérias não conseguem realizar a divisão celular (HELENA et al., 2023). Por tratar-se de uma molécula bastante estudada, segura e de baixo custo, a Sulfanilamida enquadra-se como potencial antibiótico na produção de coberturas antimicrobianas.

A adição de componentes como plastificante e argila à solução formadora de filme, afeta características físico-químicas e biológicas do filme resultante, de forma interdependente, e assim, a sua formulação deve ser cuidadosamente otimizada para a obtenção de um produto final com características desejadas (BAJIĆ et al., 2020).

A metodologia de superfície de resposta consiste em um conjunto de ferramentas estatísticas e matemáticas utilizadas para planejamento e otimização de experimentos. Essa metodologia possui a vantagem de relacionar variáveis independentes e de resposta, minimizando o número de experimentos e o uso de recursos (BAJIĆ et al., 2020; THAKUR et al., 2017).

Para a otimização de formulações, uma metodologia típica de superfície de resposta utilizada consiste no modelo de três níveis de Box-Behnken. Essa metodologia tem sido aplicada amplamente na síntese de filmes para aplicações biomédicas (LEI; ZHU; FAN, 2020; REZVANIAN et al., 2017; SASIKALA; RATHINAMOORTHY; DHURAI, 2018).

Portanto, a combinação de Gelatina, minerais inorgânicos e antibióticos de amplo espectro pode ser explorada com a finalidade de produção de filmes ativos, contribuindo de maneira satisfatória para o surgimento de curativos eficazes e de baixo custo.

2 OBJETIVOS

Nesta seção estão reunidos os objetivos propostos para a tese, subdivididos em GERAL e ESPECÍFICOS.

2.1 GERAL

Desenvolver filmes compósitos à base de Gelatina, Bentonita e Sulfanilamida com atividade antimicrobiana para coberturas de feridas.

2.2 ESPECÍFICOS

Para atingir este objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- Estudar as propriedades da Gelatina, Bentonita, Glicerol e Sulfanilamida para formulação dos filmes compósitos;
- Caracterizar os materiais de partida por meio de difração de raios-X, fluorescência de raios-X, espectroscopia por infravermelho, termogravimetria e capacidade de troca catiônica;
- Obter filmes compósitos em condições otimizadas por meio de planejamento de experimentos e caracterizá-los;
- Estudar a incorporação do antibiótico sulfanilamida na estrutura da Bentonita em diferentes níveis de pH.
- Produzir filmes compósitos contendo Sulfanilamida e caracterizá-los por meio de espectroscopia por infravermelho, termogravimetria, conteúdo de umidade, solubilidade e capacidade de absorção.
- Verificar a atividade antimicrobiana dos filmes compósitos contendo Sulfanilamida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Nesta seção serão apresentados vários temas necessários ao entendimento do trabalho proposto. A sequência de exibição da temática inicia-se pelo entendimento do que são biopolímeros e suas particularidades, ressaltando aplicações relevantes e atuais. Em seguida, aborda-se o tópico referente à gelatina, suas propriedades e usos, sobretudo na forma de filmes. Por fim, a aplicação dos filmes como coberturas são explicitadas, focando-se nas coberturas compósitas, objeto da presente pesquisa.

3.1 BIOPOLÍMEROS

Durante décadas, muitos produtos e materiais sintéticos, sobretudo derivados de petróleo, foram fabricados para satisfazer as necessidades humanas. Contudo, é de conhecimento geral que tais materiais possuem impacto em potencial a vida e ao meio ambiente, ocasionando efeitos nocivos à terra, água e ao ar (VINOD et al., 2020). Com o intuito de mitigar possíveis efeitos adversos ao meio ambiente, muitos esforços estão sendo concentrados no desenvolvimento de biomateriais (GEORGE et al., 2020). Assim, a produção e utilização de biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes surge como alternativa, alinhando viabilidade técnica e econômica, possibilitando uma rota de grande potencial de expansão (BRITO et al., 2011).

Biopolímeros são polímeros formados na natureza durante os ciclos de crescimento de todos os organismos e podem ser oriundos de diversas fontes de matérias-primas naturais, como as de origem vegetal, animal e até mesmo sintetizados por microrganismos (CHANDRA; RUSTGI, 1998; VIEIRA et al., 2011). Em geral, os polímeros são gerados pela repetição de uma unidade de construção chamada monômero. Os monômeros são constituídos por carbono (C), oxigênio (O), hidrogênio (H) e nitrogênio (N).

As propriedades físico químicas dos polímeros estão intrinsecamente ligadas aos tipo(s) de monômero(s) que os constituem, ao grau de polimerização e ao padrão/ordem de ligação (KABIR et al., 2020; VILELA et al., 2014). Diversas propriedades e atributos estão intimamente ligados à química dos biopolímeros, dentre as quais: densidade, capacidade para degradação/biodegradação, cristalinidade e temperaturas de transições, solubilidade e permeabilidade ao vapor e ao oxigênio (GEORGE et al., 2020).

A maioria dos biopolímeros são biodegradáveis, portanto, não possuem impacto destrutivo no meio ambiente, porque são derivados de fontes renováveis (SHARMA; MALIK;

JAIN, 2018), além disso, possuem excelente biocompatibilidade¹, baixa imunogenicidade² e, em alguns casos, atividade antibacteriana (JACOB et al., 2018). O desenvolvimento de biopolímeros produziu uma competição ideal com os polímeros derivados de combustíveis fósseis em termos de propriedades funcionais e custo de manufatura (GEORGE et al., 2020).

Além disso, por se originarem de fontes renováveis possuem ciclo de vida mais curto comparado com fontes fósseis como o petróleo que leva milhares de anos para se formar. Outros fatores que podem ser citados para a crescente utilização dos biopolímeros são: grande impacto ambiental nas atividades de extração e refino do petróleo para produção de polímeros, escassez de oferta e preço flutuante do petróleo, não biodegradabilidade da grande maioria dos polímeros petroquímicos, contribuindo assim para o acúmulo de lixo plástico que levará centenas de anos para ser assimilado pela natureza (BRITO et al., 2011).

O grande interesse pelo uso de biopolímeros consiste principalmente na sua biodegradabilidade, pois tal propriedade contornaria os efeitos negativos da acumulação persistente de resíduos sólidos (FRANCIS; SASIKUMAR; GOPALAN, 2013).

Biopolímeros são comumente utilizados para os seguintes propósitos:

- Embalagens de alimentos
- Sacolas plásticas para compostagem de resíduos alimentares e transporte de alimentos
- Produtos utilizados em refeições (pratos, talheres, copos, canudos)
- Agricultura
- Produtos de higiene
- Produtos médicos e odontológicos

Uma das áreas que mais tem ganhado a atenção dos pesquisadores é a que envolve aplicações biomédicas, por seu considerável impacto no contexto atual. Os bioplásticos têm sido utilizados de maneira satisfatória em implantes cirúrgicos para cirurgias ortopédicas e vasculares, enxertos, suturas biocompatíveis, curativos e sistemas de liberação controlada de medicamentos (GEORGE et al., 2020).

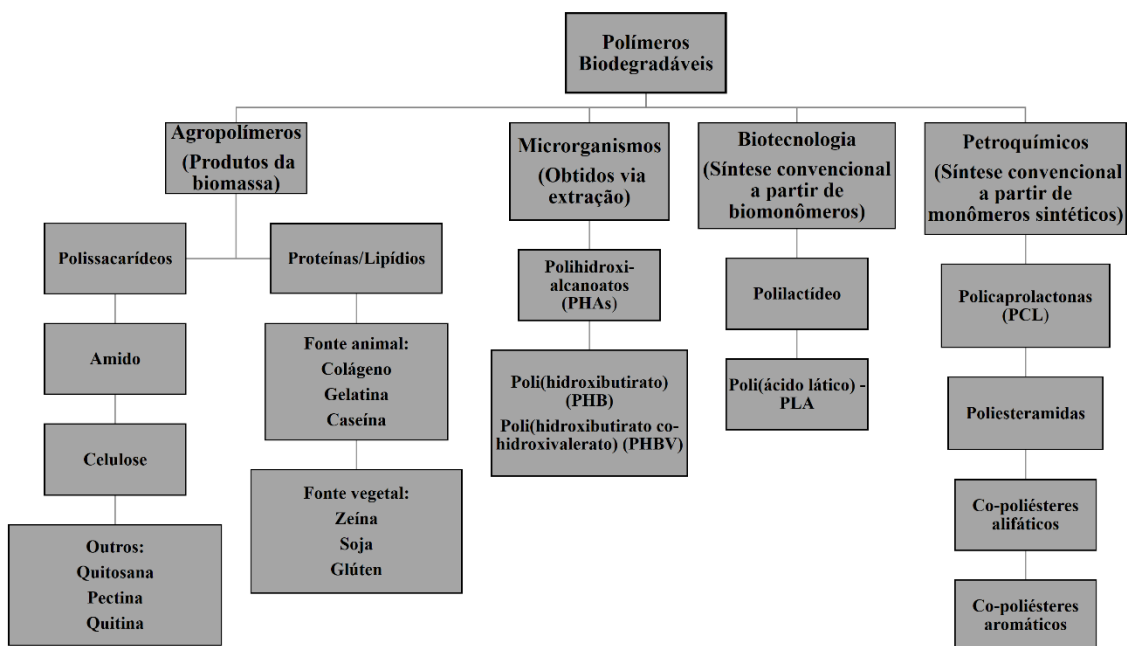
¹ Capacidade de um material desempenhar a sua função sem provocar efeitos tóxicos ou prejudiciais nos sistemas biológicos (HUZUM et al., 2021).

² É a capacidade de uma substância ou molécula provocar uma resposta imunológica (MAHANTY; PRIGENT; GARRAUD, 2015).

3.1.1 Classificação dos biopolímeros

Os biopolímeros podem ser classificados de diversas formas. Uma das mais comuns os separam em dois grandes grupos: biodegradáveis e não-biodegradáveis. Igualmente importante é a classificação com base na fonte de origem ou no método de obtenção dos polímeros: (i) obtidos de plantas (celulose, amido, zeína, pectina e lipídios), (ii) obtidos de animais (caseína, proteína do soro do leite, gelatina e quitosana), (iii) obtidos por meio de fermentação, (iv) obtidos por meio de síntese química de substâncias naturais e (v) obtidos de síntese química de fontes fósseis. Outra forma de classifica-los é com base na capacidade de resposta às condições térmicas, sendo elastômeros, termofixos ou termoplásticos (GEORGE et al., 2020; KABIR et al., 2020). A Figura 1 resume uma das classificações aceitas para os biopolímeros, com base na biodegradabilidade.

Figura 1 - Classificação dos biopolímeros com base na biodegradabilidade.



Fonte: Vinod et al., (2020) (adaptado)

3.1.2 Mecanismos de degradação dos biopolímeros

A degradação de biopolímeros vem recebendo significativa atenção no contexto atual, sobretudo no tocante ao acúmulo de resíduos sólidos. O grande desafio a enfrentar nos processos de biodegradação é a transformação dos materiais em monômeros e/ou sua completa mineralização nos constituintes de origem sem que nenhum efeito nocivo seja sentido no meio ambiente, isto é, sem que haja poluição, acúmulo de lixo em aterros e concentrações elevadas de poluentes orgânicos persistentes no solo.

O processo de degradação gera alterações na resistência e cor do material sob condições controladas. Inicialmente ocorre a degradação primária, também chamada de envelhecimento, onde algumas propriedades dos polímeros são alteradas, entretanto, diversos outros fatores também colaboram para uma maior taxa de degradação, como a temperatura e componentes químicos (PATHAK; NAVNEET, 2017).

Vale salientar que nem todos os biopolímeros são biodegradáveis. Observa-se que a presença de grupamentos hidroxilas em biopolímeros facilita a degradação por meio de hidrólise aquosa, já que uma maior interação com a água ocorrerá. Contudo, propriedades químicas e físicas devem ser levadas em consideração na avaliação da degradação de polímeros, como: estrutura química, área superficial, cristalinidade, hidrofobicidade/hidrofilicidade, peso molecular, ligações químicas presentes na estrutura, etc (KABIR et al., 2020).

Os processos de degradação de biopolímeros se enquadram em diversas categorias, dentre as quais (VINOD et al., 2020):

- Biodegradável: A degradação ocorre devido à presença de microrganismos.
- Hidrobiodegradável: A degradação ocorre em presença de microrganismos e água.
- Fotodegradável: Quebra de moléculas em presença de luz.
- Bioerodível: A degradação ocorre por meio de erosão natural (abrasão).
- Compostável: A degradação ocorre devido a ação bacteriana e melhora a qualidade do solo.

A seguir, são apresentados, de modo sucinto, os principais mecanismos de degradação que ocorrem em biopolímeros.

3.1.3 Hidrólise de biopolímeros

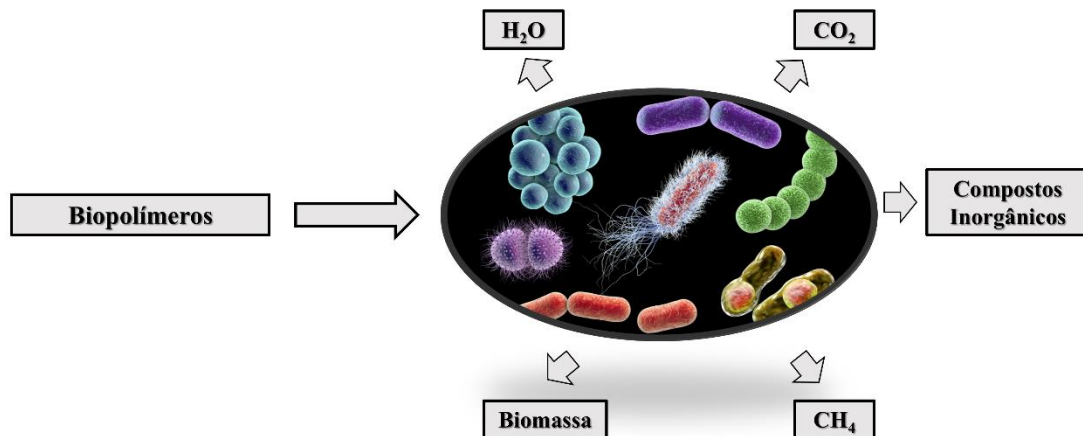
A hidrólise é considerada o mecanismo mais recorrente na degradação de biopolímeros. Em geral, a hidrólise desses componentes envolve a dissociação de ligações químicas da estrutura do polímero em presença de água, originando moléculas que posteriormente se tornam ácidos monoméricos solúveis em água por duas vias: erosão do bulk e de superfície. Na erosão do *bulk* polimérico, as moléculas de água difundem rapidamente pelos sítios amorfos, causando rápida perda de propriedades estruturais do biopolímero (KABIR et al., 2020). Na erosão por superfície, os materiais perdem massa primeiramente no seu exterior, sendo o seu interior desgastado posteriormente. O processo de hidrólise depende ainda de muitos outros fatores como pH, temperatura, hidrofobicidade, morfologia, cristalinidade e porosidade (BURKERSRODA; SCHEDL; GÖPFERICH, 2002).

3.1.4 Degradação de biopolímeros por ação de microrganismos

Os microrganismos agem quebrando componentes complexos em compostos mais simples por meio de transformação bioquímica. A transformação bioquímica conduz, na maioria das vezes, a uma completa mineralização dos componentes do substrato polimérico. Quando os compostos orgânicos são mineralizados por microrganismos produzem CO_2 e H_2O em condições aeróbias, e em condições anaeróbias CH_4 e CO_2 , como exemplificado na Figura 2, onde é possível observar a ação de microrganismos sobre substratos biodegradáveis.

Os processos de hidrólise, foto-oxidação e desintegração física podem favorecer o processo de biodegradação por meio do aumento da área superficial para ação dos microrganismos ou pela redução do peso molecular da cadeia polimérica. A biodegradação é descrita como alguma alteração das propriedades do polímero por meio de digestão por enzimas de microrganismos, redução de peso molecular, e perda de resistência mecânica e propriedades de superfície, em outras palavras, a decomposição do material em fragmentos menores via digestão microbiana (PATHAK; NAVNEET, 2017; SINGH; SHARMA, 2008).

Figura 2 - Degradação microbiana de biopolímeros



Fonte: Kabir et al., (2020) (adaptado)

O mecanismo de biodegradação de polímeros ocorre através de quatro diferentes vias: solubilização, formação de carga na estrutura com posterior dissolução, hidrólise e degradação enzimática (SINGH; SHARMA, 2008).

3.1.5 Fotodegradação de biopolímeros

Os raios ultravioletas (UV) compreendem uma faixa do espectro eletromagnético com comprimentos de onda que variam de 10 a 400 nm. Tais raios desempenham um papel crítico na fotodegradação de biopolímeros (GUILLET, 1968). A decomposição de polímeros por meio da luz é um processo no qual a luz solar interage com a estrutura do material, degradando-a. É considerado um dos primeiros processos danosos a ocorrer no substrato polimérico quando este encontra-se em condições ambientes. Geralmente, a faixa de radiação UV que compreende os comprimentos de onda que vão de 290-400 nm determinam o tempo de vida de materiais poliméricos em aplicações cotidianas, onde os plásticos são submetidos à exposição solar (SINGH; SHARMA, 2008).

A degradação do polímero ocorre, principalmente, em segmentos da cadeia carbônica onde são encontrados grupamentos do tipo éter, que por meio da irradiação da fonte luminosa são gerados grupamentos éster, aldeído, formiato e propil terminais (NAGAI et al., 2005). A radiação UV também possui energia suficiente para clivar a ligação C-C. O grau de dano ao polímero vai depender de alguns fatores como estrutura química e o comprimento de onda incidido no material. A fotodegradação altera propriedades físicas e óticas do plástico. Os

maiores danos perceptíveis são o amarelamento (efeito visual negativo), a perda de propriedades mecânicas e a perda de peso molecular (degradação da cadeia polimérica) (SINGH; SHARMA, 2008).

3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS: DESAFIOS E LIMITAÇÕES

Embora venham ganhando ampla utilização nos mais variados campos de aplicações, os biopolímeros ainda possuem limitações que impedem a consolidação de maneira generalizada. Um dos atributos marcantes no comparativo polímeros biodegradáveis *versus* polímeros sintéticos é o elevado custo de produção dos primeiros. Outro obstáculo é ausência de infraestrutura adequada para triagem, reciclagem e compostagem dos resíduos sólidos derivados de biopolímeros. Somado a esses fatores, têm-se a dificuldade para obtenção de alguns monômeros (SINGH; SHARMA, 2008).

Com a crescente demanda por biopolímeros, cresce também a necessidade de áreas cultiváveis para a produção de matéria-prima. Tal fato pode constituir impacto negativo na produção de alimentos, rações e pastagens para criação de animais. Entretanto, além do custo de produção pouco competitivo, algumas características técnicas são inferiores quando comparadas com os polímeros derivados de petróleo, como: baixa resistência física, mecânica e química. Além disso, a alta permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio tornam os bioplásticos inadequados para algumas aplicações, como em embalagens de alimentos (KABIR et al., 2020).

Diversas estratégias podem ser adotadas para o contorno de algumas limitações dos biopolímeros, como o uso de plastificantes e de materiais que combinados aos bioplásticos os tornam mais adequados para o uso. Um ponto importante a se considerar na utilização de polímeros biodegradáveis é o completo entendimento de onde e como o produto será degradado, reconhecer e reduzir o ciclo de impacto ambiental desses materiais, além de desenvolver tecnologias que permitam uma competição econômica viável com os produtos concorrentes (SINGH; SHARMA, 2008).

Mesmo com as limitações supracitadas, inúmeros biopolímeros já encontram aplicações práticas na indústria, sobretudo na área médica onde são utilizados para fabricação de implantes, transporte lento de drogas, tecidos sintéticos, coberturas, dentre outras finalidades. Alguns podem ser citados, como: amido, quitina, celulose, alginato, glúten, seda, lã, etc (FASCIOTTI, 2017).

A gelatina possui papel de destaque em aplicações biomédicas pois reúne características importantes para essas aplicações, dentre as quais, biocompatibilidade, baixa antigenicidade, biodegradabilidade, propriedades anticarcinogênicas, que conferem ao biopolímero capacidade para recuperação de ferimentos e granulação de tecidos (HARIRIAN et al., 2023).

3.3 GELATINA

Os polímeros naturais tornam a vida possível na Terra, pois compõem uma gama variada de materiais e componentes de fundamental importância para todos os seres vivos. As proteínas estão inclusas nesse rol de moléculas fundamentais para a vida. Dentre as inúmeras proteínas existentes, pode-se citar o colágeno como uma das mais importantes e utilizadas.

O colágeno é uma proteína estrutural e principal componente da matriz extracelular, servindo de base estrutural para pele, ossos, couro, tecido conectivo e cartilagens da maioria dos animais. O colágeno pode ser obtido de uma variedade de fontes, sobretudo daquelas oriundas de bovinos, equinos, suínos e de animais marinhos. A extração do colágeno resulta em sua forma insolúvel, solúvel em ácido ou na forma de sal neutro, sendo realizada por meio de simples hidrólise química ou enzimática (GASPAR-PINTILIESCU; STANCIUC; CRACIUNESCU, 2019).

Existem aproximadamente 29 tipos de colágenos isolados e identificados. A maioria do colágeno encontrado no corpo humano é do tipo I, localizando-se majoritariamente em tendões, pele, ossos e órgãos. Os métodos de isolamento de colágeno são bem documentados, bem como suas propriedades estruturais, físicas, químicas e imunológicas. Outras vantagens do seu uso são a inerente biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixa citotoxicidade (GORGIEVA; KOKOL, 2011).

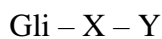
A gelatina é uma proteína obtida pela hidrólise parcial do colágeno. É uma substância transparente, incolor, frágil (quando seca), sem sabor, sólida e solúvel em água e solventes polares. Dependendo da fonte de colágeno e do modo de extração, a gelatina pode ser obtida com diferentes pesos moleculares e distintos pontos iso-iônicos (FRANCIS; SASIKUMAR; GOPALAN, 2013; GORGIEVA; KOKOL, 2011). Como é obtida do colágeno por uma hidrólise parcial controlada e não existe na natureza, a gelatina classifica-se como uma proteína derivada (KEENAN, 2003).

Dois tipos de gelatina podem ser comumente encontrados, tipo A e o B. A determinação do tipo ao qual a gelatina pertencerá, dependerá do tratamento prévio do colágeno. O tipo A possui ponto iso-iônico de 6-9 e é obtido por meio do tratamento ácido do colágeno, enquanto

que o tipo B, com ponto isoônico em torno de 5, é obtido por meio de tratamento básico (*liming*) do colágeno. Gelatinas derivadas da pele de suínos são normalmente classificadas como de tipo A e as derivadas de bovinos como do tipo B (NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014). O resultado dos distintos processamentos são gelatinas que possuem naturezas elétricas diferentes que se traduzem pela variação dos pontos isoônicos e isoélticos (YOUNG et al., 2005).

Com relação a sua composição química, a gelatina não pode ser considerada uma substância química isolada, mas sim uma mistura complexa de cadeias polipeptídicas. Em termos de aminoácidos a estrutura da gelatina se assemelhará com o colágeno que lhe deu origem, contemplando uma ampla faixa de pesos moleculares (KEENAN, 2003).

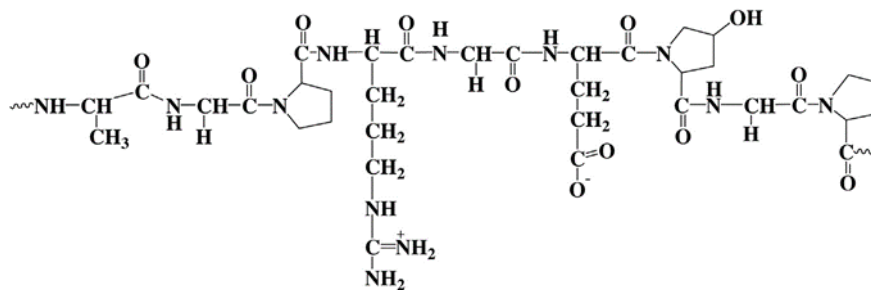
Algumas análises composicionais indicam que os aminoácidos mais presentes em sua estrutura são: Glicina, Prolina, Hidroxiprolina, Ácido glutâmico e Alanina (KEENAN, 2003). Os aminoácidos estão ligados entre si por meio de ligações peptídicas. Uma sequência típica encontrada na estrutura é:



onde X é, majoritariamente, Prolina ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$) e Y é, majoritariamente, Hidroxiprolina ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3$).

Na Figura 3 pode-se observar a representação de uma cadeia de gelatina, onde é possível visualizar os grupos funcionais presentes em sua estrutura, bem como as interações químicas por meio de ligações peptídicas entre eles.

Figura 3 - Estrutura representativa da gelatina



Fonte: Nur Hanani; Roos; Kerry, (2014) (adaptado)

A força do gel e a viscosidade são propriedades físicas importantes da gelatina. A força do gel, denominado também de valor *Bloom* é uma medida da força e da rigidez da gelatina, refletindo a distribuição média de pesos moleculares presentes em determinado tipo de gelatina.

Usualmente, os valores de *Bloom* situam-se entre 30 e 300, sendo os valores <150 considerados baixos, entre 150-220 valores médios e entre 220-300 valores elevados. Os valores elevados indicam boa resistência dos géis formados (NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014).

Os usos da gelatina baseiam-se em uma combinação de propriedades, tais como: efeitos sol-gel em soluções aquosas, viscosidade, habilidade para agir como estabilizador de emulsões, permeabilidade em água, insolubilidade em água fria, mas completa solubilidade em água quente, além de fatores nutricionais (NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014).

Por possuir propriedades únicas, a gelatina é amplamente utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e de fotografia. No ramo alimentício, o seu uso provê propriedades como: gelificação, emulsificação, estabilização e texturização em produtos de panificação, bebidas, confeitaria e em diversos outros setores. Em produtos farmacêuticos, a gelatina é utilizada para fabricação de cápsulas duras e moles, expansores de plasma, pomadas, curativos e emulsões. Em fotografia, os usos mais comuns da gelatina são como coberturas e emulsões aplicadas nas mais diversas fases de produção de materiais fotográficos e correlatos (KEENAN, 2003; NUR HANANI; ROOS; KERRY, 2014).

As propriedades fundamentais da gelatina são: gelatinização, solubilidade, caráter anfotérico, viscosidade e propriedades emulsificantes.

3.3.1 Gelatinização

A gelatinização é um processo pelo qual a gelatina forma géis. Quando colocada em água quente, sua capacidade de absorção de solvente pode chegar a 10 vezes do seu volume inicial. Após aquecimento acima do seu ponto de fusão, a gelatina intumescida se dissolve e forma um gel quando resfriada. Esta conversão sol-gel é reversível e pode ser repetida. Tal característica é usada em diversas aplicações tecnológicas (IMESON, 1997).

3.3.2 Solubilidade

Quando aquecida acima do seu ponto de fusão a gelatina forma soluções aquosas. Dissolve-se também facilmente em solventes, como: Glicerol, Propileno glicol, ácido acético e formamida. Em solventes não-polares a gelatina é praticamente insolúvel. O grau de solubilidade depende ainda de fatores como temperatura, concentração e tamanho das partículas. A solubilidade pode ser alterada por meio do uso de sais de metais e aldeídos (KEENAN, 2003; MARIOD; ADAM, 2013).

3.3.3 Caráter anfotérico

Dependendo do meio em que se encontre, ácido, básico ou neutro, a gelatina pode se comportar de diversas formas. Tal característica é devida aos grupos funcionais presentes nos aminoácidos da estrutura e dos grupamentos amina e carboxila terminais gerados na hidrólise. Em solução ácida, a gelatina encontra-se positivamente carregada e migra como um cátion em um campo elétrico. Em solução alcalina, a gelatina é carregada negativamente e migra como um ânion sob o efeito de um campo elétrico (KEENAN, 2003).

3.3.4 Viscosidade

A viscosidade é uma das características funcionais mais importantes produzidas pelas dispersões coloidais de gelatina (MARIOD; ADAM, 2013). Alguns parâmetros afetam a viscosidade da gelatina, como: pH, concentração da gelatina, temperatura, massa molecular, presença de impurezas e aditivos.

Em soluções aquosas acima de 40 °C, a gelatina exibe comportamento Newtoniano, ou seja, a sua viscosidade depende apenas da temperatura e pressão. Com o aumento de concentração e/ou diminuição da temperatura, as soluções de gelatina tendem ao aumento de viscosidade. Em temperaturas entre 30 °C e 40 °C, o comportamento não-Newtoniano é observado, isto é, a viscosidade é alterada em função da taxa de deformação imposta sobre o fluido. Tal comportamento é atribuído, provavelmente, a formação de aglomerados de gelatina via ligações químicas. A adição de sais age diminuindo a viscosidade dos sistemas em que a gelatina esteja presente e o efeito é mais pronunciado para soluções concentradas (KEENAN, 2003; SILVA, 2018).

3.3.5 Propriedades emulsificantes

A gelatina pode agir como protetor coloidal de forma eficiente, prevenindo a cristalização e a formação de agregados. Age como emulsificante em diversas aplicações, sobretudo naquelas envolvendo dispersões do tipo óleo em água (O/A) (KEENAN, 2003). A gelatina não só fornece estabilidade a longo prazo da dispersão coloidal, como também determina a morfologia e as dimensões das partículas coloidais durante a formação (LOBO, 2002). Os campos em que as propriedades tensoativas da gelatina são mais exploradas incluem a indústria alimentícia, farmacêutica e médica (MARIOD; ADAM, 2013)

3.3.6 Filmes de gelatina e suas aplicações

O uso de biofilmes para cobrir ou tratar feridas é largamente reportado desde os tempos mais remotos (GANESAN, 2017). Polímeros naturais são amplamente utilizados no campo da medicina regenerativa, sobretudo em coberturas para feridas e queimaduras devido a características como: biocompatibilidade, biodegradabilidade e a similaridade com a matriz extracelular. Por induzir e estimular o processo de cicatrização de feridas, os polímeros naturais estão envolvidos no reparo de tecidos danificados e, conseqüentemente, na regeneração da pele (MOGOŞANU; GRUMEZESCU, 2014).

Embora muitos biopolímeros sejam conhecidos e aplicados na formação de filmes, um dos mais estudados até o momento é a gelatina, sobretudo a de origem bovina (TYUFTIN; KERRY, 2021). A ampla utilização da gelatina deve-se ao fato da biocompatibilidade, pois a sua composição peptídica é similar a das fibras de colágeno presente nas cartilagens, o que facilita a adesão e proliferação celular (AHMADY; ABU SAMAH, 2021). Outras aplicações da gelatina no campo da medicina incluem: matriz de implantes, *scaffolds* (suportes), adesivos para formação de tecidos, hemostáticos, coberturas, selantes e fabricação de cápsulas (AHMADY; ABU SAMAH, 2021; PINKAS et al., 2017; ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

Baseado nas inúmeras pesquisas realizadas com ênfase na aplicação de filmes à base de biopolímeros, não há dúvidas da excelente capacidade de formação de filmes com integridade estrutural, boas propriedades mecânicas e de barreira (TYUFTIN; KERRY, 2021).

O processo de obtenção de filmes proteicos pode ser realizado de duas formas, por meio de via úmida (uso de solvente) ou por meio de via seca. O processamento úmido ou *casting* é baseado na dispersão ou solubilização da proteína em um solvente, enquanto que o processamento seco normalmente envolve o uso de calor em prensas, moldagem por compressão e extrusão.

Os filmes de gelatina são preparados, majoritariamente, pelo processo de *casting*, por ser um processo mais simples, não requerer equipamentos específicos e consumir menos material de partida. Contudo, para propósitos comerciais (*scale up*) o método de *casting* é impraticável em termos de capacidade de produção, tempo de produção e custos. A extrusão é uma alternativa mais eficiente no processamento de filmes proteicos em escala, pois é mais rápido, envolve menos etapas (*footprint*) e consome menos energia (NUR HANANI et al., 2012).

Os filmes contendo entre 4% e 8% de gelatina em solução aquosa possuem excelentes propriedades físicas, como: resistência à tração, alongamento na ruptura, resistência a

perfuração, resistência ao rasgo, resistência a acidez e basicidade, relativa permeabilidade ao oxigênio e permeabilidade a óleos (WANG et al., 2007). Destacam-se também, como de fundamental importância, as análises de absorção de água, umidade, perda de água em função do tempo, propriedades térmicas e de barreira (HUBNER, 2017).

Embora possua boas propriedades mecânicas, os filmes compostos de gelatina enfrentam algumas limitações sob determinadas condições, sobretudo às de secagem, tornando-se rígidos, quebradiços e com baixa capacidade de alongamento. Para minimizar tais limitações faz-se necessário a modificação dos filmes com materiais e compostos químicos adequados.

3.4 APLICAÇÃO DE PLASTIFICANTES NA OBTENÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS

Uma das formas eficientes de modificação dos filmes poliméricos é a utilização de plastificantes. Os plastificantes são moléculas de baixa volatilidade adicionadas aos materiais poliméricos que permitem modificações funcionais nos filmes, sobretudo o aumento da extensibilidade, dispensabilidade, flexibilidade, elasticidade, rigidez e melhora nas propriedades mecânicas (SUDERMAN; ISA; SARBON, 2018).

Outra definição dada pela IUPAC é: “uma substância ou material incorporado a outro material (geralmente plástico ou elastômero) para aumentar sua flexibilidade, trabalhabilidade ou distensibilidade”. Portanto, a função primária dos plastificantes é a de aumentar a flexibilidade e a processabilidade dos polímeros por meio do abaixamento da temperatura de transição vítrea (T_g) (VIEIRA et al., 2011).

O mecanismo de ação dos plastificantes, de forma simplificada, consiste na ocupação de espaços intermoleculares entre as cadeias poliméricas, reduzindo as forças de atração entre elas. Além disso, estas moléculas alteram a organização molecular tridimensional dos polímeros, reduzindo a energia requerida para movimentação molecular e a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias. Como consequência, observa-se um aumento do volume livre e, portanto, da mobilidade molecular. Assim, o grau de plasticidade dos polímeros é muito dependente da estrutura química do plastificante, incluindo a composição química, massa molar e grupos funcionais (VIEIRA et al., 2011).

Para seleção de um determinado plastificante que integrará um sistema deve-se levar em consideração alguns fatores, principalmente os relacionados a compatibilidade entre os componentes (polímero/plastificante), a permanência do plastificante na estrutura, a quantidade necessária e as características físicas almejadas para o produto final (CAO; YANG; FU, 2009; LAI; KARIM; CHEE, 2006).

A polaridade das moléculas plastificantes exerce efeito importante sobre a eficiência de plastificação. Plastificantes polares devem ser utilizados juntamente com polímeros que contém grupos polares para obtenção de boa compatibilidade, pois há uma chance maior de o plastificante superar as forças de atração entre as cadeias do polímero à medida que a distância entre os grupos polares ao longo dessas cadeias aumente (SUDERMAN; ISA; SARBON, 2018).

A classe de plastificantes mais utilizada na modificação de propriedades de filmes é a dos polióis. Estão incluídos nesse grupo o glicerol, polietilenoglicol (PEG), sorbitol, propilenoglicol (PG) e etilenoglicol (EG), contudo, reporta-se também na literatura o uso de óleos vegetais, ceras de lecitina, oligossacarídeos e aminoácidos (GHASEMLOU; KHODAIYAN; OROMIEHIE, 2011; TYUFTIN; KERRY, 2021). Dentre esses plastificantes, os hidrofílicos mostraram-se particularmente eficientes na plastificação de filmes de gelatina (SUDERMAN; ISA; SARBON, 2018).

O sorbitol e glicerol são os plastificantes mais utilizados em filmes à base de gelatina, contudo, o sorbitol possui a limitação de cristalizar, dependendo das condições de estocagem, no interior do polímero, fazendo com que algumas características importantes dos filmes sejam comprometidas (VANIN et al., 2005). Por outro lado, o glicerol é utilizado há décadas como plastificante em filmes proteicos. Os grupos hidroxilas em sua estrutura podem formar ligações de hidrogênio com os polímeros, enfraquecendo as ligações polímero-polímero, levando a um aumento na mobilidade das moléculas e ao decréscimo da temperatura de transição vítrea (T_g) (ÖZEREN et al., 2021).

Glicerol ou, de acordo com a nomenclatura da IUPAC, propan-1,2,3-triol, contém três grupos hidroxilas em sua estrutura que são responsáveis por seu caráter higroscópico e a solubilidade em água (HEJNA et al., 2016). O glicerol é atóxico para o meio ambiente e para a saúde humana, incolor, inodoro, higroscópico, solúvel em água, não irritante para a pele e mucosas humanas, exceto em elevadas concentrações (CHONG et al., 2020).

A estrutura do glicerol incorpora-se como componente principal na estrutura de todos os lipídeos conhecidos como triglicerídeos, constituintes das gorduras animais e dos óleos vegetais. Suas aplicações mais clássicas incluem: aditivo da indústria alimentícia, produção de fármacos e cosméticos, anticongelantes, explosivos, ração animal, etc (HEJNA et al., 2016).

A obtenção do glicerol é feita por meio da produção de sabão ou do biodiesel. Atualmente, 10% do glicerol é obtido por hidrólise, 12% pela saponificação e 50-80% por meio da transesterificação. Estima-se que a produção mundial de glicerol é de aproximadamente 41,9 bilhões de litros por ano (KAUR et al., 2020; QUISPE; CORONADO; CARVALHO, 2013).

A glicerina, outro nome não oficial para o glicerol, já era conhecida desde 2800 aC, quando foi isolada por aquecimento de gordura misturada com cinzas para produzir sabão. No entanto, considera-se que foi descoberto em 1779 pelo farmacêutico suíço K. W. Scheele, que foi o primeiro a isolar este composto, aquecendo uma mistura de litargírio (PbO) com azeite.

Em 1811, o químico francês M. E. Chevrel chamou de glicerina um líquido, definindo posteriormente as fórmulas químicas dos ácidos graxos e as fórmulas da glicerina em óleo vegetal e gordura animal. Todo esse trabalho rendeu-lhe uma patente.

Assim, por meio dos trabalhos de Chevrel, os fabricantes de sabão do século XIX puderam ter uma ideia do processo químico envolvido, bem como adequar a matéria-prima necessária. Ficou conhecido como o primeiro método para obtenção de sabão de glicerina, reagindo gordura com cal e material alcalino (QUISPE; CORONADO; CARVALHO, 2013).

3.5 COBERTURAS À BASE DE GELATINA

Nesta seção serão abordados inicialmente conceitos referentes aos curativos dos mais variados tipos, aplicações, propriedades, vantagens e desvantagens, finalizando, de forma detalhada, no tipo de cobertura utilizada no presente trabalho.

3.5.1 Coberturas

As coberturas podem ser definidas como materiais que cobrem feridas para protegê-las de danos e promover a cicatrização (DONG; GUO, 2021). Muita atenção tem sido dada ao desenvolvimento de novas coberturas devido, principalmente, a alta taxa de incidência de feridas e o elevado custo para tratá-las (FAROKHI et al., 2018).

Uma cobertura ideal deve preencher alguns requisitos, técnicos e financeiros, como: (a) manter o ambiente local úmido da ferida; (b) permitir trocas gasosas; (c) remover o excesso de exsudato; (d) proteger a ferida de microrganismos, infecções ou contaminações; (e) evitar a dessecação da ferida; (f) reduzir a necrose da superfície da ferida; (g) estimular os fatores de crescimento; (h) fornecer proteção mecânica; (i) ser de fácil remoção, não alergênico, atóxico, biocompatível e biodegradável; (j) colaborar com a redução da dor causada pela ferida e ser de custo acessível; e (k) ser facilmente esterilizável (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017).

As coberturas podem ser classificadas, quanto ao desempenho, em (BORGES et al., 2008):

- Passivas: protegem e cobrem as feridas;

- Interativas: mantêm um microambiente úmido, facilitando a cicatrização;
- Bioativas: fornecem elementos necessários à cicatrização, estimulando a cura da ferida.

Quanto a sua relação de contato com o leito da ferida, em (BORGES et al., 2008):

- Primárias: são aquelas colocadas diretamente sobre a ferida;
- Secundárias: são aquelas colocadas sobre a cobertura primária, quando necessário.

As coberturas ainda podem ser classificadas de outras formas, como por exemplo: tradicionais, biológicas e artificiais (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017). Também podem ser inseridas em categorias genéricas, como: coberturas básicas de contato; coberturas avançadas; e coberturas especializadas (HOLLOWAY; HARDING, 2022).

A descrição dos tipos mais comuns de coberturas é dada abaixo.

3.5.2 Filmes

Esta categoria compreende uma gama variada de materiais, sintéticos, naturais e misturas entre ambos. São transparentes, semi-permeáveis, com presença ou ausência de ponto absorvedor (ilha de absorção). São impermeáveis a bactérias e podem ser utilizados na liberação de drogas, geralmente antibióticos, no leito da ferida.

Os filmes são vantajosos devido a flexibilidade, permitindo a utilização em áreas difíceis como articulações, ou seja, eles conformam-se ao corpo do paciente, permitem alguma evaporação de umidade, reduz a dor, provê barreira externa a contaminação e permite a inspeção da ferida sem necessitar retirar a cobertura.

As maiores desvantagens são a possibilidade de dor na remoção e a limitação de uso apenas em feridas com pouco exsudato (HOLLOWAY; HARDING, 2022; SAVENCU et al., 2021). Ture (2019) sintetizou filmes à base de gelatina e alginato contendo hidroxiapatita e tetraciclina para possível uso como cobertura, obtendo excelentes efeitos inibitórios quando testados em *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

3.5.3 Hidrogéis

Hidrogéis são caracterizados como vastas redes macromoleculares hidrofílicas, produzidas por ligações cruzadas, químicas e/ou físicas, de polímeros solúveis. Devido a propriedades peculiares, como: alta sensibilidade ao ambiente fisiológico, natureza hidrofílica, elevado conteúdo de água e adequada flexibilidade os hidrogéis são excelentes candidatos para aplicações biomédicas (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017).

Estes curativos estão disponíveis como géis ou folhas e podem atuar doando ou absorvendo umidade, ficando a aplicação sujeita a quantidade de exsudato do ferimento (HOLLOWAY; HARDING, 2022).

As vantagens desse tipo de cobertura são: capacidade de hidratar e fornecer um ambiente úmido a ferida, promover debridamento autolítico, não aderir ao leito da ferida, ser de fácil remoção e não causar dor nem danos ao ferimento. Entre as desvantagens, pode-se citar: fraca barreira a microrganismos, alto custo, não adequado para ferimentos com elevado teor de exsudato e estabilidade mecânica baixa quando entumescido (LEI et al., 2019). Mousavi et al., (2019) fabricaram e compararam curativos à base de gelatina, colágeno e quitosana no desempenho de crescimento de fibroblastos e a adesão de células ao curativo, obtendo bons resultados.

3.5.4 Hidrocolóides

As coberturas de hidrocolóides são elaboradas principalmente utilizando-se materiais absorptivos como Carboximetilcelulose (CMC), Pectina e Gelatina.

Assim como hidrogéis, os hidrocolóides podem absorver quantidades moderadas de exsudato. Como são oclusivos, esse tipo de cobertura não permite a passagem de água, oxigênio e bactérias para o interior do ferimento, além de ocasionar redução no pH na superfície do ferimento, prejudicando o crescimento bacteriano (VOWDEN; VOWDEN, 2017).

A capacidade absorptiva da cobertura de hidrocolóide é oriunda das partículas coloidais (gelatina, pectina, CMC) que, em contato com o exsudato, transforma-se em uma substância gelatinosa.

A cobertura de hidrocolóide pode ser indicada para vários tipos de ferimentos e tem como vantagens: manter o leito da ferida úmido e levemente acidificado; possuem capacidade absorptiva rápida; formam géis que podem proteger terminações nervosas expostas, reduzir a dor

e não causar danos mecânicos; são à prova de água; bacteriostáticos; previnem poluição por fezes e urina; são autoadesivos e fáceis de utilizar.

Entre as desvantagens pode-se citar: não podem ser utilizados em ferimentos muito exsudativos e infeccionados; resíduos deixados no leito da ferida podem ser confundidos com infecções bacterianas; são fortemente pegajosos, podendo ocasionar danos à pele na remoção; são opacos e podem dificultar a análise do ferimento (LEI et al., 2019).

3.5.5 Hidrofibra

Esta cobertura trata-se de uma variante da de hidrocolóide com propriedades absorptivas melhoradas, chegando a absorver 25 vezes o seu peso antes de perder a integridade mecânica.

A estrutura do curativo auxilia na absorção vertical, o que, por sua vez, ajuda o risco de maceração da pele. Este tipo de cobertura deve ser utilizado como cobertura secundária (VOWDEN; VOWDEN, 2017). Kwak, Kim, Lee (2019) fabricaram fibras à base de gelatina contendo nanopartículas de prata por um método “verde”, utilizando-se como solvente a água e como agente de reticulação a sacarose. O material foi promissor para aplicações biomédicas, sendo capaz de inibir bactérias gram-positivas e gram-negativas quando incorporados 50 ppm de prata nas coberturas.

3.5.6 Coberturas de alginato

Essa categoria refere-se a coberturas derivadas de algas marinhas, contendo alginatos e, em algumas ocasiões, cálcio, sendo, portanto, hemostáticas.

Todas as coberturas de alginato requerem níveis de moderado a alto de exsudato, porque sua principal função é absorvê-lo. Os alginatos são capazes de absorver 20 vezes o seu peso em fluídos, e podem ser utilizados em feridas infectadas ou não. Como são muito absorventes, não devem ser utilizados em ferimentos secos ou com pouco exsudato. Necessitam também de uma cobertura secundária, geralmente um hidrocoloide ou espuma. Podem permanecer no leito da ferida por muitos dias, exceto quando há infecção (HOLLOWAY; HARDING, 2022; VOWDEN; VOWDEN, 2017).

Balakrishnan et al., (2005) desenvolveram um tipo de cobertura que se forma *in situ* à base de gelatina, alginato e bórax. Os autores afirmam ainda que a vantagem dessa cobertura é agregar o efeito hemostático da gelatina, as propriedades cicatrizantes do alginato e o efeito antisséptico do bórax.

3.5.7 Coberturas antibacterianas

A cicatrização de uma ferida envolve múltiplos fatores, sendo a infecção por microrganismos um dos mais preocupantes. A infecção da pele e de tecidos macios são os tipos mais comuns de infecções, atingindo milhões de pessoas anualmente em todo o mundo (LEI et al., 2019; SIMÕES et al., 2018). Uma ferida aberta é um nicho favorável para a colonização microbiana, sendo causa comum de morbidade e mortalidade (HANSES, 2017; WOODFORD; LIVERMORE, 2009),

Geralmente, as feridas contaminadas apresentam microbiota diversa, oriunda sobretudo do ambiente externo e da pele adjacente a lesão. Em estágios iniciais da formação da lesão estão presentes, majoritariamente, microrganismos gram-positivos, especificamente *S.aureus*.

Em estágios mais avançados, podem-se fazer presentes microrganismos gram-negativos como *E.coli* e *Pseudomonas*, que tendem a colonizar áreas mais profundas da pele, causando danos severos aos tecidos.

Para contornar tais situações, diferentes abordagens envolvendo materiais intrinsecamente antimicrobianos, inserção de agentes antimicrobianos e modificações de superfícies estão sendo usadas para fabricação de coberturas antimicrobianas. As coberturas envolvem diferentes materiais (sintéticos e naturais) e apresentam-se de variadas formas físicas (esponjas, hidrogéis, hidrocolóides, filmes, membranas e etc.) (SIMÕES et al., 2018).

3.5.8 Coberturas compósitas com ação antimicrobiana

Um material compósito consiste, de maneira geral, em qualquer material multifásico que exiba uma proporção significativa das propriedades das fases que o constituem, sendo almejado a melhoria de tais propriedades por meio da combinação (CALLISTER JR, 2002).

As coberturas compósitas podem ser utilizadas como coberturas de uma ou duas camadas e para uma variedade de tipos de feridas (LEI et al., 2019). E, assim como todas as categorias de coberturas anteriormente descritas, as coberturas compósitas podem enquadrar-se como coberturas antimicrobianas, sendo necessário, contudo, abrigar em sua estrutura algum agente antibiótico ou possuir de forma inata propriedades antimicrobianas.

Vários tipos de coberturas compósitas utilizam como base coberturas tipicamente “clássicas” modificadas para o uso como cobertura antimicrobiana. Meng et al., (2021) desenvolveram esponjas compósitas de quitosana, alginato e ácido hialurônico para aplicação como cobertura, exibindo boas propriedades físicas, mecânicas e biológicas.

Wang et al., (2021) prepararam uma cobertura compósita de hidrogel antimicrobiano à base de gelatina, quitosana, fibras e folhas de *Centella asiatica*, sendo, portanto, uma cobertura livre de antibióticos sintéticos (*antibiotic-free*).

Barbosa et al., (2021) desenvolveram nanofibras compósitas contendo extrato de *Aloe Vera* como agente cicatrizante e quitosana como agente antimicrobiano, além do polissacarídeo Pululano e ácido cítrico, mostrando-se efetivas frente à *E.coli*, além de apresentarem boa absorção de água e promover a adesão e o crescimento de células.

Outros tipos de coberturas compósitas que vêm ganhando espaço são as que contêm peptídeos antimicrobianos em sua estrutura. Os peptídeos antimicrobianos são oligopeptídeos compostos de resíduos de aminoácidos arranjados de forma linear ou cíclica. Estas moléculas são produzidas de maneira inata por plantas, animais, fungos, protozoários e bactérias, possuindo características catiônicas, aniônicas ou anfifílicas. Além disso, apresentam atividade biológica contra bactérias gram-positivas, gram-negativas, vírus, fungos, protozoários e tumores de diversas naturezas (THAPA; DIEP; TØNNESEN, 2020).

Lin et al., (2019) utilizaram o peptídeo antimicrobiano Tet213 como agente bactericida em uma cobertura composta por alginato, ácido hialurônico e colágeno. A cobertura mostrou-se efetiva contra três patógenos: *E.coli*, *S.aureus* e *S.aureus* resistente à meticilina. Além da eficiência antibacteriana, a cobertura apresentou boas propriedades mecânicas, elevado grau de absorção (*swelling*), porosidade apropriada para liberação do peptídeo e biodegradabilidade.

Outros peptídeos antimicrobianos frequentemente citados na literatura, nesse tipo de aplicação são a vancomicina, melitina e octapeptídeos (THAPA; DIEP; TØNNESEN, 2020).

Óleos essenciais também são amplamente aplicados na medicina como antimicrobianos. Abdollahi, Raoufi, (2022) utilizaram o óleo essencial de olíbano ou franquincenso (*Boswellia carterii*) e o extrato de *Teucrium polium* em coberturas à base de gelatina, goma persa e nanocelulose bacteriana, obtendo-se boas atividades antimicrobianas e antiinflamatórias, além de natureza não hemolítica.

Diversos estudos vêm demonstrando a eficácia dos óleos essenciais no campo das coberturas, como o de orégano (SOBCZYK et al., 2021), a resina de mirra (AJITERU et al., 2022), entre outros.

Coberturas compósitas contendo materiais inorgânicos vêm ganhando popularidade pela versatilidade de uso. São descritas coberturas contendo zeólitas, óxidos, argilas e outros materiais dotados de porosidade (GARCÍA-VILLÉN et al., 2020).

Os materiais inorgânicos possuem vantagens como suportes para liberação controlada de antimicrobianos, além de influenciar processos como a coagulação sanguínea, estímulo a

proliferação de células, melhoria de propriedades mecânicas e térmicas (HUBNER et al., 2020; JIAN et al., 2020; XU et al., 2021).

As argilas naturais são adequadas para o uso em sistemas de liberação controlada de fármacos, podendo ser projetadas para fornecer níveis terapêuticos do medicamento ao local de ação e mantê-los durante todo o tratamento (ILIESCU et al., 2011). A montmorilonita, principal constituinte da argila bentonita, tem sido estudada por décadas por sua estrutura versátil e possibilidade de aplicações na indústria farmacêutica (JAYRAJSINH et al., 2017).

3.6 BENTONITA

Argila é um material natural, terroso, de granulação fina, que geralmente adquire plasticidade quando umedecido com água. São formadas, essencialmente, por silicatos hidratados de alumínio, ferro e magnésio (DA SILVA et al., 2017).

Outra definição caracteriza argila como uma rocha finamente dividida, composta por argilominerais, minerais associados, matéria orgânica e impurezas, contendo, predominantemente, partículas de diâmetro menor que 2 μm (NASCIMENTO, 2018). Os argilominerais são os minerais constituintes das argilas que, além de conferir propriedades e características as argilas, recebem esse nome por estar em maiores quantidades em sua estrutura (SOUZA, 2021).

A palavra Bentonita deriva da localização geográfica na qual o primeiro depósito dessas argilas foi estabelecido em Fort Benton, Wyoming, nos Estados Unidos. Essa terminação técnica aplica-se a argilas com granulação muito fina composta por minerais do tipo esmectitas, sobretudo a montmorilonita que responde por 60%-95% do argilomineral presente na estrutura (SOUZA, 2021).

A unidade estrutural da Montmorilonita consiste em duas folhas tetraédricas de silício que cobrem uma folha octaédrica de alumínio entre elas, conforme Figura 4. A estrutura possui ânions óxido na ponta de subunidades tetraédricas que são orientadas para átomos de silício, frequentemente substituídos por alumínio, ferro e/ou outros cátions. Enquanto que as subunidades octaédricas contêm íons de alumínio que são substituídos por íons de silício e circundam os átomos de hidroxila presentes na extremidade axial dos planos tetraédricos (EDELMAN; FAVEJEE, 1940).

A composição usual da Montmorilonita é $[(\text{Na},\text{Ca})_{0,33} (\text{Al}, \text{Mg})_2(\text{Si}_4 \text{O}_{10})(\text{OH})_2.n\text{H}_2\text{O}]$. As imperfeições da rede cristalina e a substituição isomórfica induzem uma carga líquida negativa na estrutura, que leva a adsorção de íons de metais alcalino-terrosos no espaço interlamelar. Tais imperfeições são responsáveis pela atividade e por reações de troca iônica com compostos orgânicos e inorgânicos (ILIESCU et al., 2011; JAYRAJSINH et al., 2017).

aumentar o número de fibras de colágeno na pele e uma variedade de outros tecidos (NONES et al., 2015).

A Montmorilonita atraiu muita atenção devido à sua capacidade de liberação controlada de drogas, sua mucoadesividade e potente efeito de desintoxicação via adsorção, que contribuem sinergicamente para maior eficácia dos medicamentos (FENG et al., 2009; KEVADIYA; JOSHI; BAJAJ, 2010).

Além disso, as argilas utilizadas em cremes, pós ou emulsões, promovem aumento do número de fibras de colágeno, sugerindo que o mecanismo de proteção da bentonita seja via absorção de alérgenos e melhoria de função de barreira da pele. As argilas também são eficientes na redução de danos de tecidos associados ao inchaço, quando aplicados externamente em situações de traumas graves (EMAMI-RAZAVI et al., 2006).

Em nutrição animal, a Bentonita é utilizada como absorvente/adsorvente. A Montmorilonita, especificamente, é um potente desintoxicante para os intestinos, podendo absorver metabólitos, toxinas e bactérias, bem como íons hidrogênicos associados a acidose (SLAMOVA et al., 2011; SUN; RANGANATHAN; FENG, 2008).

3.7 AGENTES ANTIBACTERIANOS UTILIZADOS PARA FUNCIONALIZAR COBERTURAS

A descoberta de compostos naturais que exibem atividade antimicrobiana foi um grande avanço no tratamento de doenças infecciosas, como as infecções de pele.

Embora milhares de antibióticos sejam conhecidos, menos de 1% estão correntemente sendo utilizados, devido a toxicidade ou a absorção deficiente em células hospedeiras. Até agora, apenas aminoglicosídeos, betalactâmicos, glicopeptídeos, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclina têm sido utilizados em coberturas com propriedades antimicrobianas. Entre os diferentes antibióticos incorporados até agora em curativos, os mais populares são: tetraciclina, ciprofloxacina, gentamicina e sulfadiazina (SIMÕES et al., 2018).

Como alternativa aos antibióticos convencionais, as nanopartículas, sobretudo as de metais, têm sido estudadas amplamente devido a capacidade antimicrobiana elevada contra inúmeras cepas, além da minimização de efeitos colaterais adversos e ausência de resistência microbiana em decorrência do seu uso. Dentre as nanopartículas metálicas de maior destaque estão as de prata e de ouro, apresentando efeito antibacteriano e antiinflamatório (BERTHET et al., 2017; SALOUTI; AHANGARI, 2014).

Nanopartículas de prata têm recebido considerável atenção em aplicações biomédicas devido a sua ampla inibição frente a quase 650 espécies de microrganismos, e, sobretudo, contra cepas bacterianas resistentes a antibióticos convencionais. Além disso, a química e a morfologia das nanopartículas de prata podem ser facilmente ajustadas para a melhoria da sua atividade antimicrobiana (RAGHAVAN et al., 2016).

Com a melhoria da atividade antimicrobiana, por meio do advento da nanotecnologia, menores concentrações de prata puderam ser utilizadas e incorporadas nos sistemas para cicatrização de feridas exercendo o mesmo grau de efeito. A redução do teor de prata nas nanopartículas refletirá também na redução de possíveis interferências nos processos biológicos e químicos da cicatrização ocasionadas por elas próprias (NAM et al., 2015).

Alguns exemplos de coberturas comercialmente disponíveis contendo prata são: Acticoat®, Aquacel Ag® e Silvasorb® (SIMÕES et al., 2018). Vale salientar que os metais nas suas formas iônicas também são amplamente utilizados, tendo destaque a prata e o cobre. A prata iônica possui a maior atividade antimicrobiana dentre todos os íons metálicos, sendo vastamente empregada em medicamentos de uso tópico, especialmente para tratamentos de queimaduras e infecções oculares (PEHLIVAN et al., 2005).

Os produtos naturais com capacidade antimicrobiana são conhecidos há séculos, sendo vastamente utilizados como agentes na prevenção de doenças e no cuidado a saúde. Em pesquisas recentes, a Organização Mundial de Saúde (OMS) constatou que quase 80% da população mundial depende dos medicamentos tradicionais. Atualmente, muitas coberturas levam em suas composições produtos naturais com funções antibióticas, como por exemplo: mel, óleos essenciais e quitosana (ESSA; MANICKAVASAGAN; SUKUMAR, 2012; SIMÕES et al., 2018).

O mel como medicamento já é conhecido desde o Egito antigo. Contudo, o uso do mel como opção para tratamentos de feridas tem se tornado uma área de pesquisa em pleno desenvolvimento, com excelentes resultados clínicos. O mel possui diversos atributos positivos para os processos de cicatrização, incluindo poder antibacteriano, atividade debridante e desodorizante, antiinflamatória e de epitelização. A ação antimicrobiana do mel pode ser atribuída a sua acidez inerente, baixo conteúdo de água, peróxido de hidrogênio, peptídeos, flavonoides e ácidos fenólicos. Inúmeros curativos contendo mel são atualmente comercializados, como: MediHoney®, Activon Tulle®, Algivon® e Actilite® (PACKER et al., 2012; SIMÕES et al., 2018).

Outra classe de substâncias amplamente utilizadas em coberturas são os óleos essenciais. Óleos essenciais são misturas naturais voláteis extraídas de diferentes partes da planta (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes) e são compostos de terpenóides, estruturas com amplas atividades. Já é bem estabelecido que os óleos essenciais contêm metabólitos vegetais secundários voláteis, que exibem propriedades inseticidas, antioxidantes, antiinflamatórias, antialérgicas e anticancerígenas, além de características antimicrobianas (SEOW et al., 2014).

Fitoquímicos, que se originam sobretudo de óleos essenciais, são produtos químicos com estruturas relativamente complexas e têm mecanismos diferentes dos antimicrobianos tradicionais. Eles podem ser categorizados, geralmente, em alcalóides, flavonóides, isoflavonas, monoterpenos, ácidos fenólicos, carotenóides, etc. Nas plantas, os fitoquímicos ajudam a proteger a planta contra radiação UV, herbívoros e patógenos, atuando também como sinalizadores para microorganismos e polinizadores benéficos. Os fitoquímicos mais ativos isolados dos óleos essenciais foram timol, carvacrol, ρ -cimeno, γ -terpineno, 1,8-cineol, cisocimeno, cânfora, linalol, terpineno-4-ol, tujona, limoneno, α -bisabolol e camazuleno. Outros fitoquímicos reconhecidamente antimicrobianos são o eugenol, perilaldeído, cinamaldeído e ácido cinâmico (SEOW et al., 2014).

Além dos antimicrobianos citados anteriormente, destaca-se como de amplo uso a quitosana, notável por ser um biopolímero inerentemente antibiótico. A quitosana é um homopolímero natural não ramificado obtido da quitina, subproduto abundante do processamento de frutos do mar, via reação de desacetilação com álcalis. Possui boa capacidade de formação de filmes e devido a sua alta versatilidade tem sido utilizada em diversos ramos de aplicações, como: indústria de alimentos, indústria biomédica, liberação controlada e remediação ambiental. Na área de curativos as propriedades antimicrobianas da quitosana já são exploradas comercialmente em produtos sob os nomes Hidroki®, Patch®, Chitopack®, Tegisorb® e KytoCel®. Diversos modelos sugerem que a capacidade de inibição de microorganismos origina-se da natureza catiônica da quitosana. As interações eletrostáticas entre os sítios positivos do polímero com os sítios negativos da parede celular bacteriana desencadeariam a lise celular, inativando-as. Além disso, a quitosana poderia interagir com nutrientes essenciais às bactérias, impedido seu crescimento (GOY; MORAIS; ASSIS, 2016; SIMÕES et al., 2018).

3.8 COBERTURAS À BASE DE GELATINA-BENTONITA INCORPORADAS COM SULFANILAMIDA

O grupo das Sulfonamidas compreende uma família de moléculas que contém o grupo funcional (SO_2NH), utilizadas farmacologicamente para uma gama variada de infecções humanas e animais, incluindo: amidalite, septicemia, meningite meningocócica, disenteria bacilar e inúmeras infecções do trato urinário (OVUNG; BHATTACHARYYA, 2021a).

A Sulfanilamida, (4-aminobenzenosulfonamida) pertence ao grupo das sulfonamidas, agentes antimicrobianos sintéticos comumente utilizados em tratamentos contra microrganismos gram-negativos e gram-positivos, como também em tratamentos de infecções por fungos e protozoários (PETROVIĆ et al., 2017). A Sulfanilamida constitui-se em uma boa escolha para tratamento de infecções por ser de baixo custo e possuir ações antimicrobianas e antiinflamatórias (MA et al., 2015).

As sulfonamidas agem bloqueando a síntese de moléculas essenciais aos microrganismos. O mecanismo de ação envolve a mimetização de um substrato necessário para o metabolismo celular das bactérias. Esse processo faz com que as enzimas bacterianas se liguem ao antibiótico ao invés do substrato normal. Em particular, as sulfonamidas atuam como tetraidrofolato, molécula necessária para a síntese do ácido fólico em células bacterianas. O ácido fólico é vital no metabolismo de síntese dos ácidos nucleicos e aminoácidos, por esse motivo, as sulfonamidas acabam interrompendo a produção de DNA, RNA e aminoácidos.

Embora as sulfonamidas sejam consideradas boas e eficazes no tratamento de várias doenças e infecções, são recomendadas e administradas com cautela devido à sua toxicidade e efeitos colaterais (ETEBU; ARIKEKPAR, 2016). Alguns dos efeitos adversos mais descritos na literatura incluem problemas gástricos e do trato respiratório, diarreia, vômito, deficiência de folato, dores de cabeça e candidíase (OVUNG; BHATTACHARYYA, 2021a). Uma das estratégias para contornar a toxicidade de antibióticos aos tecidos humanos, pode ser a formulação de compósitos capazes de liberá-los de forma lenta e localizada (AMBROGI et al., 2017).

As zeólitas e argilas são extensivamente utilizadas como carreadores de substâncias antibióticas, capazes de inibir o crescimento bacteriano em conexão com a administração e distribuição controlada dos antimicrobianos.

A estrutura em camadas organizadas de forma específica e a alta capacidade de troca iônica dos aluminossilicatos são acompanhadas pela elevada área superficial e capacidade de adsorção, carga negativa superficial, estabilidade química, e baixa ou mesmo nula toxicidade,

tornam esses materiais particularmente atrativos para aplicações biomédicas (RAPACZ-KMITA et al., 2017).

Inúmeros trabalhos citam o uso de Bentonita (Montmorilonita) associados a polímeros e antibióticos como forma de mitigar os efeitos citotóxicos da liberação localizada dos antimicrobianos.

Ambroggi et al., (2017) utilizaram a Montmorilonita em associação com quitosana e clorexidina com atividade antibiofilme, obtendo melhora considerável com relação a citotoxicidade quando utilizado como cobertura.

Rapacz-Kmita et al., (2017) utilizaram a Montmorilonita e o antibiótico gentamicina no estudo de diferentes temperaturas para intercalação do antibiótico na estrutura da argila, como também a avaliação das propriedades antibióticas frente à bactéria *E. coli*.

Kevadiya et al., (2014) utilizaram a Gelatina como biopolímero em conjunto com a Montmorilonita e o ciprofloxacino como antibiótico obtendo excelentes resultados na sua liberação sustentada. Os testes com células evidenciaram que o material compósito induz a progressão na cicatrização de ferimentos.

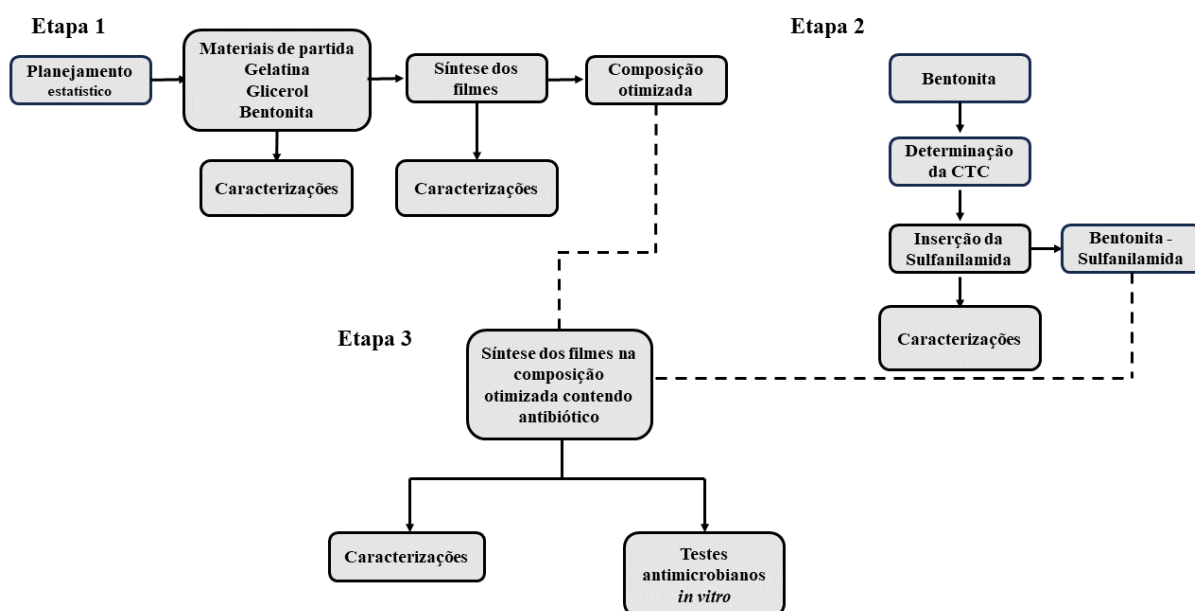
Até onde se sabe, poucos trabalhos foram reportados investigando a inserção de Sulfanilamida em compósitos formados por Bentonita e Gelatina. Nesse sentido, o desenvolvimento e o estudo de novas coberturas, sobretudo as que utilizam materiais acessíveis como a do presente estudo, possibilitam o fortalecimento das bases científicas do cuidado e tratamento de feridas. Pela relevância da temática, faz-se necessário o desenvolvimento de coberturas simples, baratas e eficazes que consigam contornar os problemas sociais e econômicos envolvidos no tratamento de feridas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A presente seção objetiva apresentar a metodologia utilizada na realização dos experimentos, descrevendo reagentes, materiais, técnicas e equipamentos.

Os experimentos de síntese dos filmes foram realizados no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos – UFRN/FACISA. As caracterizações foram realizadas no Laboratório de Peneiras Moleculares – LABPEMOL/UFRN e no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte – IFRN/Currais Novos. A Figura 5 sumariza as etapas, de maneira simplificada, do desenvolvimento do trabalho.

Figura 5 – Fluxograma simplificado das etapas do trabalho.



Fonte: autor

4.1 MATERIAL

A Gelatina utilizada na elaboração dos filmes foi a gelatina do tipo A, derivada da pele de porco, com *Bloom number* ~300, adquirida da empresa (Sigma-Aldrich, EUA). Glicerol P.A. (Sigma-Aldrich, EUA) e a argila Bentonita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Sigma-Aldrich, EUA), Sulfanilamida puríssima (Dinâmica, Brasil). Todos os reagentes eram de grau analítico.

4.2 PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO DE EXPERIMENTOS

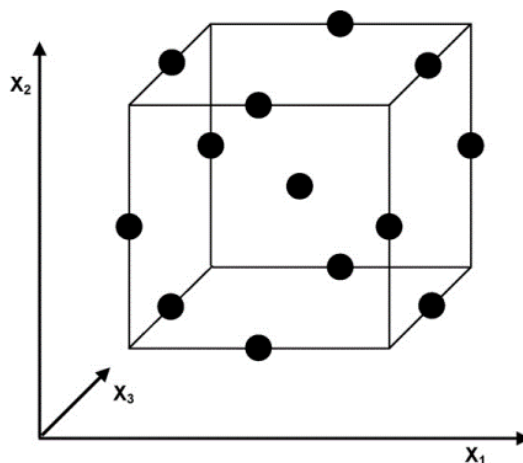
A etapa de elaboração dos filmes deste estudo foi realizada por meio de planejamento estatístico. O uso dessa abordagem se justifica por se tratar de uma ferramenta poderosa empregada para estudar o efeito de inúmeras variáveis que afetam a resposta ou características de um processo ou produto. Por meio do planejamento estatístico de experimentos pode-se obter inúmeras vantagens, como: (1) diminuição do número de ensaios; (2) o estudo de um número elevado de fatores; (3) redução de custos; (4) detecção de interações entre fatores; (5) detecção de níveis operacionais ótimos; (6) melhoria da precisão dos resultados; (7) otimização dos resultados (MACEDO et al., 2014).

Elaborou-se um planejamento de experimentos que contemplasse as variáveis mais importantes do sistema em estudo, quais sejam: concentrações de Gelatina, Glicerol e Bentonita. Trata-se de um delimitamento do tipo Box-Behnken com 3 níveis e 3 fatores, totalizando 15 ensaios, sendo 3 ensaios de repetições no ponto central.

Os pontos foram escolhidos com base em valores reportados na literatura, levando-se em conta critérios importantes para a formação de filmes baseados em biopolímeros. Para a formação de filmes de gelatina, recomenda-se uma faixa entre 4% – 20% em massa de polímero (TONICIELLI RIGUETO et al., 2022; TYUFTIN; KERRY, 2021), a adição de plastificante não deve ser inferior a 12%, sob risco dos plastificantes perderem a função desejada, tendo como ótima a faixa entre 20-40% (BEN; SAMSUDIN; YHAYA, 2022; PAUDEL; REGMI; JANASWAMY, 2023). Por fim, a quantidade de Bentonita pode variar muito dependendo do objetivo a que se destina a sua adição ao polímero, entretanto, baseado em trabalhos que utilizaram a gelatina como matriz polimérica os valores flutuaram entre 2% e 10% (DAI et al., 2022; FLAKER et al., 2015; GE et al., 2015; RIBEIRO et al., 2018).

O delineamento Box-Behnken (DBB) está inserido em uma classe de delineamentos de segunda ordem rotativos ou quase rotativos baseados em experimentos fatoriais incompletos de três níveis. A sua representação pode ser vista na Figura 6, sendo um cubo que consiste no ponto central e nos pontos médios das arestas (FERREIRA et al., 2007).

Figura 6 - Cubo de representação do delineamento de Box-Behnken.



Fonte: Ferreira et al., (2007)

O número de experimentos no delineamento do tipo Box-Behnken é definido como $N = 2k(k-1) + C_0$ (onde k é o número de fatores e C_0 a quantidade de pontos centrais). Para efeitos de comparação, a quantidade de experimentos no delineamento rotacional composto é $N = 2^k + 2k + C_0$ (FERREIRA et al., 2007; HIBBERT, 2012). Portanto, a metodologia de Box-Behnken foi escolhida em detrimento do delineamento composto central rotacional em virtude da realização de menos experimentos, prezando-se pelo fator economicidade, sem perda de informações importantes.

Além disso, a comparação entre o DBB e outras metodologias de superfície de resposta tem demonstrado que o DBB é ligeiramente mais eficiente que o delineamento composto central rotacional e muito mais eficiente que o fatorial completo de três níveis, levando-se em conta a eficiência como o número de coeficientes estimados no modelo dividido pelo número de experimentos (FERREIRA et al., 2007).

A matriz dos experimentos é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1- Matriz do planejamento experimental

Série	Valores reais ^a			Valores codificados ^b		
	x ₁	x ₂	x ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	5,0	15,0	5,0	-1	-1	0
2	15,0	15,0	5,0	+1	-1	0
3	5,0	35,0	5,0	-1	+1	0
4	15,0	35,0	5,0	+1	+1	0
5	5,0	25,0	2,5	-1	0	-1
6	15,0	25,0	2,5	+1	0	-1
7	5,0	25,0	7,5	-1	0	+1
8	15,0	25,0	7,5	+1	0	+1
9	10,0	15,0	2,5	0	-1	-1
10	10,0	35,0	2,5	0	+1	-1
11	10,0	15,0	7,5	0	-1	+1
12	10,0	35,0	7,5	0	+1	+1
13 (C)	10,0	25,0	5,0	0	0	0
14 (C)	10,0	25,0	5,0	0	0	0
15 (C)	10,0	25,0	5,0	0	0	0

^a Valores reais: x₁ – Concentração de gelatina (m/v); x₂ – concentração de glicerol (v/v); x₃ – Concentração de argila bentonita (m/m; calculado pela massa de gelatina).

^b Valores codificados: X₁ – o nível codificado de gelatina; X₂ – o nível codificado de glicerol; X₃ – o nível codificado de argila bentonita.

Com relação a análise estatística, todas as medidas foram feitas em replicatas (triplicata ou duplicata) e os valores médios utilizados na análise. O software Minitab (versão 12, Statsoft) foi utilizado para obtenção dos coeficientes de regressão, gráficos de Pareto e superfícies de resposta. A qualidade do modelo foi avaliada pelo parâmetro R², R² ajustado e análise de variância (ANOVA). A robustez do modelo foi verificada por meio do Teste de Fisher (TesteF). Para o teste de Tukey foi utilizado o software livre PaSt – Palaeontological Statistics.

A solução numérica dentro das restrições do modelo foi calculada pelo software Minitab[®] (versão 12, Statsoft) empregando abordagem baseada em função desejabilidade (*desirability function*).

A função desejabilidade propicia a conversão de múltiplas respostas em uma única, por meio da combinação de respostas individuais em uma função composta seguida de sua otimização. De maneira mais técnica, a abordagem consiste em converter modelos de resposta estimados, que geralmente são de segunda ordem, em funções desejabilidade individuais que são então agregadas em uma função composta. Esta função geralmente é uma média geométrica ou aritmética, que será maximizada ou minimizada, respectivamente (COSTA; LOURENÇO; PEREIRA, 2011).

4.3 PREPARO DOS FILMES

Os filmes compósitos à base de Gelatina foram preparados de acordo com o método *casting* (fusão), o qual consiste na desidratação de uma solução formadora de filme (filmogênica) adequadamente aplicada em um suporte.

As concentrações iniciais de Gelatina, plastificante e argila seguiram estritamente o planejamento experimental. Inicialmente, uma determinada quantidade de gelatina foi hidratada em um béquer a temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida, a temperatura foi elevada para 50 °C, sob agitação magnética, por mais 30 minutos. O glicerol foi adicionado à solução de gelatina, sob agitação, a 50°C por mais 15 minutos para a efetivação das reações de plastificação. Após, ocorreu a adição da argila no sistema gelatina/glicerol, sob agitação e a temperatura de 50°C, até completa homogeneização. Posteriormente, a solução resultante foi colocada em uma placa de petri, mantendo-se a massa adicionada de solução constante (20g). A secagem dos filmes ocorreu em estufa com circulação forçada de ar a 30°C por 24h. Após a secagem, os filmes foram acondicionados em dessecador com umidade relativa controlada entre 53-58% para posteriores caracterizações (HUBNER et al., 2020; SOBRAL et al., 2001).

Após o processo de otimização, chegou-se à formulação contendo 14,88 % de Gelatina (m/v), 15 % de glicerol (v/v) e 2,5 % de Bentonita (m/v), a qual foi utilizada ao longo deste trabalho. Antes de prosseguir com as etapas de caracterização e funcionalização com antibiótico, esta formulação foi confeccionada e caracterizada, com o intuito de validação dos resultados obtidos por meio do planejamento estatístico.

4.4 PREPARO DOS FILMES NA COMPOSIÇÃO OTIMIZADA CONTENDO SULFANILAMIDA

Os filmes produzidos na composição otimizada contendo o antibiótico Sulfanilamida, diferem dos demais pelo fato da inserção do antibiótico. O antibiótico foi inserido na estrutura da argila bentonita em pH distintos, a fim de avaliar o impacto na adsorção do fármaco. Por meio de troca catiônica em pH = 4 e em pH = 7, a Sulfanilamida foi adsorvida na estrutura porosa da argila e, posteriormente, utilizada na síntese dos filmes ativos.

4.5 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE TROCA CATIÔNICA

O processo de troca catiônica para a obtenção da capacidade de troca da argila foi realizado pelo método do azul de metileno. Em um béquer, reuniu-se 300 mL de água destilada e 0,5 g da argila Bentonita. Adicionou-se a esse conjunto, 2 mL de azul de metileno 0,01 mol/L. Após cada incremento de azul de metileno, uma gota foi retirada e colocada em papel filtro. O ponto de viragem ocorre quando a mancha formada pela difusão da gota no papel apresentar aura azul clara. A Capacidade de Troca Catiônica (CTC), calculada por este método, foi de $93 \pm 1,7$ meq/100g. A equação utilizada para o cálculo foi:

$$\text{Equação 1: } CTC = \frac{V.C.100}{M_{MMT}}$$

Onde:

CTC: capacidade de troca catiônica em meq/100g

V: volume, em mL, da solução de azul de metileno

C: Concentração da solução de azul de metileno

M_{MMT} : Massa da argila utilizada.

O processo de troca catiônica na argila para inserção do antibiótico deu-se da seguinte forma: Em um béquer, reuniu-se 50 mL de água destilada, 2 g de argila Bentonita e 0,320 g de Sulfanilamida (1 CTC). A quantidade de antibiótico foi calculada por meio da Equação 2:

$$\text{Equação 2: } Sulfanilamida (g) = \frac{CTC}{100 g} \cdot M_{MMT} \cdot \frac{MM_{Sulfanilamida}}{1000}$$

O conjunto permaneceu em agitação por 24h em temperatura ambiente e em diferentes pHs (4 e 7). Para secagem, utilizou-se uma estufa com circulação forçada de ar por 24h a 60°C. Em seguida, o material foi conduzido para a estufa com secagem à vácuo por mais 24h em 70°C.

4.6 CONTEÚDO DE UMIDADE DOS FILMES

A umidade dos filmes foi calculada pelo método gravimétrico (Equação 3). O método consiste na medida da massa dos filmes (1cm²) em uma balança analítica, antes e após a secagem em estufa em temperatura de 105°C por 24h (BAJIĆ et al., 2020).

$$\text{Equação 3: } \textit{Umidade} (\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

onde m_i e m_f referem-se, respectivamente, a massa inicial e a massa final dos filmes.

4.7 CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA

O método consiste, basicamente, na medição da capacidade de absorção de água por meio de amostras dos filmes (1cm²). As amostras foram previamente pesadas e, em seguida, imersas em 50 mL de água destilada (25°C) por 1, 15, 30, 45 e 60 min. Após, o excesso de água foi retirado dos filmes cuidadosamente com auxílio de papel toalha, e a massa medida novamente. A Equação 3 forneceu a medida da capacidade de absorção dos filmes (HUBNER et al., 2020; TÜRE, 2019).

$$\text{Equação 4: } \textit{Absorção} (\%) = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100$$

onde m_i e m_f são, respectivamente, a massa inicial e final dos filmes.

4.8 ENSAIO DE SOLUBILIDADE DOS FILMES

Os filmes foram cortados em peças retangulares com diâmetro de 1 cm x 2 cm, pesadas e imersas em 100 mL de água bidestilada a 25°C por 24h. Após, a amostra foi retirada e secada a 105°C por 24h. Os resultados foram expressos como a diferença entre a massa inicial e a massa final (TÜRE, 2019).

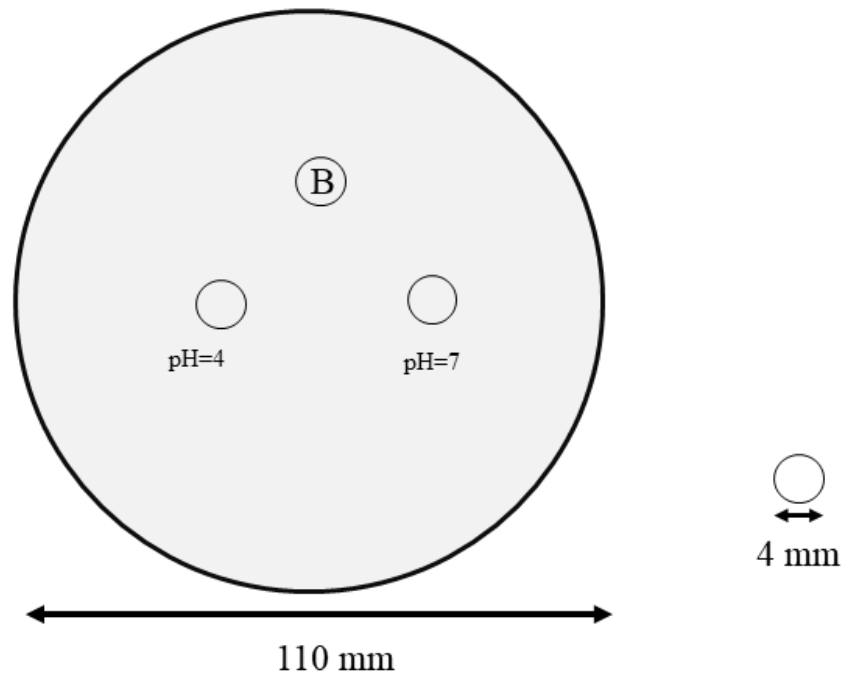
$$\text{Equação 5: } S(\%) = \left(\frac{m_i - m_d}{m_i} \right) 100$$

onde m_i e m_d são, respectivamente, massa inicial e massa do filme degradado (calculado após secagem da amostra).

4.9 TESTE DE DISCO-DIFUSÃO EM ÁGAR

Os testes antimicrobianos foram realizados em triplicata, por meio de disco-difusão em ágar (método de Kirby-Bauer). Discos de 4 mm de diâmetro foram obtidos dos filmes preparados previamente. Em cada placa contendo Ágar Mueller Hinton (TM MEDIA) foram inoculados três discos que correspondiam ao branco (filme de gelatina com Bentonita) e aos dois filmes contendo Sulfanilamida adsorvida em diferentes pHs (pH= 4 e pH = 7), conforme Figura 7. Os inóculos bacterianos testados foram ajustados previamente em espectrofotômetro para corresponder a 0,5 na escala de Mc²-Farland, o que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ bactérias/mL. Após a semeadura, as placas foram incubadas a 35°C por 24h. A inibição foi constatada utilizando-se paquímetro manual para medição dos halos. A medição dos halos é feita levando-se em consideração o diâmetro do disco aplicado mais a área da zona opaca (halo). Os resultados foram expressos em milímetros (mm).

Figura 7- Representação esquemática do teste de disco-difusão.



Fonte: Autor

4.10 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

Os materiais preparados no presente trabalho foram caracterizados por meio das técnicas apresentadas a seguir.

4.10.1 Difração de raios – X (DRX)

Os difratogramas de raios X da Bentonita e da gelatina foram obtidos com um aparelho Bruker D2 Phaser (Bruker, Alemanha), utilizando-se radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), equipado com filtro de Ni, corrente de 10 mA, voltagem de 30 KV, munido de detector Lynxeye, faixa 2θ de 2° - 40° . Os resultados foram expressos por meio de gráfico de intensidade por ângulo 2θ .

4.10.2 Fluorescência de raios X (FRX)

A Bentonita foi caracterizada por fluorescência de raios X em um aparelho Bruker S2 Ranger (Bruker, Alemanha) utilizando radiação Pd ou Ag anôdo Max. Power 50 W, máxima voltagem 50 kV, corrente máxima 2 mA, detector XFlash[®] Silicon Drift. Os resultados foram expressos em termos dos óxidos dos metais analisados.

4.10.3 Análise Termogravimétrica (ATG/DTG)

Os ensaios de análise termogravimétrica (ATG) foram realizados no equipamento Netzsch modelo TG209F1 Libra (Netzsch, Alemanha). O cadinho utilizado para análise era de Platina, o gás de purga N_2 com vazão de 20 mL/min, a razão de aquecimento foi de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ até temperatura final de 900°C . Os resultados foram expressos em gráficos da porcentagem de perda de massa pela temperatura de análise em $^\circ\text{C}$.

4.10.4 Análise química estrutural

Os materiais, Bentonita, gelatina, Sulfanilamida e glicerol foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF) para verificação de grupos funcionais em suas estruturas. O espectro foi obtido em um espectrômetro modelo Shimadzu – IRSpirit (Shimadzu, Japão). Os espectros foram obtidos em unidades de

transmitância, na faixa de frequência 600-3500 cm^{-1} , sendo cada espectro coletado 32 vezes. Os resultados foram expressos em gráficos de transmitância por número de onda em cm^{-1} .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados e discutidos, inicialmente, os resultados referentes às caracterizações dos materiais de partida. Em seguida, os resultados do planejamento experimental e, por fim, os filmes sintetizados na composição otimizada contendo o antibiótico em estudo.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE PARTIDA

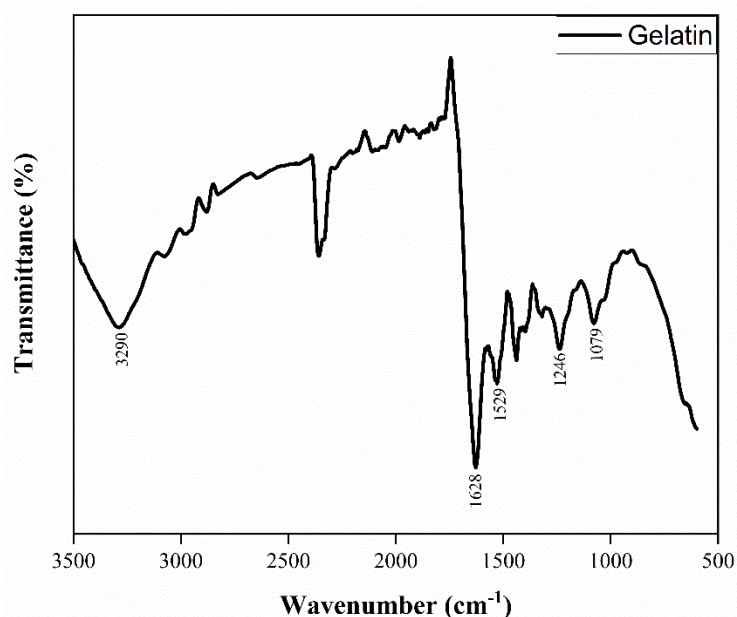
Nesta seção estão reunidas as caracterizações referentes aos materiais de partida utilizados na síntese dos filmes compósitos.

5.1.1 Caracterização da Gelatina

As técnicas de caracterização aqui reunidas foram utilizadas com o intuito de elucidar propriedades e fornecer subsídios teóricos para o entendimento da formação dos filmes à base de gelatina. A gelatina foi caracterizada por meio de FTIR e TG/DTG.

5.1.2 Análise química estrutural

A análise química estrutural por meio da espectroscopia de infravermelho auxilia na resolução da estrutura de moléculas através da interação de grupos funcionais específicos em determinados números de onda. A Figura 8 apresenta o espectro obtido para a Gelatina em estudo. A banda observada em 3290 cm^{-1} é característica do alongamento das ligações N-H em amidas (HUBNER et al., 2020). Outra banda característica ocorre em 1628 cm^{-1} e é devida à absorção de C=O das amidas (Banda de Amida I). Em 1529 cm^{-1} ocorre uma banda de Amida II ($1570\text{-}1515\text{ cm}^{-1}$) que se origina na interação entre a deformação angular de N – H e a deformação axial de C – N do grupo C – N – H. Geralmente essa banda tem metade a um terço da intensidade da banda de Amida I (C = O). Uma segunda banda, mais fraca, em 1250 cm^{-1} , também é oriunda da interação entre a deformação angular de N – H e a deformação axial de C – N. Por fim, a banda em 1079 cm^{-1} está relacionada a vibrações de estiramento das ligações C – O, comumente presente em carboidratos (HUBNER et al., 2020; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2012).

Figura 8 - Espectro de infravermelho da Gelatina.

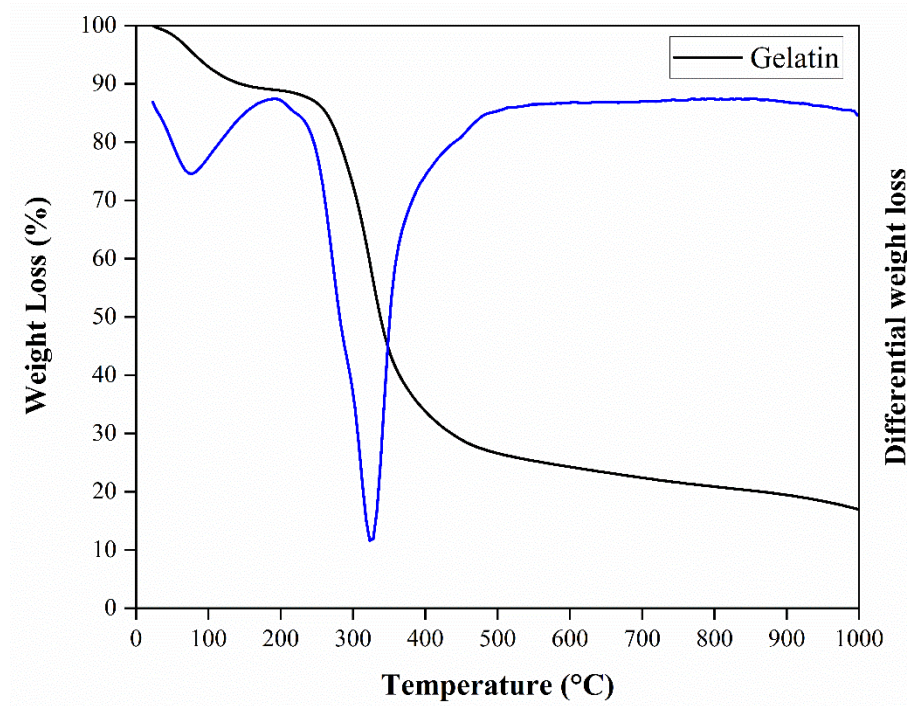
Portanto, pela análise qualitativa do padrão gerado para o espectro de infravermelho e pela identificação de bandas características dos grupos funcionais presentes em uma molécula de gelatina, a estrutura é condizente com a gelatina do tipo A derivada de pele suína.

5.1.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTG)

A análise termogravimétrica permite caracterizar um material por meio de perdas de massa em faixas de temperatura específicas. Na Figura 9, encontra-se o termograma referente a Gelatina utilizada nos experimentos. É possível observar duas regiões nítidas de perda de massa. A primeira compreendida entre 50 – 170 °C, referente à perda de água livre ou da água ligada às cadeias poliméricas da gelatina, como também de outros componentes voláteis nessa faixa de temperatura. A perda de massa relacionada a essa primeira faixa fica em torno de 10 %. Resultados semelhantes foram obtidos por Ínal, Mülazimoğlu (2019), onde na faixa de 40 a 175°C foram perdidos 8,285% de massa relacionada a água (livre ou absorvida). Outro fato que reforça a evidência da retirada de água da estrutura da gelatina é a intensificação da perda em torno de 100°C, temperatura em que ocorre a ebulição da água (HUBNER, 2017). A segunda região de perda de massa encontra-se entre 228 – 400°C. Pode-se observar que a temperatura máxima de degradação é 323°C, onde 59,51% de massa é perdida. A perda de massa nessa região está relacionada a degradação térmica da cadeia polimérica da gelatina (RUJITANAROJ; PIMPHA; SUPAPHOL, 2008).

A gelatina possui boa estabilidade térmica, evidenciada pelas temperaturas de degradação elevadas, mostrando-se um material promissor na tecnologia de filmes para as mais variadas aplicações.

Figura 9 - Curva termogravimétrica e sua derivada da Gelatina.

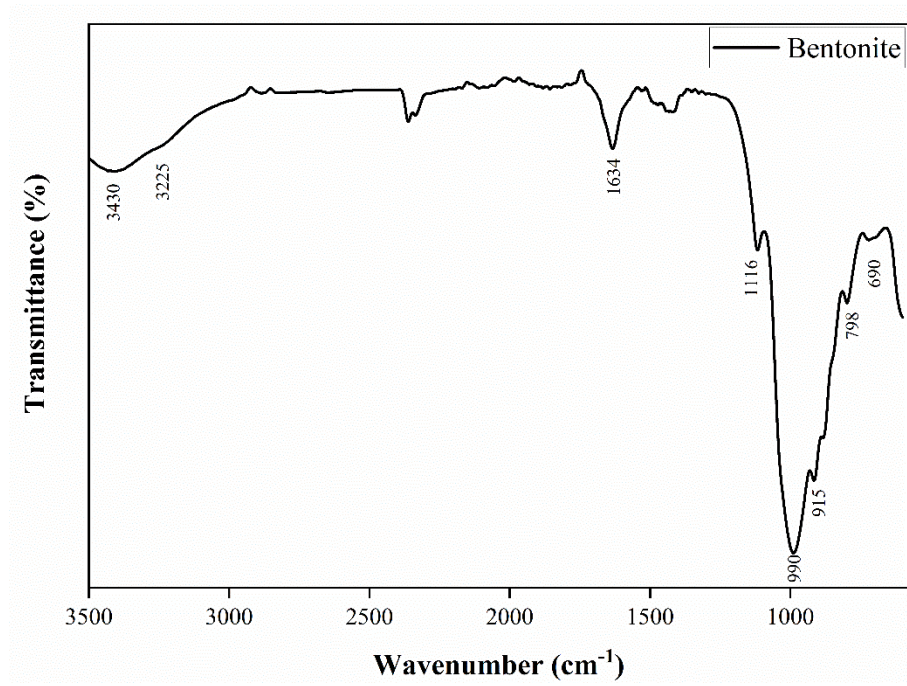


5.1.4 Caracterização da Bentonita

A caracterização da Bentonita como suporte para adsorção de antibiótico e componente dos filmes compósitos se deu por meio de FTIR, DRX, FRX, TG/DTG e CTC.

5.1.5 Análise química estrutural

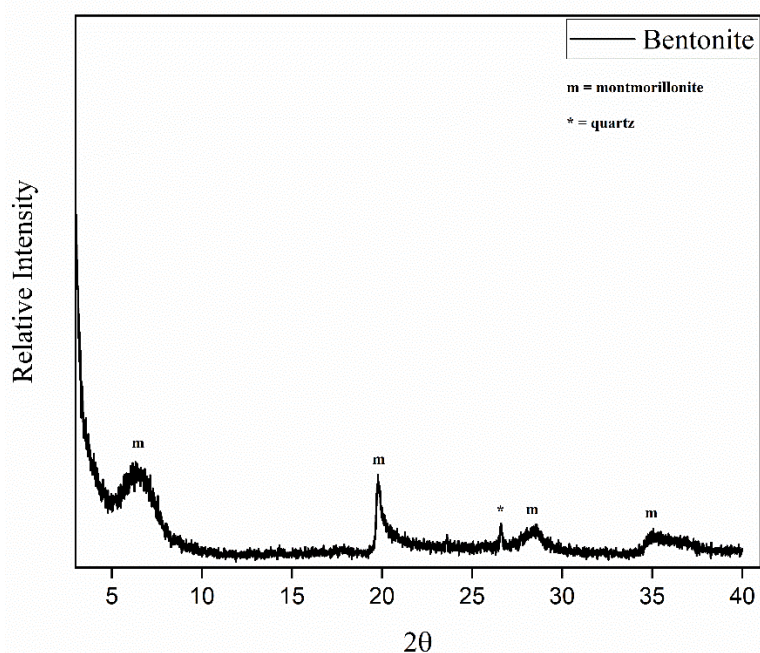
Na Figura 10 está apresentado o espectro na região do infravermelho para a Bentonita. Pela análise do espectro, é possível atestar as bandas características do argilomineral Montmorilonita (MMT), e as bandas correspondentes as vibrações de alongamento dos grupos O – H e Si – OH, os alongamentos O – H do grupo Al – OH, além dos alongamentos dos grupos hidroxilas da água ligada por ligações de hidrogênio. Em 3430 cm^{-1} , a banda corresponde ao alongamento da ligação O – H, indicando água adsorvida a MMT. Outra banda referente a água adsorvida surge em 1634 cm^{-1} , fazendo parte de um importante conjunto de vibrações localizadas na faixa de 1550 a 1700 cm^{-1} , que podem ser identificadas como vibrações de flexão dos grupos H – O – H e O – H da água adsorvida a materiais siliciosos. Além disso, bandas de vibrações de alongamento estão presentes na região de 1100 e 1020 , referentes ao grupo Si – O. Em regiões que vão desde 450 a 950 cm^{-1} , estão presentes vibrações derivadas do grupo Al – Al – OH (915 cm^{-1}), alongamento do Si – O em 798 cm^{-1} e 690 cm^{-1} , além da deformação da ligação Al-MgOH (COSTA; MELO; PASKOCIMAS, 2013; MADEJOVÁ et al., 2002; RAPACZ-KMITA et al., 2017).

Figura 10 - Espectro de infravermelho da argila Bentonita

5.1.6 Análise mineralógica por difração de raios – X

A análise mineralógica do argilomineral por meio de difração de raios – X revela reflexões características de cada constituinte da amostra desta classe de materiais, apresentando um padrão único que permite a sua identificação. Na Figura 11 é mostrado o difratograma de raios - X da argila em estudo.

Figura 11 - Difratograma de raios - X da argila Bentonita.



O difratograma obtido é característico do argilomineral Montmorilonita, isto é, o padrão de reflexões gerado corresponde a argila bentonita, embora algumas reflexões referentes a outros materiais estejam presentes, caso do quartzo em $2\theta = 26,5^\circ$, o que é aceitável, visto que trata-se de uma argila natural. A primeira reflexão é referente as lamelas que geram o plano de reflexão com índice de Miller (001), característica dos filossilicatos. Com a posição 2θ da primeira reflexão é possível estimar o espaçamento basal (d_{001}) da argila. O espaçamento basal corresponde a distância entre as superfícies basais das lamelas do argilomineral, compreendendo a espessura da lamela e o espaço interlamelar, e é calculado por meio da fórmula de Bragg ($\lambda = 2d\text{sen}\theta$) (NASCIMENTO, 2018).

O padrão de difração de raios X da Bentonita revela sua primeira e intensa reflexão em $6,38^\circ 2\theta$, que corresponde a um espaçamento basal $d_{(001)}$ de $13,87 \text{ \AA}$, típico de montmorilonitas com cátions trocáveis do tipo Ca^{2+} , Mg^{2+} ou policátions (RODRIGUES; ANGÉLICA; PAZ,

2021). Este valor para o espaçamento basal está de acordo com o reportado na literatura, embora seja dependente da umidade na qual o material se encontra (ALVES et al., 2016; NASCIMENTO, 2018; PONGJANYAKUL; PRIPREM; PUTTIPIPATKHACHORN, 2005).

5.1.7 Fluorescência de raios – X (FRX)

Na Tabela 2 estão apresentados os elementos oriundos da análise química, na forma de óxidos, encontrados na amostra de bentonita. Pela análise dos dados, fica evidenciada a maior presença de óxidos de silício (SiO_2) e de alumínio (Al_2O_3), perfazendo aproximadamente 85% da composição total da amostra.

A sílica (SiO_2) está relacionada a impurezas como o quartzo, e também é um dos constituintes do argilomineral montmorilonita. O óxido de alumínio (Al_2O_3) está mais intimamente relacionado ao argilomineral montmorilonita, pois impurezas como o quartzo não possuem alumínio em sua composição (ALVES et al., 2016).

Com relação ao cálcio, a quantidade encontrada pode indicar a presença de cálcio trocável, ou na forma de impurezas, como calcita ou carbonato de cálcio. O teor de magnésio entre 2 e 3% indica a presença do cátion situado nas folhas octaédricas na estrutura cristalina da argila, resultado este corroborado pelos resultados de espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Pode indicar também a presença de magnésio na forma de cátions trocáveis ou contaminações.

Sódio e potássio, mesmo em baixas concentrações, podem se tratar de cátions trocáveis, sobretudo o sódio, já que alguns contaminantes levam potássio em suas composições, caso do Feldspato (CAETANO, 2015).

O teor significativo de ferro pode estar relacionado com a etapa de corte, onde utiliza-se granalha de ferro para otimização do processo ou estar presente de maneira natural na estrutura da argila (CAMILA; NOGUEIRA, 2022).

Portanto, a análise química da Bentonita permite inferir que trata-se de um material promissor para inserção de agentes antibióticos, pois em sua estrutura há presença de inúmeros cátions trocáveis, fato relevante na tecnologia de filmes e coberturas antibióticas.

Tabela 2 - Análise mineralógica da argila bentonita

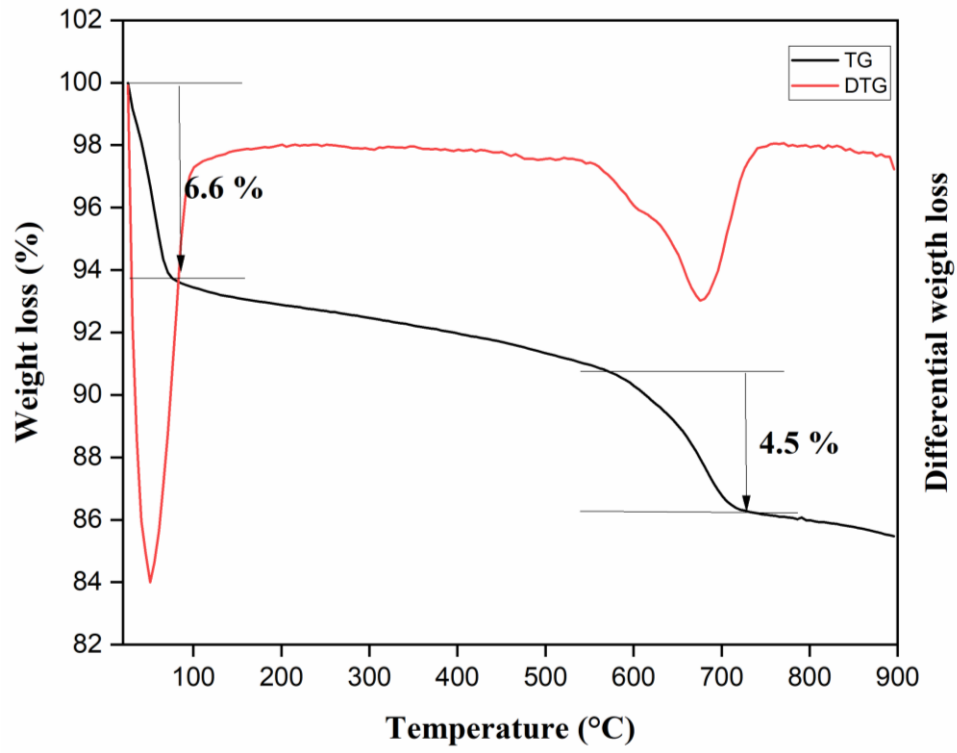
Analito	Bentonita (%)
SiO ₂	65,22
Al ₂ O ₃	19,68
Fe ₂ O ₃	6,86
MgO	2,30
CaO	2,13
Na ₂ O	1,80
SO ₃	0,76
K ₂ O	0,70
TiO ₂	0,21

5.1.8 Análise termogravimétrica (TG/DTG)

A curva termogravimétrica referente à Bentonita está mostrada na Figura 12. Dois eventos de perda de massa são constatados. O primeiro ocorre até 100°C, e corresponde a perda de água adsorvida no espaço interlamelar. É importante mencionar que existem três tipos de água na estrutura da Montmorilonita. O primeiro tipo são moléculas de água livre; o segundo as moléculas de água ligadas por meio de ligações de hidrogênio; por fim, o terceiro tipo são aquelas moléculas de água fortemente coordenadas a cátions no espaço interlamelar. Assim, no processo de desidratação, geralmente, a água livre é perdida primeiro, seguida da ligada por ligações de hidrogênio/coordenadas (BALA; SAMANTARAY; SRIVASTAVA, 2000). Portanto, a perda de massa até 100°C no presente estudo está atrelada a remoção da água livre do espaço interlamelar.

O segundo evento de perda de massa, iniciado após os 100°C e estendendo-se até em torno de 700°C, relaciona-se com o processo de desidroxilação da estrutura da argila. Nas temperaturas compreendidas entre 200°C – 400 °C, o processo ocorre em menor magnitude, sendo mais acentuado próximo a 700°C, conforme pode-se observar na curva da DTG. A perda constante de massa na região compreendida entre 200°C – 500°C é característica dos argilominerais do grupo das esmectitas, além de demonstrar uma sobreposição do fim da desidratação com o início da desidroxilação (NASCIMENTO, 2018).

Pela análise da curva termogravimétrica é possível observar duas perdas de massa mais acentuadas, sendo a primeira correspondente a 6,6 % e a segunda a 4,5 %, totalizando 11,1%, embora outras perdas menores possam ser computadas. Estes resultados estão em linha com os encontrados na literatura para argilas do tipo Bentonita (ELKHALIFAH; MAITRA, 2012). O resíduo médio foi 86,1, indicando uma perda de aproximadamente 14%.

Figura 12 - Curva termogravimétrica e sua derivada da argila Bentonita

5.1.9 Capacidade de troca catiônica (CTC)

A capacidade de troca catiônica da Bentonita foi realizada pelo método de adsorção do azul de metileno, onde a CTC é calculada a partir do volume de azul de metileno adicionado à dispersão de água e argila, até a obtenção visual do ponto de saturação (auréola azul clara em volta da gota disposta em papel filtro). Este método exhibe vantagens como: baixo custo, boa reprodutibilidade, rapidez e simplicidade (CAETANO, 2015).

A CTC de um argilomineral é a quantidade de cátions que este pode adsorver e trocar, característica que repercute drasticamente nas características físico-químicas das argilas esmectitas. A capacidade de troca de uma argila bentonítica resulta do desequilíbrio das cargas elétricas na estrutura cristalina devido às substituições isomórficas nos sítios tetraédricos e octaédricos, às ligações químicas quebradas nas arestas dos cristalitos ou tactóides e à interação dos cátions H_3O^+ com as cargas nestas ligações quebradas. As cargas negativas resultantes do desequilíbrio de cargas são compensadas por cátions trocáveis, que estão fixos eletrostaticamente ao longo das faces e nas intercamadas. Os cátions mais comumente encontrados são: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} (RODRIGUES; ANGÉLICA; PAZ, 2021).

O valor de CTC obtido para a Bentonita utilizada no presente trabalho foi de $93 \pm 1,7$ meq/100g, coerente com valores encontrados na literatura para o mesmo tipo de material (MELO et al., 2021; VAZQUEZ et al., 2008). O parâmetro capacidade de troca catiônica é um fator importante na escolha da argila a ser utilizada como carreador de antibiótico, e quanto maior esse valor maior a capacidade de reter o antibiótico em sua estrutura, sendo de relevante interesse na produção de filmes e coberturas antimicrobianas.

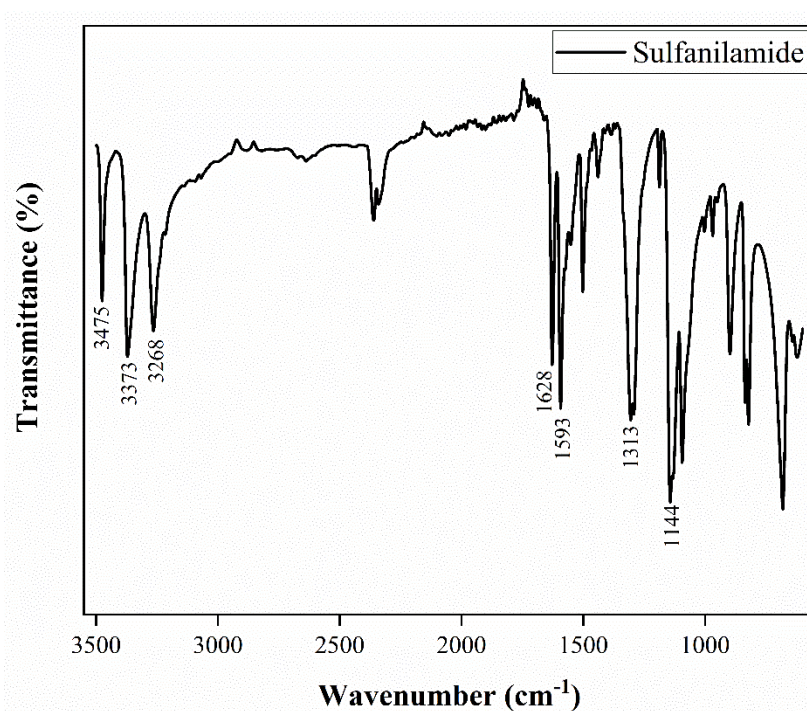
5.1.10 Caracterização da Sulfanilamida

A Sulfanilamida foi o fármaco utilizado como molécula modelo para inibição dos microrganismos testados, sendo incorporado a Bentonita e, conseqüentemente, ao filme compósito. O antibiótico foi caracterizado por meio de FTIR.

5.1.11 Análise química estrutural

Na Figura 13 está apresentado o espectro na região do infravermelho para o antibiótico sulfanilamida. A Sulfanilamida é um insumo de baixo custo com ações antibiótica e antiinflamatória que age inibindo reações enzimáticas envolvidas na síntese do ácido fólico, utilizada no presente trabalho como molécula modelo (MA et al., 2015).

Figura 13 - Espectro de infravermelho da Sulfanilamida.



Pela análise das bandas de absorção contidas no espectro, pode-se deduzir os principais grupos funcionais presentes na estrutura do antibiótico. Os picos em 3475 cm⁻¹, 3373 cm⁻¹ e 3268 cm⁻¹ são devidos ao grupamento amina primária presente na Sulfanilamida. As absorções em 1628 cm⁻¹ e 1593 cm⁻¹ são atribuídas a vibração do esqueleto carbônico do anel benzênico, e em 1313 cm⁻¹ e 1144 cm⁻¹ ocorrem bandas características do grupamento sulfonil

(CHANDRAN et al., 2011; MA et al., 2015). As bandas que estão compreendidas entre 1215 – 1175, 1125 – 1080, e 860 – 810 cm^{-1} são devidas às vibrações de deformação planar e extraplanar de átomos de hidrogênio adjacentes de anéis benzênicos para-substituídos. A banda responsável pelo estiramento S – N da sulfonamida surge entre 940 e 890 cm^{-1} . O estiramento da ligação C – S é observado em torno de 800 cm^{-1} (GANESH et al., 2016).

Com base nas técnicas utilizadas no presente estudo, que se complementam entre si, pode-se confirmar tratar-se dos seguintes materiais: Gelatina, Bentonita, Sulfanilamida e Glicerol, sendo atestadas também a qualidade e a pureza de todos eles.

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Nesta seção será apresentado o tipo de planejamento experimental utilizado no trabalho, bem como os resultados obtidos atrelados ao modelo.

5.2.1 Delineamento experimental de Box-Behnken (DBB)

Os delineamentos experimentais do tipo Box-Behnken são uma classe de planejamentos experimentais de três níveis, propostos por Box e Behnken na década de 1960. Esses delineamentos baseiam-se em combinações particulares de um experimento fatorial do tipo 3^k (MEDEIROS, 2019).

O uso do delineamento de Box-Behnken é popular em pesquisas industriais devido ser um delineamento com menos experimentos que os análogos Delineamento Rotacional Composto Central, requerendo apenas três níveis para cada fator, o que gera menos experimentos. Outra vantagem do DBB é que esse tipo de plano experimental não possui condições de teste localizadas nas regiões de extremo, ou seja, aquela região em que todos os fatores estão em seus pontos máximos ou mínimos, figurando como alternativas para a realização de experimentos em que a operação em condições extremas é muito custosa, perigosa ou de difícil controle (KHURI; MUKHOPADHYAY, 2010; MEDEIROS, 2019).

No presente estudo, a influência de três fatores independentes (concentrações de Gelatina, glicerol e Bentonita) foi analisada sobre as respostas: capacidade de absorção de água, solubilidade dos filmes e conteúdo de umidade. A Tabela 3 sumariza as respostas obtidas para os parâmetros em estudo.

Tabela 3 - Respostas para teor de Umidade, capacidade de absorção de água e solubilidade dos filmes elaborados com gelatina, glicerol e bentonita.

Série	Resposta experimental		
	U (%)	Ab (%)	S (%)
1	83,32	92,94	85,94
2	33,77	178,89	63,02
3	91,01	126,75	94,19
4	66,33	107,03	79,27
5	84,97	151,91	90,50
6	53,66	145,92	75,92
7	86,88	80,29	89,75
8	51,55	111,22	73,12
9	50,96	155,19	73,66
10	80,75	156,69	85,18
11	49,68	150,48	73,43
12	78,43	97,98	84,01
13	71,20	139,23	80,82
14	76,85	114,24	82,11
15	69,21	102,87	82,95
Min.	33,77	80,29	63,02
Max.	91,01	178,89	94,19
Média das séries	67,84	127,44	80,92

U, conteúdo de umidade (n=3); Ab, capacidade de absorção de água (aumento de peso) (n=3); S, solubilidade (n=2).

5.2.2 Modelo de regressão e superfície de resposta para o conteúdo de umidade (U)

O conteúdo de umidade constitui parâmetro importante no desenvolvimento de filmes porque afeta propriedades mecânicas e de barreira, além das propriedades térmicas, exercendo grande influência na aplicação do material (AGUIRRE-LOREDO et al., 2016). Os experimentos conduzidos, revelaram uma variação de umidade entre 33,77% a 91,01% (Tabela 3).

O processamento adicional dos dados conduziu ao desenvolvimento de um modelo matemático linear que descreve de forma eficiente a relação entre as variáveis independentes e o conteúdo de umidade (U), dada pela equação:

$$U (\%) = 68,58 - 17,61 \text{ Gelatina} + 12,35 \text{ Glicerol} + 6,22 \text{ Gelatina*Glicerol}$$

A análise de variância evidenciou, por meio do Teste F, que o modelo foi significativo, com p-valor < 0,1, conforme Tabela 4 que explicita a estatística envolvida na ANOVA do modelo proposto. A equação para o modelo explica 95,38% (R^2) das variações das respostas obtidas. Além disso, uma pequena diferença entre R^2 e o R^2 ajustado indica que não há inclusão de termos desnecessários no modelo (BAJIC et al., 2020).

Tabela 4 - Resumo da estatística ANOVA para o conteúdo de umidade.

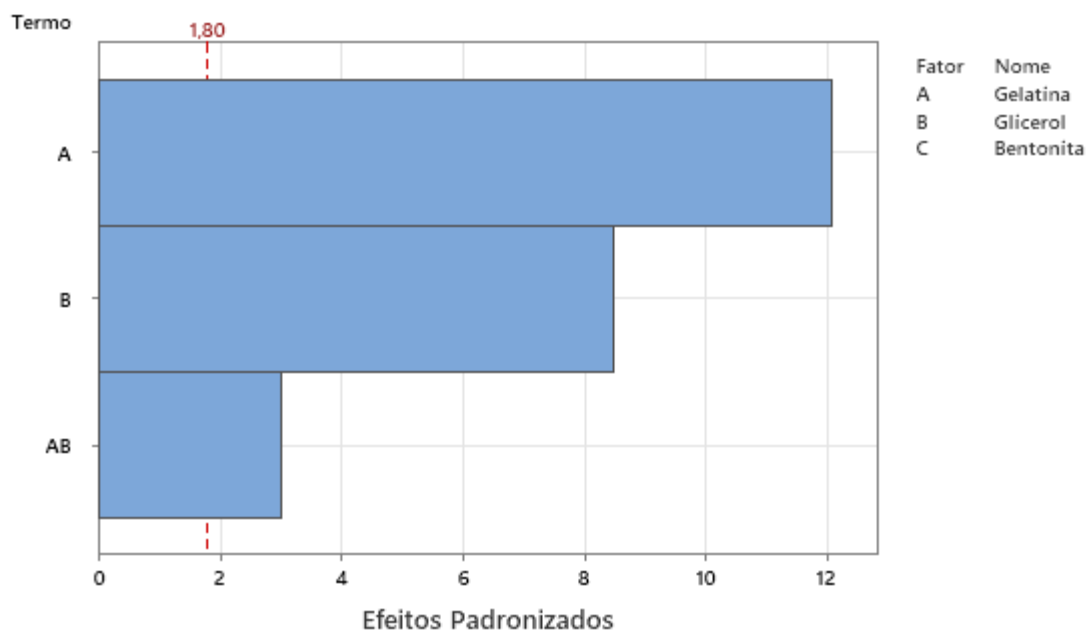
	Fonte	SQ^a	GL^a	QM^a	F-Valor	p-Valor	R²	R²_{ajust}^b
U	Modelo	3854,7	3	1284,9	75,7	<0,0001	0,9538	0,9412
	Falta de ajuste	155,23	9	17,25	1,10	0,564		
	Erro puro	31,44	2	15,72	*	*		
	Total	4041,34	14					

U: conteúdo de umidade (%);^a SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; QM, quadrado médio; R^2_{ajust} , R^2 ajustado.

O efeito das três variáveis independentes no conteúdo de umidade dos filmes pode ser visto no gráfico de Pareto apresentado na Figura 14. O gráfico de Pareto explicita os efeitos

estimados padronizados gerados a partir do modelo completo. Por meio da análise do gráfico, verifica-se a influência apenas dos efeitos da concentração de Gelatina, Glicerol e da interação Gelatina-Glicerol, corroborando a equação linear que descreve o modelo.

Figura 14 - Gráfico de Pareto de efeitos padronizados mostrando o impacto das variáveis independentes sobre o conteúdo de umidade.



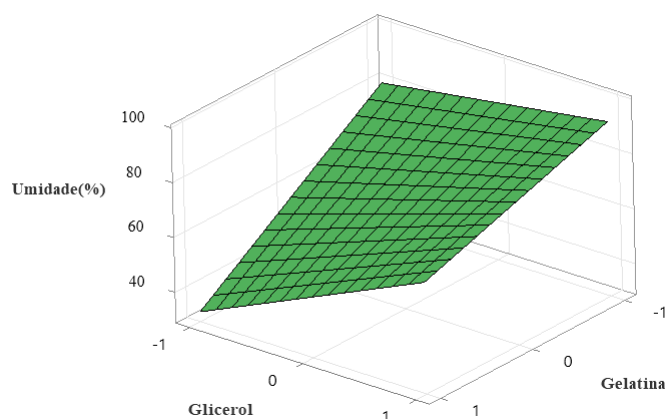
Legenda: A: Gelatina; B: Glicerol; C: Bentonita; AB: Interação Gelatina-Glicerol; BB: Interação Glicerol-Glicerol

Como pode ser observado a partir da equação de regressão do modelo, o conteúdo de umidade (U) sofre influência por efeitos lineares (Gelatina e glicerol) e um pequeno efeito de interação Gelatina*Glicerol das variáveis. O efeito de interação significa que alterações em uma combinação de variáveis do processo agem sinergicamente na resposta experimental (ZHAO et al., 2018). Ainda de acordo com a equação, pode-se observar a influência antagônica da variável gelatina no conteúdo de umidade, isto é, aumentando-se a quantidade de Gelatina, diminui-se o teor de umidade. O oposto é observado para o glicerol, ou seja, quanto maior a quantidade de glicerol adicionada ao sistema maior será o conteúdo de umidade. O mesmo vale para a interação de glicerol com gelatina, entretanto, em menor magnitude.

O gráfico correspondente à superfície de resposta para o conteúdo de umidade está explicitado na Figura 15, onde o comportamento linear observado na equação proposta pode ser confirmado. A superfície de resposta retrata a relação entre as variáveis glicerol e Gelatina sobre a umidade do filme gerado. Pela análise da superfície, pode-se inferir que o conteúdo de umidade é máximo em valores elevados de glicerol combinados a menores valores de Gelatina.

O contrário, isto é, menores valores de umidade, são obtidos com a diminuição do teor de glicerol e aumento no de Gelatina.

Figura 15 - Gráfico de superfície de resposta apresentando os efeitos das variáveis independentes sobre o conteúdo de umidade



Em um estudo que também avaliou o efeito da quantidade de glicerol na umidade de biopolímeros à base de quitosana, observou-se comportamento similar ao encontrado no presente trabalho: o aumento da concentração do glicerol proporcionou aumento no teor de umidade (BAJIC et al., 2020).

Uma possível explicação para o aumento de umidade com o aumento da concentração de glicerol pode ser obtida pela análise da estrutura da molécula do plastificante, que contém três hidroxilas por molécula (-OH), promovendo a ação higroscópica desse componente (THAKUR et al., 2017).

Além disso, a molécula de glicerol pode estabelecer ligações com cadeias adjacentes de Gelatina, causando mudanças na conformação espacial da matriz tridimensional do filme, expondo sítios de ligações de hidrogênio disponíveis para interação água/polímero, retendo umidade no filme (BAJIC et al., 2020). O conteúdo de umidade em qualquer tipo de filme também está diretamente relacionado com a porosidade e os grupos hidrofílicos presentes na estrutura, sendo ambos, Gelatina e glicerol, dotados de grupos hidrofílicos, como hidroxilas (-OH) e aminas (-NH₂), com vasta capacidade para absorção de água (PATEL et al., 2018).

Por fim, os filmes de gelatina confeccionados com glicerol são sensíveis à umidade e mais “esticáveis” do que os confeccionados com sorbitol. O glicerol é frequentemente citado como um bom plastificante para materiais baseados em proteína, devido a sua habilidade de

reduzir ligações de hidrogênio intermoleculares enquanto aumenta o espaço intermolecular (SUDERMAN; ISA; SARBON, 2018).

Acerca da influência do teor de Gelatina na umidade dos filmes compósitos, Luo et al., (2022) apontam que formulações complexas de filmes baseados em gelatina, apresentam menores percentuais de umidade, devido à modificação da matriz polimérica com o aumento de ligações cruzadas, e provável formação de camadas mais densas.

No presente estudo, apenas o aumento da quantidade de gelatina promoveu redução do teor de umidade, que provavelmente pode ter ocorrido devido ao seu Bloom (força de gelificação), ou seja, quanto maior a concentração da gelatina com essa característica em formulações, menor a umidade observada no filme produzido. O controle da umidade constitui fator importante na aplicação almejada no presente trabalho, isto é, a utilização como cobertura para feridas. Portanto, a influência do teor de gelatina na umidade deve ser compreendida e trabalhada para a aquisição de coberturas funcionais do ponto de vista físico-químico e microbiológico.

Coberturas que criam e mantêm o ambiente da ferida úmido são importantes para o fornecimento de condições ideais para a cicatrização. A umidade sob curativos oclusivos não apenas aumenta a taxa de epitelização, mas também promove a cicatrização através da própria umidade e da presença inicial de baixa tensão de oxigênio.

Os hidrocoloides, como a gelatina, produzem uma cobertura adesiva plana e oclusiva, formando um gel na superfície da ferida, promovendo a cicatrização úmida (JONES; GREY; HARDING, 2006). Além de proporcionar uma cicatrização mais rápida, o ambiente úmido da ferida tem inúmeros outros benefícios relevantes, pois facilita o debridamento autolítico, reduz a dor local, reduz a formação de cicatrizes, ativa a síntese do colágeno, facilita e promove a migração de queratinócitos sobre a superfície da ferida, além de promover e facilitar o pleno funcionamento dos nutrientes e fatores de crescimento solúveis no microambiente da ferida (NUUTILA; ERIKSSON, 2021).

Portanto, a umidade constitui parâmetro importante no gerenciamento de feridas agudas e crônicas, devendo ser controlada e entendida de forma que a melhor cobertura seja sintetizada para a aplicação requerida.

5.2.3 Modelo de regressão e superfície de resposta para a capacidade de absorção de água (Ab)

A capacidade de absorção de água, também conhecida como retenção de água ou teor de água, é definida como a quantidade de água absorvida pelo material. É, geralmente, expressa em termos de porcentagem de água em relação ao peso seco das partículas (MOHAJERANI et al., 2020). A capacidade de absorção é uma importante propriedade no âmbito da aplicação de filmes como curativos, visto que uma cobertura saturada de fluido necessita ser trocada. Portanto, é pertinente sintetizar um curativo cuja capacidade de absorção corresponda à quantidade de fluido que a ferida esteja produzindo, a fim de evitar-se acúmulo de exsudato ou desidratação do leito do ferimento (NUUTILA; ERIKSSON, 2021).

Os valores obtidos experimentalmente para a capacidade de absorção de água (Ab) variaram de 80,29% a 178,89%, com relação ao peso inicial, como pode ser visto na Tabela 3. A relação entre as variáveis independentes e Ab foi considerada linear do tipo interação com dois fatores, conforme equação:

$$Ab (\%) = 127,63 + 11,40 \text{ Gelatina} - 11,13 \text{ Glicerol} - 21,22 \text{ Bentonita} - 26,42 \text{ Gelatina*Glicerol}$$

A análise de variância evidenciou, por meio do Teste F, que o modelo foi significativo, com p-valor < 0,1, conforme Tabela 5. A equação para o modelo explica 73,30% (R^2) das variações das respostas obtidas.

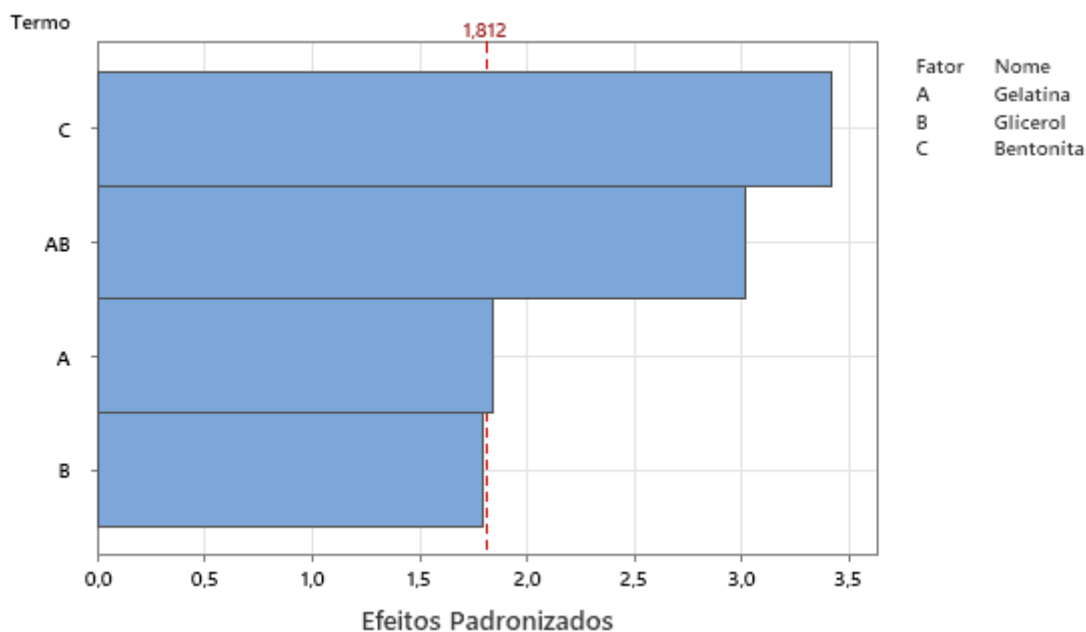
Tabela 5 - Resumo da estatística ANOVA para a capacidade de absorção.

	Fonte	SQ ^a	GL ^a	QM ^a	F-Valor	p-Valor	R ²	R ² _{ajust} ^b
Ab	Modelo	8423,5	4	2105,9	6,86	0,006	0,7330	0,6262
	Falta de ajuste	2460,2	8	307,5	1,01	0,587		
	Erro puro	608,0	2	304,0	*	*		
	Total	11491,7	14					

Ab: capacidade de absorção (%);^aSQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; QM, quadrado médio; R²_{ajust}, R² ajustado.

O efeito das variáveis independentes e das interações entre elas na capacidade de absorção dos filmes pode ser visto no gráfico de Pareto da Figura 16. A análise do gráfico mostra a influência da Bentonita, Glicerol, Gelatina e a interação Gelatina-Glicerol na resposta capacidade de absorção. No gráfico percebe-se ainda que o glicerol (B) situa-se em posição limítrofe para ser considerado influente na Ab, contudo, o modelo estatístico julgou necessário a inclusão dessa variável, além disso a remoção do glicerol poderia reduzir os graus de liberdade e comprometer a análise de Ab com base nas variáveis escolhidas.

Figura 16 - Gráfico de Pareto de efeitos padronizados mostrando o impacto das variáveis independentes sobre a capacidade de absorção.

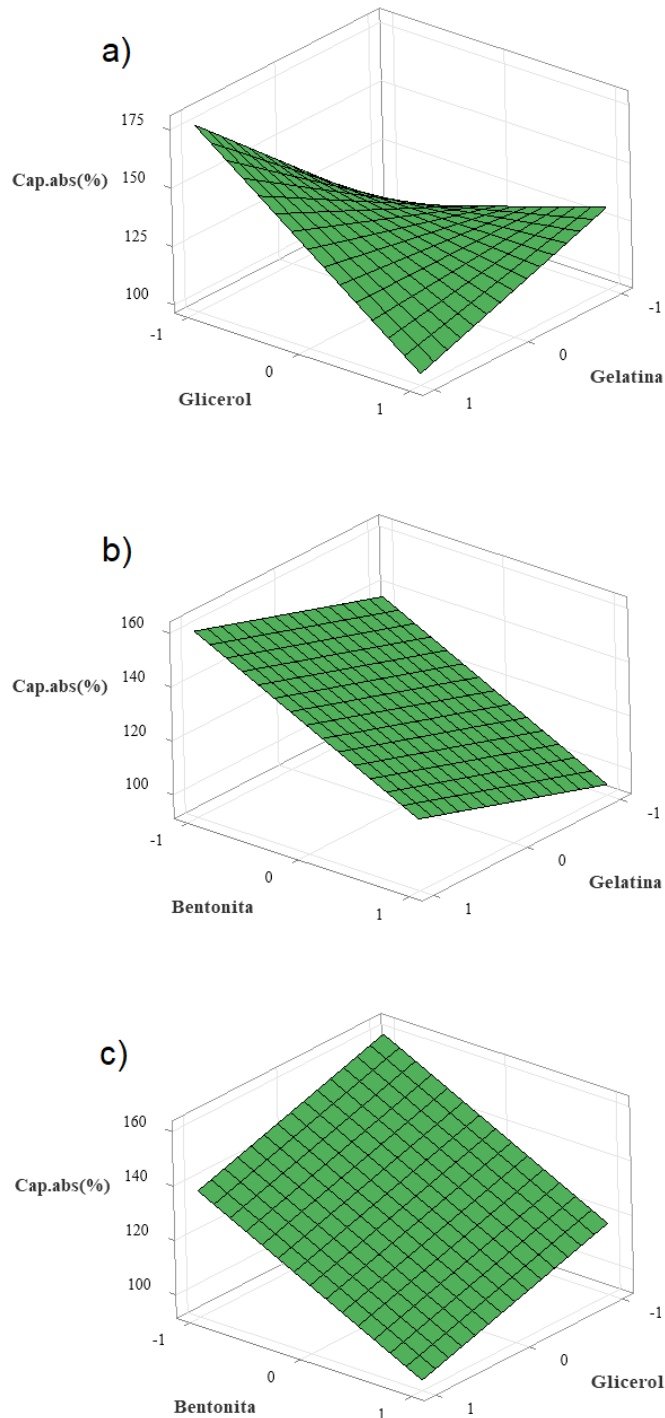


Legenda: A: Gelatina; B: Glicerol; C: Bentonita; AB: Interação Gelatina-Glicerol; BB: Interação Glicerol-Glicerol

O modelo linear do tipo interação com dois fatores não possui termos quadráticos, indicando que as interações Glicerol*Glicerol, Gelatina*Gelatina e Bentonita*Bentonita, não afetam a capacidade de absorção de água (BAJIĆ et al., 2020). Pela análise da equação proposta para o modelo, observa-se que bentonita, glicerol e a interação gelatina e glicerol reduzem a porcentagem de absorção de água dos filmes. Com relação a gelatina, o comportamento oposto é observado, isto é, aumentando-se a quantidade de gelatina aumenta-se a capacidade de absorção dos filmes.

As interações supracitadas podem ser observadas nos gráficos de superfície de resposta, explicitados na Figura 17.

Figura 17 - Gráficos de superfície de resposta para a capacidade de absorção de água dos filmes. Em a) tem-se a interação Glicerol x Gelatina; b) interação Bentonita x Gelatina; c) interação Bentonita x Glicerol



Na Figura 17a, evidencia-se a redução na capacidade de absorção de água devido a interação Gelatina*Glicerol, quando ambas as concentrações são elevadas. Hubner et al., (2020) observaram que a adição de glicerol causa decréscimo na absorção de água, o que pode indicar que o caráter higroscópico da gelatina desempenha um papel mais importante que o do glicerol. A adição de plastificante pode causar a reorganização da estrutura molecular do filme,

tornando-o menos susceptível a absorção de água (HUBNER et al., 2020). Lavorgna et al., (2010) constataram menor volume de água sorvido em filmes sintretizados com glicerol em comparação àqueles sem a adição do plastificante, atribuindo tal fato a uma maior estabilidade dimensional conferida pelo glicerol, por meio de ligações de hidrogênio entre o plastificante e a substância formadora do filme.

Efeito semelhante pode ser observado na Figura 17c, pois ambas as variáveis observadas apresentam influência no decréscimo da absorção de água quando elevadas as suas concentrações. A ação da Bentonita no decréscimo de absorção pode ser explicado pela dificuldade de penetração de moléculas de água devido à alta proporção de silicatos em camadas, podendo ocorrer o estabelecimento de interações específicas entre argila, Gelatina e glicerol, em virtude de uma estruturação superficial e volumétrica diferente das cadeias proteicas na presença da bentonita (ALEXANDRE et al., 2016).

As fortes interações entre Gelatina e argilas esmectitas consomem muitos grupos hidrofílicos, reduzindo a absorção de água no filme correspondente, além disso, a presença de plaquetas de silicato impermeáveis a água ou outras estruturas com grandes proporções dispersas na matriz polimérica, também contribuem para obstruir e retardar a passagem de água ou do seu vapor através da matriz (MARTUCCI; RUSECKAITE, 2017).

Na Figura 17b, pode-se verificar o aumento da capacidade de absorção de água com o aumento da quantidade de gelatina, mesmo em concentrações mais elevadas de Bentonita. Esse efeito pode ser explicado pelo caráter hidrofílico da Gelatina, capaz de proporcionar a formação de ligações de hidrogênio com as moléculas de água, aumentando a intumescência do filme (LUO et al., 2022; TÜRE, 2019).

A capacidade de absorção para uma cobertura depende de vários fatores, não existindo um valor exato ou “correto” para tal parâmetro. Contudo, alguns autores relatam valores distribuídos entre 100 – 500% como uma capacidade de absorção aceitável, embora haja coberturas com capacidades que ultrapassam 2000% (SHOJAEI et al., 2015).

Sabendo-se que a absorção de água por um filme previne a desidratação excessiva e o acúmulo de exsudato, os valores encontrados no presente trabalho estão coerentes com as recomendações para aplicações de curativos.

5.2.4 Modelo de regressão e superfície de resposta para a solubilidade (S) dos filmes

A solubilidade de um filme indica a sua integridade em um ambiente aquoso, constituindo parâmetro importante no desenvolvimento de coberturas à base de proteínas e carboidratos, matérias-primas com elevada afinidade por água (ROCHA, 2009; ROMERO-BASTIDA et al., 2005).

Os resultados observados de solubilidade em água variaram entre 63,02 – 94,19% para os filmes testados, conforme Tabela 3. A relação entre as variáveis independentes e a solubilidade (S) foi considerada linear, conforme equação a seguir:

$$S (\%) = 82,171 - 8,632 \text{ Gelatina} + 5,825 \text{ Glicerol} - 2,329 \text{ Glicerol} * \text{Glicerol} + 2,001 \text{ Gelatina} * \text{Glicerol}$$

A análise variância evidenciou, por meio do Teste F, que o modelo foi significativo, com p-valor < 0,1, conforme Tabela 6.

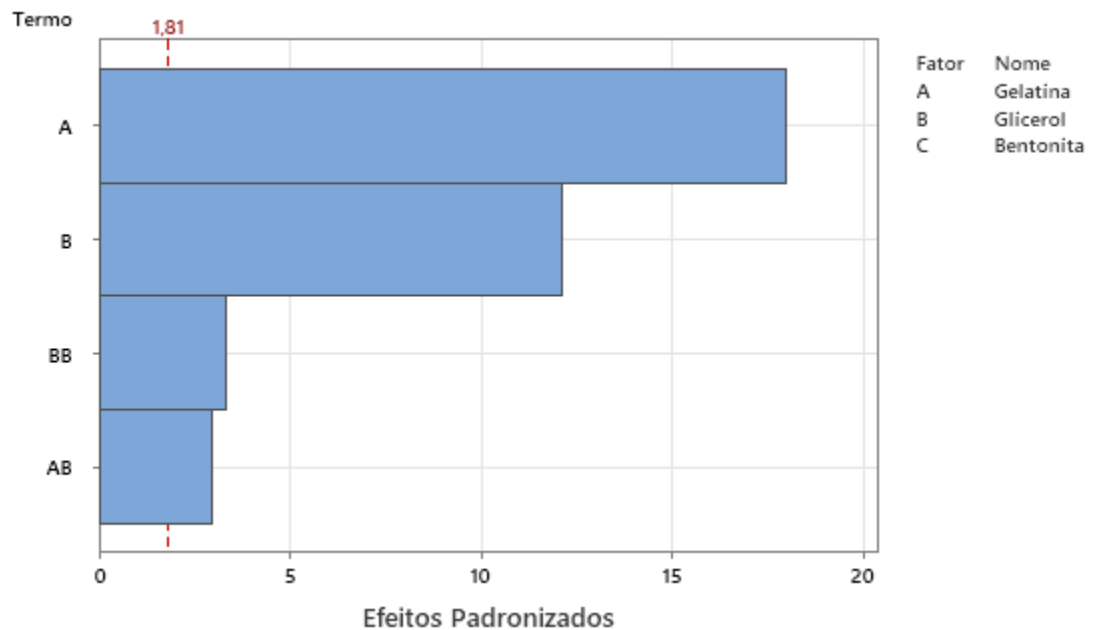
Tabela 6 - Resumo da estatística ANOVA para a solubilidade.

	Fonte	SQ^a	GL^a	QM^a	F-Valor	p-Valor	R²	R²_{ajust^b}
S	Modelo	903,73	4	225,93	122,71	<0,0001	0,9800	0,9720
	Falta de ajuste	16,104	8	2,013	1,74	0,415		
	Erro puro	2,308	2	1,154	*	*		
	Total	922,14	14					

S: Solubilidade (%);^a SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; QM, quadrado médio; R²_{ajust}, R² ajustado.

A equação para o modelo explica 98% (R²) das variações das respostas obtidas. O efeito das variáveis independentes e das interações entre elas na solubilidade dos filmes pode ser visto no gráfico de Pareto, conforme Figura 18. Pela análise do gráfico, observa-se a influência significativa das variáveis Gelatina, Glicerol, Glicerol-Glicerol e Gelatina-Glicerol na solubilidade dos filmes.

Figura 18 - Gráfico de Pareto de efeitos padronizados mostrando o impacto das variáveis independentes sobre a solubilidade.

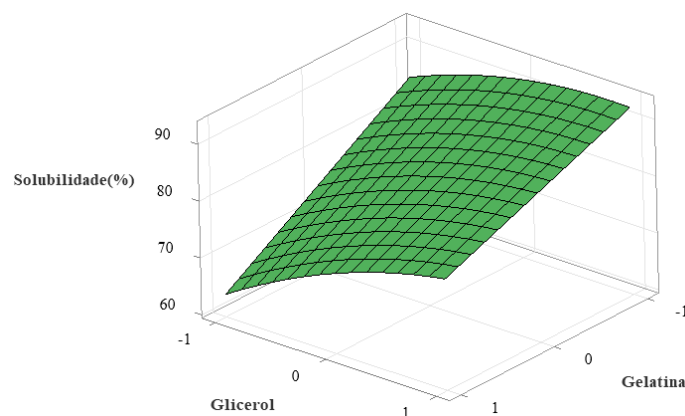


Legenda: A: Gelatina; B: Glicerol; C: Bentonita; AB: Interação Gelatina-Glicerol; BB: Interação Glicerol-Glicerol

Pela análise da equação proposta pode-se observar que a gelatina age reduzindo a solubilidade dos filmes, assim como a interação glicerol*glicerol. Contudo, o glicerol e a interação gelatina*glicerol agem aumentando a solubilidade dos filmes.

Dependendo da aplicação prática do filme, pode ser necessária a insolubilidade em água para aumentar a integridade do produto ou pode ser preferida a alta solubilidade, como no encapsulamento de drogas, aditivos e alimentos (SLAVUTSKY et al., 2014). A relação entre as variáveis independentes e a solubilidade dos filmes pode ser observada no gráfico de superfície de resposta na Figura 19.

Figura 19 - Gráfico de superfície de resposta apresentando os efeitos das variáveis independentes sobre a solubilidade.



Pela análise da superfície de resposta pode-se observar o efeito do aumento da concentração do glicerol na solubilidade, em concentrações mais baixas de Gelatina. Resultados semelhantes foram encontrados por Hidayati et al., (2021), onde o aumento da concentração de glicerol aumentou a solubilidade dos filmes à base de algas marinhas, carboximetilcelulose e glicerol. Os mesmos autores ainda argumentam que a solubilidade se eleva com o aumento da concentração do glicerol em virtude da natureza hidrofílica do plastificante. É esperado que a adição de plastificantes causem maior permeabilidade do filme, este fato pode levar a água a difundir-se de maneira facilitada no interior do polímero.

Com relação à Gelatina, em altas concentrações a solubilidade dos filmes é reduzida e isso pode ser explicado pelo fato de ocorrer a compactação da estrutura, via interações de hidrogênio entre o glicerol, Gelatina e a própria argila. Türe, (2019) encontrou resultados semelhantes ao verificar que com o aumento da quantidade de alginato, ocorria a diminuição na solubilidade dos filmes compostos por Gelatina, hidroxiapatita e o próprio alginato. Isso ocorria devido a interação forte entre os componentes do filme, resultando em uma estrutura mais compacta. Em baixas concentrações, a hidroflicidade natural da Gelatina resulta em filmes mais solúveis, como vastamente reportado em literatura (KAZEMI et al., 2023; MOHAJER; REZAEI; HOSSEINI, 2017).

Embora a Bentonita não tenha apresentado efeito na solubilidade no presente estudo, possivelmente pela pequena quantidade adicionada, existem inúmeros relatos do impacto da adição de materiais siliciosos nas propriedades dos filmes, inclusive na solubilidade. Wu et al., (2023) trabalharam com filmes de Gelatina contendo diatomita e carvacrol, constatando que a diminuição da solubilidade dos filmes era oriunda da insolubilidade da diatomita, quando elevada a sua concentração. De forma semelhante, Dai et al., (2022) encontraram valores muito menores de solubilidade em filmes contendo Gelatina e Montmorilonita em comparação aos que somente continham Gelatina, justificando tal comportamento pela formação de cadeias na estrutura polimérica, dificultando a entrada e a difusão de água. Por fim, Echeverría et al., (2016) relataram diminuição da solubilidade de filmes proteicos contendo óleo essencial de cravo com a adição de Montmorilonita.

5.3 OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEA E VALIDAÇÃO DO MODELO

A otimização simultânea é uma ferramenta que permite adequar as variáveis para cumprir um determinado objetivo que, neste caso, foi a melhora de propriedades relacionadas à síntese de um curativo.

5.3.1 Determinação da composição otimizada dos filmes

A otimização foi realizada nas variáveis independentes, objetivando-se a obtenção dos níveis ótimos dentro das condições experimentais efetuadas no presente trabalho. Vale salientar que a otimização simultânea das variáveis que regem propriedades importantes dos filmes nem sempre é uma tarefa fácil, pois implica um compromisso entre diferentes atributos do material final, sendo por vezes guiado por decisões subjetivas, por tais atributos não estarem bem definidos em literatura ou até mesmo alguma limitação encontrada na realização dos experimentos (BAJIC et al., 2020).

Contudo, todas as decisões tomadas na síntese dos filmes foram pensadas para a aplicação do material final como uma cobertura para feridas, sendo considerada a manutenção do ambiente úmido do fermento como fator determinante, resultando em melhores e mais rápidos processos de cicatrização.

Além disso, outro fator que deve ser levado em consideração é o tempo de uso da cobertura, fator estritamente ligado à capacidade de absorção e a integridade do filme. Portanto, a composição final buscada pelo processo de otimização foi realizada com o intuito de obter-se um material que atendesse a essas premissas, com razoável umidade de partida, elevada capacidade de absorção de fluidos e média solubilidade.

À luz dos dados disponíveis, a umidade foi escolhida com um valor alvo de 33%, a solubilidade em 60% e a capacidade de absorção no valor máximo permitido pelo modelo, conforme sumarizado na Tabela 7.

Tabela 7: Parâmetros utilizados para otimização das respostas.

Resposta	Meta	Inferior	Alvo	Superior	Peso	Importância
Umidade (%)	Alvo	29,70	33,00	91,01	1	1
Solubilidade (%)	Alvo	54,00	60,00	94,19	1	1
Cap. Absorção (%)	Máximo	80,29	178,89		1	1

Para atender a estes parâmetros, a composição ideal em termos de valores reais para os filmes foi: 14,88 % de Gelatina (m/v), 15 % de glicerol (v/v) e 2,5 % de Bentonita (m/m; calculado pela massa de gelatina), conforme solução gerada pelo modelo, explicitada na Tabela 8.

Tabela 8 - Solução do modelo para a otimização dos parâmetros.

Solução	Gelatina	Glicerol	Bentonita	Umidade	Solubilidade	Cap. Abs	Desirability composta
				(%)	(%)	(%)	
				Ajuste	Ajuste	Ajuste	
1	0,97	-1	-1	33	63,65	196,9	0,96

5.3.2 Validação do modelo

A validação do modelo foi realizada por comparação dos valores previstos pelo modelo com aqueles obtidos experimentalmente nas condições otimizadas. Os resultados para a comparação dos valores obtidos com os valores previstos são mostrados na Tabela 9, abaixo. O erro residual situou-se entre 1,87% e 27,00%, estando coerente com a acurácia de outros modelos gerados para sistemas de filmes poliméricos (SABERI et al., 2016; THAKUR et al., 2017).

O intervalo de predição diz respeito a uma única observação obtida com o conjunto de variáveis utilizadas, enquanto que o intervalo de confiança apoia-se mais em parâmetros populacionais, como a média e a mediana de um conjunto de dados (FORTHOFER; LEE; HERNANDEZ, 2007). O intervalo de predição ajuda a avaliar a significância prática dos resultados, sendo um parâmetro mais importante nesta etapa da pesquisa

Tabela 9 - Respostas preditas e experimentais dos filmes preparados na composição otimizada.

Resposta^a	Valores preditos^b	Valores experimentais (n = 3)^c	Intervalo de predição (90%)^d	Erro residual absoluto (%)^e
Conteúdo de umidade	33,00	41,25 ± 5,32	(23,80; 42,20)	20,01
Solubilidade	63,65	64,86 ± 0,97	(60,53; 66,77)	1,87
Capacidade de absorção	196,8	154,95 ± 2,12	(155,8; 237,9)	27,00

^a Conteúdo de umidade (%); Solubilidade (%); Capacidade de absorção (%). ^b Valores preditos obtidos das equações do modelo.

^c Valores experimentais obtidos dos filmes de gelatina contendo bentonita e glicerol nas condições otimizadas. ^d Intervalo que provavelmente contém uma única resposta futura para uma combinação especificada de configurações de variáveis. ^e Erro residual absoluto (%) = [(valor experimental – valor predito) / valor experimental] *100

5.4 SÍNTESE DOS FILMES NA COMPOSIÇÃO OTIMIZADA CONTENDO ANTIBIÓTICO

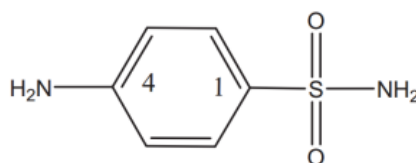
Esta seção contempla a inserção do antibiótico na estrutura da Bentonita, por meio de troca catiônica e em diferentes pHs, além de caracterizações necessárias para a quantificação da Sulfanilamida.

5.4.1 Inserção de Sulfanilamida na estrutura da Bentonita por troca catiônica

A estrutura da Bentonita antes da intercalação com o antibiótico e após intercalação em diferentes pHs foi avaliada por difração de raios – X (DRX). A posição dos principais picos de reflexão foram utilizadas para esta avaliação, e as mudanças no espaço interlamelar da argila, com e sem antibiótico, foram estimadas com base no deslocamento das reflexões basais após a modificação da argila (RAPACZ-KMITA et al., 2017).

Para intercalação, foi utilizada sulfanilamida em dois valores de pH, pH = 4 e pH = 7. A sulfanilamida é um antibiótico de origem sintética, tendo como nome oficial 4-aminobenzenosulfonamida, possuindo em sua estrutura química os grupamentos amina e sulfonamida, conforme Figura 20.

Figura 20 - Estrutura química do antibiótico Sulfanilamida.



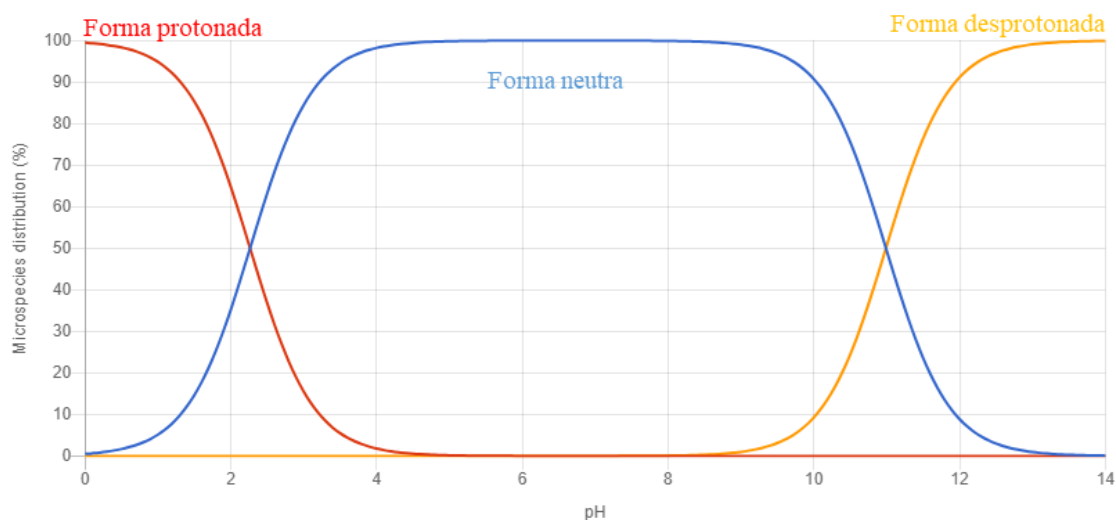
Fonte: Ovung; Bhattacharyya,(2021)

As sulfonamidas, grupo que inclui a sulfanilamida, são caracterizadas por dois valores de pK_a que indicam, respectivamente, a protonação do grupamento amina em pH = 2 a 3, e a desprotonação do grupo sulfonamida em pH = 5 a 11 (THIELE-BRUHN, 2003). Portanto, em soluções com $pH < pK_{a1}$, as sulfas são carregadas positivamente, em $pH > pK_{a2}$, são carregadas negativamente. No presente trabalho, duas condições de troca catiônica foram testadas: pH = 4 e pH = 7. A escolha do pH = 4 e pH = 7 baseou-se em estudos prévios, onde maiores quantidades de Sulfanilamida foram adsorvidas em faixas de pH variando de 4-8.

Nessa faixa de pH, há prevalência da adsorção por interações do tipo ligações de hidrogênio, por meio do grupamento amino, interações eletrostáticas do tipo íon-dipolo dos grupos funcionais protonados ou desprotonados com o material, assim como interações das espécies neutras com as cargas presentes na superfície da argila (MASSARIOL, 2019). O valor de pH está associado a ionização da molécula de Sulfanilamida, portanto, constitui fator crucial na interação com os argilominerais da Bentonita.

A Figura 21 fornece informações acerca da distribuição de cargas presentes na molécula de Sulfanilamida de acordo com o pH em que ela se encontra, variando desde a forma protonada até a forma desprotonada, passando pela neutra.

Figura 21 - Distribuição da estrutura da sulfanilamida em função do pH.

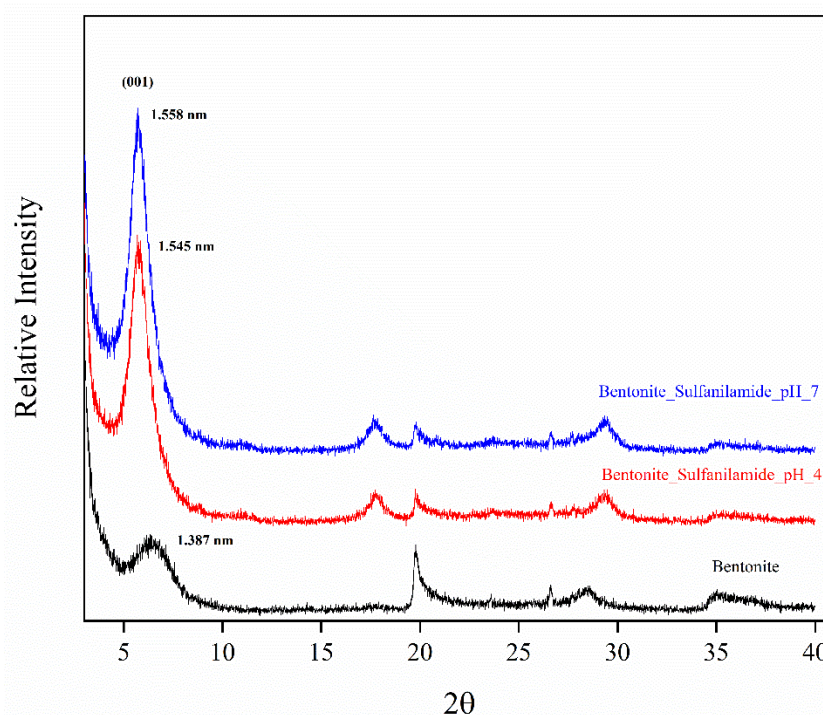


Fonte: Chemaxon

No pH = 4, tem-se 98,19% das moléculas na forma neutra e 1,81% na forma protonada. Em pH = 7, 99,99% das moléculas estão neutras, enquanto que 0,01% estão na forma desprotonada.

Os padrões de DRX da Bentonita e da Bentonita intercalada com Sulfanilamida estão ilustrados na Figura 22. O difratograma de raios-X do material de partida, apresentou a sua reflexão primária em torno de $6,38^\circ 2\theta$, que corresponde a um espaçamento basal $d_{(001)}$ de 13,87 Å ou 1,387 nm. Para o material trocado em pH = 4, ocorreu deslocamento da reflexão para o valor de $5,72^\circ 2\theta$, correspondendo a um espaçamento basal $d_{(001)}$ de 15,45 Å (1,545 nm). De forma análoga, para a argila intercalada com sulfanilamida em pH = 7 ocorreu deslocamento para valores menores de 2θ , sendo o valor encontrado de $5,67^\circ 2\theta$ e o correspondente espaçamento basal de 15,58 Å (1,558 nm).

Figura 22 - Difratomogramas de raios - X da bentonita e da bentonita contendo sulfanilamida em diferentes pHs.



O deslocamento mais pronunciado das reflexões dos materiais intercalados em valores diferentes de pH pode ser resultado da introdução do antibiótico sulfanilamida no espaço interlamelar da Bentonita, fato sustentado pelo aumento do espaçamento basal após a reação de intercalação com o antibiótico. Como a espessura de uma folha de montmorilonita é de 0,96 nm, a altura do espaço entre camadas da Bentonita contendo a Sulfanilamida pode ser estimada em aproximadamente 0,59 nm (1,55 nm – 0,96 nm) (KEVADIYA et al., 2012a).

Contudo, os difratogramas para os materiais trocados com Sulfanilamida apresentaram reflexões significativamente mais intensas que o material de partida. Tal fato pode indicar um maior ordenamento da estrutura do material, causado pela troca catiônica, e maior restauração da densidade de carga durante a inserção do antibiótico (KEVADIYA et al., 2014). As observações apontadas foram análogas às realizadas em outros estudos (JOSHI; KEVADIYA; BAJAJ, 2010; KEVADIYA et al., 2012b).

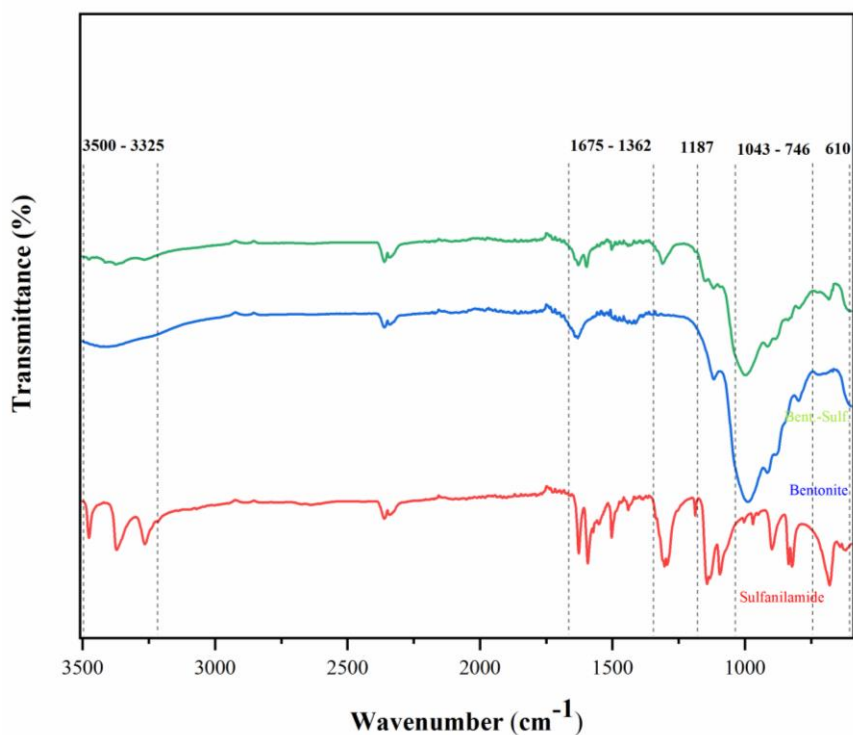
Na estrutura da Montmorilonita, os átomos inseridos em camadas únicas estão fortemente ligados entre si, mas as camadas adjacentes são empilhadas por forças dipolares fracas ou interações de Van der Waals, levando à intercalação de água ou moléculas orgânicas polares, fazendo com que a rede cristalina se expanda na direção c. A imperfeição da rede cristalina e a substituição isomórfica de cátions (alcalinos e alcalinos terrosos) no espaço

interlamelar propiciam o surgimento de alguma carga residual, que não é uniformemente distribuída em relação à região intercamada. Como resultado, a interestratificação ocorre com camadas de silicato desigualmente espaçadas devido a diferentes graus de hidratação. Conseqüentemente, algumas das camadas de silicato estão fortemente ligadas umas às outras e não permitem que as moléculas de antibiótico penetrem na camada de Montmorilonita. Por outro lado, as camadas de silicato que estão fracamente ligadas umas às outras, permitem que moléculas entrem nas camadas da argila (JOSHI et al., 2012).

5.4.2 Análise química estrutural da Bentonita contendo Sulfanilamida

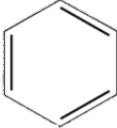
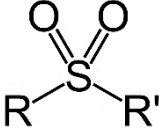
Na Figura 23, estão apresentados os espectros de infravermelho para a bentonita, bentonita intercalada com sulfanilamida em pH = 4 e sulfanilamida pura. Para o caso do sistema híbrido da argila contendo antibiótico, o espectro de infravermelho confirma as bandas características de ambos, bentonita e sulfanilamida. No Quadro 1, estão apresentadas algumas estruturas e seus respectivos números de onda, com o intuito de corroborar as informações contidas na Figura 19.

Figura 23 - Espectro de infravermelho da Bentonita, Bentonita-Sulfanilamida e Sulfanilamida pura.



Bent-Sulf.: Bentonita trocada com Sulfanilamida

Quadro 1 - Grupos funcionais e seus respectivos números de onda.

Número de onda (cm^{-1})			
1043 – 746 cm^{-1}	1628 – 1144 cm^{-1}	1313 e 1144 cm^{-1}	3500 – 3325 cm^{-1}
Estiramento S – N; C – S	Vibrações 		Aminas primárias

Fonte: autor.

Pela análise do gráfico, bandas características da Sulfanilamida estão visíveis no espectro da Bentonita, como destacado acima. Na zona destacada que compreende os comprimentos de onda 1043 – 746 cm^{-1} , estão presentes estiramentos S – N da sulfonamida, além do estiramento C – S. Nas demais zonas abaixo de 2000 cm^{-1} , estão presentes vibrações do esqueleto carbônico do anel benzênico (1628 e 1593 cm^{-1}), bandas características do grupo Sulfonil (1313 cm^{-1} e 1144 cm^{-1}), além de inúmeras bandas referentes às vibrações de deformações planares e extraplanares de átomos de hidrogênio adjacentes de anéis benzênicos. A zona compreendida entre 3500 – 3325 cm^{-1} são atribuídas ao grupamento amina primária presente na Sulfanilamida (CHANDRAN et al., 2011; GANESH et al., 2016).

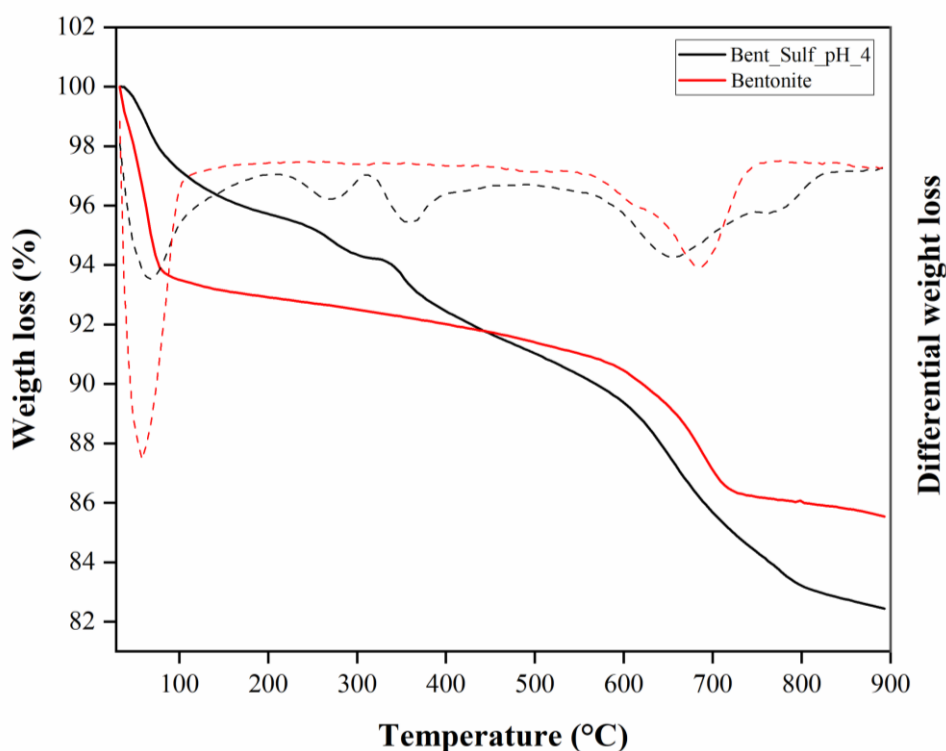
Portanto, a intercalação da Sulfanilamida na estrutura da argila fica evidenciada pela diferença nos espectros de infravermelho, com o espectro do material híbrido revelando similaridades entre os espectros dos materiais de partida, tanto da Bentonita como do antibiótico. O surgimento de bandas características do antibiótico, ou seja, que só ocorrem em virtude da sua estrutura única, pode, eventualmente, confirmar a interação dele com a argila em estudo. Inúmeros casos semelhantes são reportados na literatura, mesmo com drogas e suportes diferentes do utilizado na presente pesquisa (AMBROGI et al., 2017; FAJARDO et al., 2013; MA et al., 2015; RAPACZ-KMITA et al., 2017; SHAO et al., 2017).

Vale ressaltar que deslocamentos de bandas ou até mesmo o desaparecimento de algumas delas são previstos e podem ocorrer, não invalidando o processo de inserção do antibiótico na estrutura da argila. Tais eventos podem derivar da temperatura de intercalação e do deslocamento de moléculas de água no espaço interlamelar do material, também podem se originar da interação do molécula de Sulfanilamida com a argila (RAPACZ-KMITA et al., 2017).

5.4.3 Análise termogravimétrica da Bentonita contendo Sulfanilamida

O termograma da Bentonita contendo Sulfanilamida em pH= 4 é mostrado na Figura 24. Na figura, são apresentados, em conjunto, o termograma da Bentonita com e sem antibiótico, e suas respectivas DTGs. Percebe-se, de forma qualitativa, a diferença nítida entre as curvas, indicando a possível presença do antibiótico na estrutura da argila, reforçando as hipóteses levantadas nas outras caracterizações (DRX e FTIR).

Figura 24 - Curva termogravimétrica e sua derivada da argila Bentonita e da argila Bentonita contendo Sulfanilamida em pH = 4.

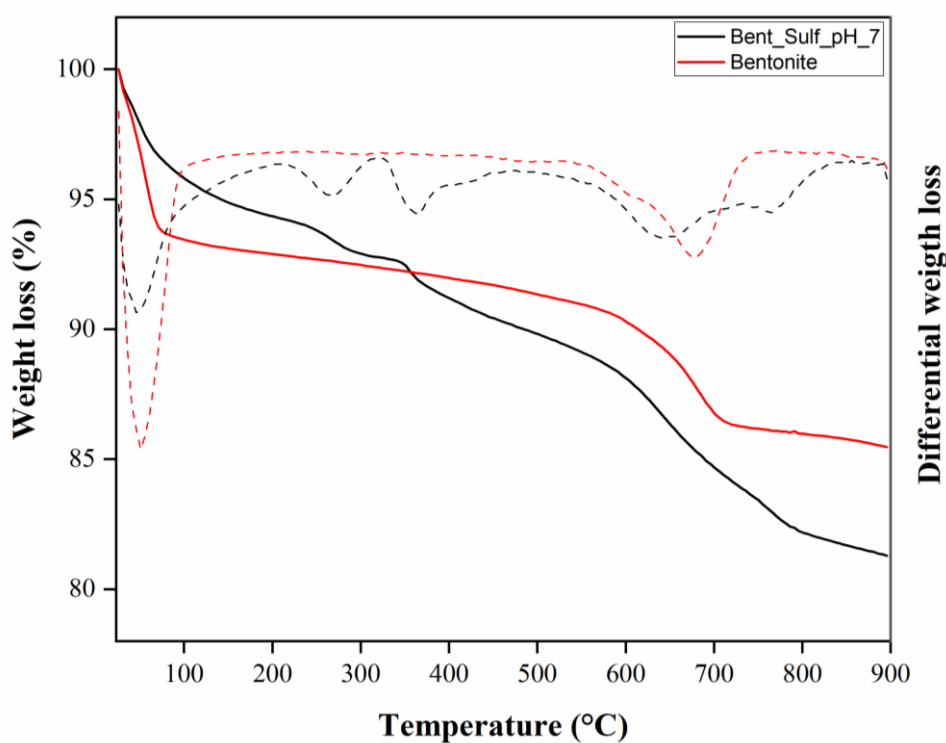


Com relação aos eventos de perda de massa, nota-se que os dois eventos referentes à Bentonita são mantidos. O primeiro, em torno de 100 °C, está relacionado a perda de moléculas de água, e o segundo, iniciando-se após os 100 °C e extendendo-se até próximo de 700 °C, diz respeito a desidroxilação da argila. Para o antibiótico, o primeiro evento, próximo aos 100 °C, continua sendo referente à perda de água na argila, contudo, os eventos compreendidos entre 300°C – 400°C referem-se à degradação térmica da Sulfanilamida fisicamente adsorvida, e entre 400°C e 700°C, ocorre tanto a degradação do antibiótico intercalado como a desidroxilação das lamelas da argila (AMBROGI et al., 2017). Os eventos de perda compreendidos entre 300 °C – 400 °C, podem ser observados em outros trabalhos utilizando

sulfonamidas, reforçando a tese da presença desse composto na estrutura da Bentonita (KHATTAB; HASSAN; AMER, 1981).

De forma análoga, o termograma da Bentonita contendo Sulfanilamida em pH= 7 apresentou semelhanças com o explicitado anteriormente, conforme Figura 25. Os eventos de perda de massa são idênticos e ocorrem nas mesmas faixas de temperatura. Portanto, fica evidenciada a presença da Sulfanilamida na estrutura da Bentonita em ambos os pHs, restando diferenciar se houve mudanças significativas na quantidade de antibiótico inserida em virtude da mudança de pH.

Figura 25 - Curva termogravimétrica e sua derivada da argila bentonita e da argila bentonita contendo sulfanilamida em pH = 7.



Na Tabela 10, estão apresentados os resíduos médios, as perdas de massa médias e a quantidade de antibiótico para as amostras contendo sulfanilamida em pH= 4 e pH= 7. O

Tabela 10 - Quantificação do antibiótico Sulfanilamida adsorvido na argila por meio de termogravimetria.

Quantificação de Sulfanilamida			
Amostra	Resíduo (%)	Perda de massa (%)	Sulfanilamida (%)
Bentonita	86,08 ± 0,86	13,92 ± 0,86	-
Bent._Sulf. pH 4	82,02 ± 0,57	17,98 ± 0,57	4,06 ± 1,44 ^a
Bent._Sulf. pH 7	81,26 ± 0,02	18,74 ± 0,02	4,82 ± 0,83 ^a

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade ($p < 0,05$). A quantificação foi realizada em triplicata ($n=3$).

Pelos valores encontrados para a quantidade de Sulfanilamida, infere-se que não houve diferença estatística significativa com a alteração do pH na inserção do antibiótico na estrutura do material em estudo.

A quantidade de Sulfanilamida encontrada para a Bentonita nos valores de pH trabalhados (4 e 7), ficou em torno de 4%, o que significa que a cada 100 mg do material 4 mg correspondem ao antibiótico.

Com relação a quantidade de sulfanilamida ser ou não adequada para inibição de microorganismos, alguns testes são necessários para o esclarecimento. No presente trabalho, a metodologia de disco difusão foi adotada para avaliação da inibição bacteriana, sendo uma das mais utilizadas na área biomédica.

Na literatura, os valores encontrados em trabalhos análogos ao aqui apresentado relatam valores diversos, não havendo um parâmetro adotado como correto ou fixo. Sun et al., (2020), trabalhando com fibras de alginato contendo Sulfanilamida, relatam quantidades em torno de 14,2 mg/g de fibra. Ma et al., (2015), utilizaram fibras de alginato contendo Sulfanilamida como material antibacteriano, variando as quantidades de antibiótico de 1% a 10%, obtendo fibras com 9,1 mg/g até 18,4 mg/g. Ambroggi et al., (2017), utilizaram filmes compósitos à base de Montmorilonita-quitosana-clorexidina como coberturas para feridas, obtendo, por meio de análise termogravimétrica, valores próximos a 30% de antibiótico.

5.5 FILMES COMPÓSITOS ANTIMICROBIANOS À BASE DE GELATINA

Nesta seção, os filmes na composição otimizada contendo o antibiótico serão caracterizados e testados *in vitro* frente a microrganismos de interesse em saúde pública e relacionando a feridas.

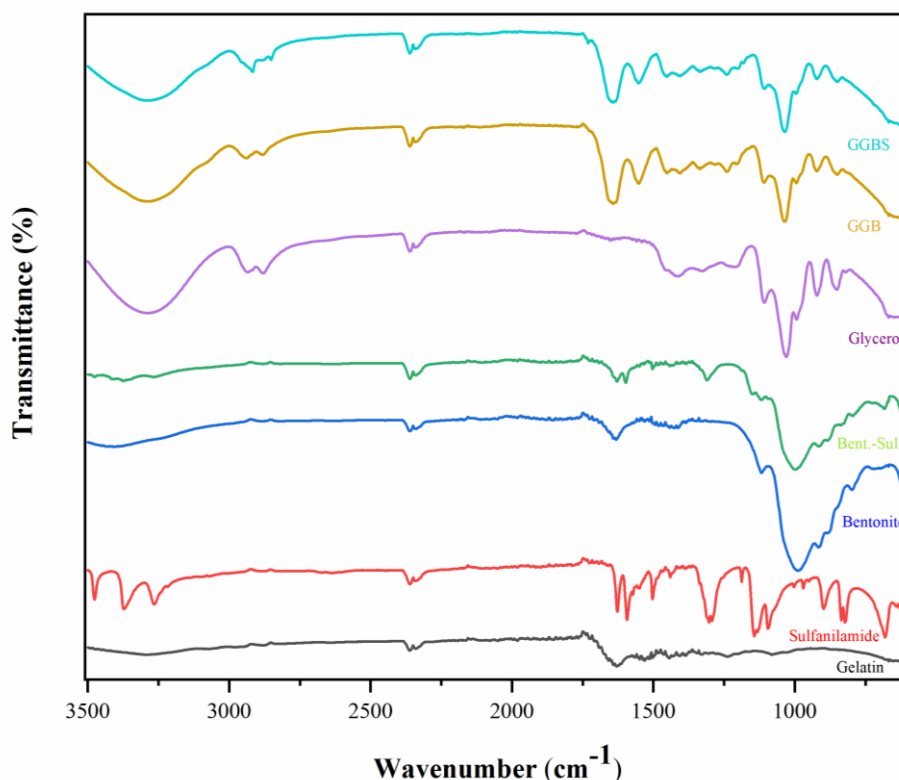
5.5.1 Filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida

A última etapa do trabalho contemplou a síntese de filmes compósitos contendo a argila e o antibiótico em estudo. Como citado anteriormente em outros tópicos, a mudança do pH de inserção do antibiótico não acarretou em mudanças na quantidade incorporada à argila. Contudo, neste tópico, serão abordadas características importantes na tecnologia de filmes, que podem ser afetadas ou não pela presença do antibiótico e pela quantidade incorporada.

5.5.2 Análise química estrutural dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida

Os espectros de infravermelho para os filmes compósitos e para os componentes individuais são mostrados na Figura 26.

Figura 26 - Espectros de infravermelho dos filmes compósitos e de seus componentes individuais.



Bent-Sulf: Bentonita trocada com Sulfanilamida; GGB: Filme de gelatina contendo glicerol e Bentonita; GGBS: Filme de gelatina contendo glicerol, Bentonita e Sulfanilamida.

Pela observação dos espectros, é notória a sobreposição e o deslocamento de bandas dos materiais compósitos em relação aos componentes individuais, sobretudo comparando-se o espectro do glicerol (plastificante) com os filmes de Gelatina que o levam em sua composição.

Provavelmente, a semelhança entre tais espectros ocorra em virtude da quantidade de glicerol utilizada na síntese dos filmes. Além disso, o plastificante e o biopolímero apresentam afinidade química, o que acaba dificultando o discernimento entre ambos.

As bandas posicionadas entre 3500 a 3000 cm^{-1} nos espectros dos filmes, são características tanto da Gelatina como do glicerol, e correspondem ao alongamento das ligações N – H dos grupamentos amina e também dos grupos -OH. As bandas observadas entre 2930 e 2870 cm^{-1} estão relacionadas ao estiramento C – H, também presente em ambos, Gelatina e glicerol. Por fim, outra banda que se superpõe ocorre em torno de 1030 cm^{-1} , correspondendo ao estiramento da ligação C – O (HUBNER et al., 2020).

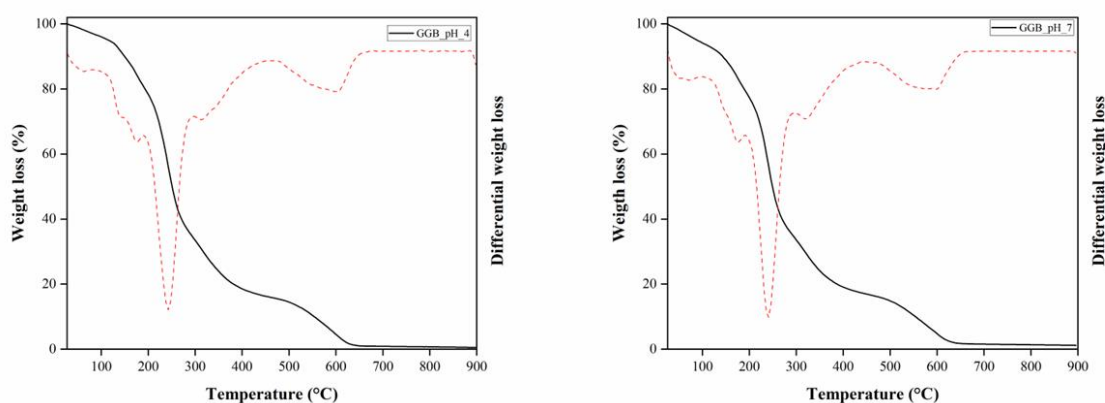
Portanto, os resultados obtidos por meio da espectroscopia na região do infravermelho indicam que a Gelatina possui boa interação com a Bentonita e o antibiótico, e que tais interações podem, provavelmente, ser do tipo ligações de hidrogênio entre os grupamentos C-

H e Si-O-Si (KEVADIYA et al., 2014). O indicativo de interação também fica claro pela observação da boa dispersão da argila na matriz do biopolímero.

5.5.3 Análise termogravimétrica dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida

A análise termogravimétrica dos filmes contendo gelatina, glicerol, Bentonita e Sulfanilamida, aqui chamados de GGB - pH - 4 e GGB - pH -7, foi realizada com o intuito de se investigar a estabilidade térmica do material compósito. Pela análise dos termogramas, apresentados na Figura 27, pode-se perceber que não houve diferença significativa entre ambos os materiais, até porque eles não diferem na composição, exceto pelo pH de inserção da Sulfanilamida na argila.

Figura 27 - Termograma dos filmes compósitos contendo antibiótico em diferentes pHs.



GGB_pH4: Filme de gelatina, glicerol, Bentonita e Sulfanilamida trocada em pH = 4; GGB_pH7: Filme de gelatina, glicerol, Bentonita e Sulfanilamida trocada em pH = 7.

Os filmes foram estáveis até aproximadamente 242 °C e revelaram comportamento de decomposição em seis etapas. A perda de massa inicial, até 200 °C, refere-se quase que completamente a água adsorvida. Acima de 242 °C, há perda moderada de massa. A completa degradação térmica da Gelatina ocorre entre 500 °C – 600 °C, devido a desintegração das ligações das amidas entre as cadeias polipeptídicas da Gelatina e das ligações de hidrogênio formadas com o complexo Sulfanilamida-Bentonita (KEVADIYA et al., 2014). As demais regiões de perda seguiram o padrão previsto dos termogramas apresentados anteriormente, sobretudo no que se refere à Bentonita.

5.5.4 Conteúdo de umidade e solubilidade dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida

Os filmes sintetizados e testados seguiram o protocolo otimizado, definido de acordo com a metodologia de superfície de resposta. Nesse sentido, busca-se definir se o antibiótico influenciou, de maneira positiva ou negativa, alguma propriedade em estudo.

Na Tabela 11, estão apresentados os resultados obtidos para conteúdo de umidade e solubilidade dos filmes compósitos contendo antibiótico (pH= 4 e 7).

Tabela 11 - Conteúdo de umidade e solubilidade dos filmes contendo Sulfanilamida em diferentes pHs.

Filmes	Conteúdo de umidade (%)	Solubilidade (%)
GGB - pH4	37,58 ± 3,43 ^a	65,53 ± 0,40 ^a
GGB - pH7	34,66 ± 2,43 ^a	65,75 ± 0,58 ^a
GGB - Branco	41,25 ± 5,32 ^a	64,86 ± 0,97 ^a

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna apresentam diferenças significativas, pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade ($p < 0,05$). GGB – pH4: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita trocada em pH = 4; GGB – pH7: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita trocada em pH = 7; GGB – Branco: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita. Para todas as análises $n=3$.

O fator pH de inserção do antibiótico não resultou em diferenças significativas nas propriedades testadas ($p > 0,05$). Tais fatos podem estar relacionados a quantidade de antibiótico na estrutura do filme ou pouca influência do antibiótico nas propriedades em estudo.

Do ponto de vista técnico, o conteúdo de umidade constitui fator importante na redução da formação de cicatrizes, ao mesmo tempo em que facilita a epitelização e a migração celular para o leito da ferida (KOEHLER; BRANDL; GOEPFERICH, 2018). Além disso, em alguns tipos de feridas são requeridas coberturas bioativas, ou seja, que liberem alguma substância adicionada, como um antibiótico, sendo a solubilidade um fator interessante a ser controlado e estudado (BOATENG; CATANZANO, 2015).

A escolha dos valores para a umidade e solubilidade não são orientados única e exclusivamente pela literatura, visto que não existem normas predeterminados para essas propriedades. Então, além de critérios subjetivos para a escolha de tais valores, o mais adequado seria conduzir testes *in vivo* e/ou *in vitro* para o ajuste desses parâmetros.

5.5.5 Capacidade de absorção de água dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida

Na Tabela 12 são mostrados os resultados para a capacidade de absorção de água como função do tempo para os filmes GGB-pH4, GGB-pH7 e GGB - Branco.

Tabela 12 - Capacidade de absorção dos filmes contendo Sulfanilamida.

Filmes	Capacidade de absorção (%)		
	1 min	30 min	60 min
GGB - Branco	58,26 ± 4,46 ^{aA}	141,31 ± 17,29 ^{bB}	154,95 ± 2,12 ^{bB}
GGB - pH4	36,94 ± 4,54 ^{aA}	149,03 ± 30,97 ^{bB}	243,80 ± 14,80 ^{cB}
GGB - pH7	37,22 ± 14,62 ^{aA}	147,68 ± 1,74 ^{bB}	212,59 ± 7,68 ^{cB}

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna apresentam diferenças significativas, pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha apresentam diferenças significativas, pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade ($p < 0,05$). GGB - pH4: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita e Sulfanilamida trocada em pH = 4; GGB - pH7: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita e Sulfanilamida trocada em pH = 7; GGB - Branco: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita. A análise foi feita em duplicata (n=2).

Fica evidente, pela análise dos valores obtidos, a tendência de aumento da absorção no decorrer do tempo em todos os filmes.

No tempo máximo de 60 minutos, os filmes contendo Sulfanilamida apresentaram maior capacidade de absorção. Uma possível explicação seria a introdução de um antibiótico que é hidrossolúvel, com capacidade de interagir com moléculas de água ou o fato de o antibiótico promover algum tipo de repulsão entre as cadeias poliméricas, resultando em um maior distanciamento entre elas e o aumento da absorção.

Shao et al., (2017), trabalhando com filmes compósitos à base de alginato e celulose bacteriana, encontraram tendência semelhante, ou seja, aumento da capacidade de absorção com o aumento da quantidade de antibiótico. Contudo, tratava-se da sulfadiazina de prata, que nas condições utilizadas estava carregada negativamente, causando afastamento das cadeias poliméricas e aumentando o conteúdo absorvido.

Ganesh et al., (2016), entretanto, utilizando Sulfanilamida em formulações de nanofibras de polivinil e quitosana, encontraram tendência de redução no grau de absorção dos filmes, justificando a formação de ligações de hidrogênio entre o antibiótico e as cadeias poliméricas, fato que impediria ou dificultaria a entrada de fluidos. Tendência semelhante foi encontrada por Ma et al., (2015) em fibras de alginato com Sulfanilamida, onde a adição

crescente de antibiótico, resultou em decréscimo de absorção. Tal fato foi justificado pela presença de interações eletrostáticas entre o grupamento carboxila do alginato com o grupamento amina da Sulfanilamida, reduzindo a afinidade por água do grupo carboxil.

Portanto, a adição da Sulfanilamida pode ou não causar aumento da capacidade de absorção, sendo necessária uma maior bateria de análises onde a concentração do antibiótico possa ser variada, mantendo-se fixos os demais parâmetros utilizados na síntese otimizada.

A capacidade de absorção de água é, talvez, a característica mais importante no desenvolvimento de coberturas, porque previne a desidratação excessiva e a acumulação de exsudato. Absorções da ordem de 200% são adequadas para a drenagem de exsudato em excesso e para manutenção do ambiente úmido, condições importantes para o sucesso da cicatrização da ferida (HUBNER et al., 2020).

Os filmes aqui estudados enquadram-se como promissores no manejo de feridas, embora esse campo seja vasto e requeira, muitas vezes, que várias coberturas sejam utilizadas em um mesmo ferimento, dependendo do estágio em que ele se encontre (SILVA et al., 2017).

5.5.6 Testes *in vitro* dos filmes de Gelatina com Bentonita e Sulfanilamida

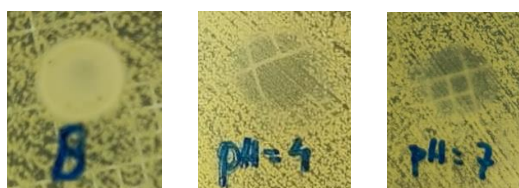
Os resultados de inibição por disco-difusão para todos os filmes estão sumarizados na Tabela 13.

Tabela 13 - Atividade antimicrobiana dos filmes compósitos contendo Sulfanilamida.

d ₀ = 4 mm	Halo de inibição (mm)		
	GGB Branco	GGB - pH4	GGB - pH7
<i>E.coli</i>	4	6,50 ± 0,36 ^a	6,59 ± 0,23 ^a



<i>S.aureus</i>	4	7,67 ± 0,23 ^a	7,44 ± 0,53 ^a
-----------------	---	--------------------------	--------------------------



GGB – pH4: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita e Sulfanilamida trocada em pH = 4; GGB – pH7: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita e Sulfanilamida trocada em pH = 7; GGB – Branco: Filme de gelatina/glicerol/Bentonita. As análises foram realizadas em triplicata (n=3). Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma linha apresentam diferenças significativas, pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

A inibição encontrada para ambos os microrganismos foi satisfatória, no entanto, especula-se que, considerando o tamanho reduzido dos discos utilizados (4 mm) e a quantidade de antibiótico neles contida, melhores resultados poderiam ser obtidos em termos de difusão do antibiótico, caso sejam empregados discos de maior dimensão.

Com relação à extensão da inibição obtida, de acordo com o *Standard Antibacterial test* SNV 195920 - 1992 uma zona de inibição maior que 1mm é considerado um bom resultado, e a presença de zona menor que 1 mm como razoavelmente bom (POLLINI et al., 2011; RAGHAVENDRA et al., 2014).

O filme sem antibiótico (GGB Branco), não apresentou inibição alguma, o que evidencia que os materiais que compõem o filme sem antibiótico não possuem qualquer atividade inibitória no crescimento dos microrganismos testados. Resultados semelhantes foram reportados em pesquisas que empregaram discos com dimensões maiores que no presente trabalho, variando de 10 mm até 30 mm (HUBNER et al., 2020; MARTUCCI; RUSECKAITE, 2017; SHAO et al., 2017).

Embora apresente inibição frente a microrganismos de interesse no campo da saúde pública e em um teste amplamente utilizado em laboratórios do mundo todo, faz-se necessário a utilização de outros meios para validar a capacidade antimicrobiana do filme em estudo, sobretudo os testes *in vivo*.

Vale ressaltar que a toxicidade dos componentes dos filmes compósitos aqui testados já são conhecidas na literatura médica. A Montmorilonita, por exemplo, é amplamente utilizada nas mais diversas áreas, sobretudo em cosméticos e medicamentos, sendo considerada segura, exceto em altas concentrações e por longos tempos de exposição, constatado ainda por meio de testes *in vivo* que a dosagem de 1,000 mg/kg não causou citotoxicidade (BAEK; LEE; CHOI, 2012). Com relação à genotoxicidade, há indícios que a Montmorilonita seja potencialmente genotóxica, entretanto, mais pesquisas precisam ser desenvolvidas para elucidar o mecanismo de genotoxicidade (MAISANABA et al., 2016).

A gelatina não apresenta toxicidade, mesmo quando aplicada na forma de filmes ou esponjas, degradando-se rapidamente *in vivo*, exceto quando algum agente químico é utilizado na formação de ligações cruzadas (ULUBAYRAM et al., 2002), o que não constitui objetivo do presente trabalho. O glicerol é outro componente vastamente aplicado na indústria, considerado seguro e atóxico (HIDAYATI et al., 2021). Com relação à Sulfanilamida, assim como qualquer medicamento, seu uso de forma inadequada pode trazer efeitos colaterais adversos. Contudo, os efeitos que potencializam a sua toxicidade são: duração e dosagem do tratamento, idade do paciente, estado nutricional do usuário e o estado de saúde dos seus rins (OVUNG; BHATTACHARYYA, 2021b).

Embora bem documentados em literatura, os testes *in vitro* complementares dos filmes reunindo todos estes componentes nas proporções propostas precisam ser realizados, no intuito de verificar-se a toxicidade dos filmes compósitos em células de mamíferos, fator relevante para a proposição do seu uso como cobertura de feridas.

6 CONCLUSÃO

No presente trabalho foram desenvolvidos filmes de gelatina, glicerol e Bentonita impregnada com o antibiótico Sulfanilamida visando a utilização como coberturas para feridas.

Por meio de planejamento de experimentos utilizando a metodologia de Box-Behnken foi possível obter uma composição otimizada para os filmes: 14,88% Gelatina (m/v), 15% Glicerol (v/v) e 2,5% Bentonita (m/v).

A Bentonita apresentou resultado satisfatório como plataforma de adsorção do antibiótico Sulfanilamida em diferentes pHs, tendo como CTC o valor de $93 \pm 1,3$ meq/100g,

Os filmes sintetizados na composição otimizada apresentaram boas propriedades físico-químicas, sobretudo no que diz respeito a capacidade de absorção, onde foi observado valores maiores que 200%, umidade e solubilidade, parâmetros importantes na tecnologia de coberturas, atestando que a metodologia utilizada foi eficaz na síntese de novos materiais compósitos na forma de filmes.

Os filmes antimicrobianos na composição otimizada apresentaram características adequadas com relação a capacidade de absorção de água, umidade e solubilidade. Além disso, atestou-se que a concentração de 5% de Sulfanilamida contida nos filmes foi a responsável pela inibição de bactérias gram-negativas e gram-positivas de interesse nos cuidados com feridas.

Por fim, os materiais obtidos neste estudo são promissores e podem futuramente ser aplicados como coberturas para feridas, atuando como filme antimicrobiano e auxiliando na manutenção de um ambiente adequado para a completa cicatrização do ferimento. Contudo, mais testes e caracterizações, sobretudo os *in vivo*, precisam ser conduzidos para o aprimoramento da cobertura e para a avaliação da sua eficácia.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, Sajad; RAOUFI, Zeinab. Gelatin/Persian gum/bacterial nanocellulose composite films containing Frankincense essential oil and Teucrium polium extract as a novel and bactericidal wound dressing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [S. l.], p. 103423, 2022. ISSN: 17732247. DOI: 10.1016/j.jddst.2022.103423. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224722003331>.
- AGUIRRE-LOREDO, Rocío Yaneli; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, Adriana Inés; MORALES-SÁNCHEZ, Eduardo; GÓMEZ-ALDAPA, Carlos Alberto; VELAZQUEZ, Gonzalo. Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 196, p. 560–566, 2016. ISSN: 18737072. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.065.
- AHMADY, Amina; ABU SAMAH, Nor Hayati. A review: Gelatine as a bioadhesive material for medical and pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 608, n. August, p. 121037, 2021. ISSN: 18733476. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.121037. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121037>.
- AJITERU, Olatunji; LEE, Ok Joo; KIM, Jung-Ho; LEE, Young Jin; LEE, Ji Seung; LEE, Hanna; SULTAN, Md. Tipu; PARK, Chan Hum. **Fabrication and characterization of a myrrh hydrocolloid dressing for dermal wound healing. Colloid and Interface Science Communications** 2022. ISSN: 22150382. DOI: 10.1016/j.colcom.2022.100617.
- ALEXANDRE, Elisabete Maria Cruz; LOURENÇO, Rodrigo Vinícius; BITTANTE, Ana Mônica Quinta Barbosa; MORAES, Izabel Cristina Freitas; SOBRAL, Paulo José do Amaral. **Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications. Food Packaging and Shelf Life** 2016. ISSN: 22142894. DOI: 10.1016/j.fpsl.2016.10.004.
- ALVES, J. L.; ZANINI, A. E.; DE SOUZA, M. E.; NASCIMENTO, M. L. F. Study of selection and purification of Brazilian bentonite clay by elutriation: a XRF, SEM and Rietveld analysis. [S. l.], v. 62, p. 1–8, 2016. DOI: 10.1590/0366-69132016623611942.
- AMBROGI, Valeria; PIETRELLA, Donatella; NOCCHETTI, Morena; CASAGRANDE, Serena; MORETTI, Veronica; DE MARCO, Stefania; RICCI, Maurizio. **Montmorillonite–chitosan–chlorhexidine composite films with antibiofilm activity and improved cytotoxicity for wound dressing. Journal of Colloid and Interface Science** 2017. ISSN: 10957103. DOI: 10.1016/j.jcis.2016.12.058.
- BAEK, Miri; LEE, Jeong A.; CHOI, Soo Jin. Toxicological effects of a cationic clay, montmorillonite in vitro and in vivo. **Molecular and Cellular Toxicology**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 95–101, 2012. ISSN: 1738642X. DOI: 10.1007/s13273-012-0012-x.
- BAJIĆ, Marijan; OBERLINTNER, Ana; KÖRGE, Kristi; LIKOZAR, Blaž; NOVAK, Uroš. Formulation of active food packaging by design: Linking composition of the film-forming solution to properties of the chitosan-based film by response surface methodology (RSM) modelling. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 160, p. 971–978, 2020. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.186.
- BALA, P.; SAMANTARAY, B. K.; SRIVASTAVA, S. K. Dehydration transformation in Ca-montmorillonite. **Bulletin of Materials Science**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 61–67, 2000. ISSN:

02504707. DOI: 10.1007/BF02708614.

BALAKRISHNAN, Biji; MOHANTY, M.; UMASHANKAR, P. R.; JAYAKRISHNAN, A. Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin. **Biomaterials**, [S. l.], v. 26, n. 32, p. 6335–6342, 2005. ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.04.012.

BARBOSA, Raul; VILLARREAL, Alexa; RODRIGUEZ, Cristobal; DE LEON, Heriberto; GILKERSON, Robert; LOZANO, Karen. **Aloe Vera extract-based composite nanofibers for wound dressing applications**. **Materials Science and Engineering C** 2021. ISSN: 18730191. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112061.

BEN, Zhu Ying; SAMSUDIN, Hayati; YHAYA, Mohd Firdaus. Glycerol: Its properties, polymer synthesis, and applications in starch based films. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 175, n. May, 2022. ISSN: 00143057. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111377.

BERTHET, Morgane; GAUTHIER, Yves; LACROIX, Céline; VERRIER, Bernard; MONGE, Claire. Nanoparticle-Based Dressing: The Future of Wound Treatment? **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 35, n. 8, p. 770–784, 2017. ISSN: 01677799. DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.05.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779917301130>.

BOATENG, Joshua; CATANZANO, Ovidio. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing - A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 104, n. 11, p. 3653–3680, 2015. ISSN: 15206017. DOI: 10.1002/jps.24610. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/jps.24610>.

BORGES, Eline Lima; SAAR, Sandra Regina da Costa; MAGALHÃES, Myrian Biaso Bacha; GOMES, Flávia Sampaio Latini; LIMA, Vera Lúcia de Araújo. **Feridas: como tratar**. 2ª edição ed., Belo Horizonte: Coopmed, 2008. 246 p. ISBN: 978-85-85002-96-1.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, [S. l.], v. 6.2, p. 127–139, 2011.

BURKERSRODA, Friederike Von; SCHEDL, Luise; GÖPFERICH, Achim. Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. **Biomaterials**, [S. l.], v. 23, n. 21, p. 4221–4231, 2002. ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00170-9.

CAETANO, Elenice Hass. **CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA DE ARGILAS BENTONÍICAS**. 2015. 92 f. [S. l.], 2015.

CALLISTER JR, Willian D. **Ciência e engenharia de materiais: Uma introdução**. 5ª ed. ed., Rio de Janeiro: LTC, 2002. 620 p.

CAMILA, Hilda; NOGUEIRA, Nascimento. Bentonita incorporada com rejeito de granito aplicada na pelotização de minério de ferro Bentonite incorporated with granite tailings applied in iron ore pelletizing Bentonita incorporada con relaves graníticos aplicada en peletización de mineral de hierr. [S. l.], v. 2022, p. 1–12, 2022. ISBN: 0000000302.

CAO, Na; YANG, Xinmin; FU, Yuhua. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 729–735, 2009. ISSN: 0268005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.017>.

CHANDRA, R.; RUSTGI, Renu. Biodegradable Polymers. **Progress in Polymer Science**, [S. l.],

l., v. 23, n. 97, p. 1273–1335, 1998.

CHANDRAN, Asha; MARY, Y. Shyma; VARGHESE, Hema Tresa; PANICKER, C. Yohannan; PAZDERA, Pavel; RAJENDRAN, G. FT-IR, FT-Raman spectroscopy and computational study of (E)-4-((anthracen-9-ylmethylene)amino)-N-carbamimidoylbenzene sulfonamide. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [*S. l.*], v. 79, n. 5, p. 1584–1592, 2011. ISSN: 13861425. DOI: 10.1016/j.saa.2011.05.015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2011.05.015>.

CHONG, Chi Cheng; AQSHA, Aqsha; AYOUB, Muhammad; SAJID, Muhammad; ABDULLAH, Ahmad Zuhairi; YUSUP, Suzana; ABDULLAH, Bawadi. A review over the role of catalysts for selective short-chain polyglycerol production from biodiesel derived waste glycerol. **Environmental Technology and Innovation**, [*S. l.*], v. 19, p. 100859, 2020. ISSN: 23521864. DOI: 10.1016/j.eti.2020.100859. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100859>.

COSTA, Nuno R.; LOURENÇO, João; PEREIRA, Zulema L. Desirability function approach: A review and performance evaluation in adverse conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, [*S. l.*], v. 107, n. 2, p. 234–244, 2011. ISSN: 01697439. DOI: 10.1016/j.chemolab.2011.04.004.

COSTA, Tharsia Cristiany De Carvalho; MELO, José Daniel Diniz; PASKOCIMAS, Carlos Alberto. Thermal and chemical treatments of montmorillonite clay. **Ceramics International**, [*S. l.*], v. 39, n. 5, p. 5063–5067, 2013. ISSN: 02728842. DOI: 10.1016/j.ceramint.2012.11.105.

DA SILVA, A. L.; LUNA, C. B. B.; CHAVES, A. C.; NEVES, G. A. Technological characterization of new clay deposits in the south region of amapá aiming applications in the ceramic industry. **Revista Materia**, [*S. l.*], v. 22, n. 1, 2017.

DAI, Hongjie; PENG, Lin; WANG, Hongxia; FENG, Xin; MA, Liang; CHEN, Hai; YU, Yong; ZHU, Hankun; ZHANG, Yuhao. Improved properties of gelatin films involving transglutaminase cross-linking and ethanol dehydration: The self-assembly role of chitosan and montmorillonite. **Food Hydrocolloids**, [*S. l.*], v. 132, n. May, 2022. ISSN: 0268005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2022.107870.

DONG, Ruonan; GUO, Baolin. **Smart wound dressings for wound healing**. **Nano Today** 2021. ISSN: 1878044X. DOI: 10.1016/j.nantod.2021.101290.

ECHEVERRÍA, Ignacio; LÓPEZ-CABALLERO, M. Elvira; GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen; MAURI, Adriana N.; MONTERO, M. Pilar. Structure, Functionality, and Active Release of Nanoclay–Soy Protein Films Affected by Clove Essential Oil. **Food and Bioprocess Technology**, [*S. l.*], v. 9, n. 11, p. 1937–1950, 2016. ISSN: 19355149. DOI: 10.1007/s11947-016-1777-z.

EDELMAN, C. H.; FAVEJEE, J. Ch. L. On the Crystal Structure of Montmorillonite and Halloysite. **Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials**, [*S. l.*], v. 102, n. 1–6, p. 417–431, 1940. ISSN: 2194-4946. DOI: 10.1524/zkri.1940.102.1.417.

ELKHALIFAH, Ali E. I.; MAITRA, Saikat. Thermogravimetric analysis of different molar mass ammonium cations intercalated different cationic forms of montmorillonite. **J Therm Anal Calorim**, [*S. l.*], v. 110, p. 765–771, 2012. DOI: 10.1007/s10973-011-1977-8.

EMAMI-RAZAVI, S. H.; ESMAEILI, N.; FOROUZANNIA, S. K.; AMANPOUR, S.; RABBANI, S.; ALIZADEH, A. M.; MOHAGHEGHI, M. A. Effect of Bentonite on skin

wound healing: Experimental study in the rat model. **Acta Medica Iranica**, [S. l.], v. 44, n. 4, p. 235–240, 2006. ISSN: 00446025.

ESSA, M. Mohamed; MANICKAVASAGAN, A.; SUKUMAR, E. Natural products and their active compounds on disease prevention. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, [S. l.], v. 6, p. 1–514, 2012. ISBN: 9781621001539.

ETEUBU, Ebimieowei; ARIKEKPAR, Ibemologi. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. **Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 90–101, 2016. DOI: 10.33500/ijambr.2016.04.011. Disponível em: http://www.bluepenjournals.org/ijambr/pdf/2016/October/Etebu_and_Arikekpar.pdf.

FAJARDO, André R.; LOPES, Laís C.; CALEARE, Angelo O.; BRITTA, Elizandra A.; NAKAMURA, Celso V.; RUBIRA, Adley F.; MUNIZ, Edvani C. Silver sulfadiazine loaded chitosan/chondroitin sulfate films for a potential wound dressing application. **Materials Science and Engineering: C**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 588–595, 2013. ISSN: 09284931. DOI: 10.1016/j.msec.2012.09.025. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493112004572>.

FAROKHI, Mehdi; MOTTAGHITALAB, Fatemeh; FATAHI, Yousef; KHADEMOSSEINI, Ali; KAPLAN, David L. **Overview of Silk Fibroin Use in Wound Dressings. Trends in Biotechnology** 2018. (9) ISSN: 18793096. DOI: 10.1016/j.tibtech.2018.04.004.

FASCIOTTI, Maíra. Perspectives for the use of biotechnology in green chemistry applied to biopolymers, fuels and organic synthesis: from concepts to a critical point of view. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, [S. l.], v. 6, n. September, p. 82–89, 2017. ISSN: 23525541. DOI: 10.1016/j.scp.2017.09.002.

FENG, Si-Shen; MEI, Lin; ANITHA, Panneerselvan; GAN, Chee Wee; ZHOU, Wenyoun. Poly(lactide)–vitamin E derivative/montmorillonite nanoparticle formulations for the oral delivery of Docetaxel. **Biomaterials**, [S. l.], v. 30, n. 19, p. 3297–3306, 2009. ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.02.045. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9789814463157/chapters/10.1201/b15645-41>.

FERREIRA, S. L. C. et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 597, n. 2, p. 179–186, 2007. ISSN: 00032670. DOI: 10.1016/j.aca.2007.07.011.

FLAKER, Christian H. C.; LOURENÇO, Rodrigo V.; BITTANTE, Ana M. Q. B.; SOBRAL, Paulo J. A. **Gelatin-based nanocomposite films: A study on montmorillonite dispersion methods and concentration. Journal of Food Engineering** 2015. ISSN: 02608774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2014.11.009.

FORTHOFER, Ronald N.; LEE, Eun Sul; HERNANDEZ, Mike. Interval Estimation. *In: Biostatistics*. [s.l.] : Elsevier, 2007. p. 169–212. DOI: 10.1016/B978-0-12-369492-8.50012-1. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781482214925/chapters/10.1201/b14832-13>.

FRANCIS, Raju; SASIKUMAR, Soumya; GOPALAN, Geethy P. Synthesis, structure, and properties of biopolymers (natural and synthetic). **Polymer Composites, Biocomposites**, [S. l.], v. 3, p. 11–107, 2013. ISBN: 9783527674220. DOI: 10.1002/9783527674220.ch2.

GANESAN, P. **Natural and bio polymer curative films for wound dressing medical applications. Wound Medicine** 2017. ISSN: 22139109. DOI: 10.1016/j.wndm.2017.07.002.

GANESH, Mani; AZIZ, Abidov Sch; UBaidULLA, Udumansha; HEMALATHA, Pushparaj; SARAVANAKUMAR, Arthanari; RAVIKUMAR, Rramaswamy; PENG, Mei Mei; CHOI, Eun Young; JANG, Hyun Tae. Sulfanilamide and silver nanoparticles-loaded polyvinyl alcohol-chitosan composite electrospun nanofibers: Synthesis and evaluation on synergism in wound healing. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [S. l.], v. 39, p. 127–135, 2016. ISSN: 22345957. DOI: 10.1016/j.jiec.2016.05.021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2016.05.021>.

GARCÍA-VILLÉN, Fátima; SOUZA, Iane M. S.; DE MELO BARBOSA, Raquel; BORREGO-SÁNCHEZ, Ana; SÁNCHEZ-ESPEJO, Rita; OJEDA-RIASCOS, Santiago; IBORRA, César V. Natural Inorganic Ingredients in Wound Healing. **Current Pharmaceutical Design**, [S. l.], v. 26, n. 6, p. 621–641, 2020. ISSN: 13816128. DOI: 10.2174/1381612826666200113162114.

GASPAR-PINTILIESCU, Alexandra; STANCIUC, Ana Maria; CRACIUNESCU, Oana. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 138, p. 854–865, 2019. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.155. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.155>.

GE, Liming; LI, Xinying; ZHANG, Run; YANG, Tianhan; YE, Xiaowei; LI, Defu; MU, Changdao. Development and characterization of dialdehyde xanthan gum crosslinked gelatin based edible films incorporated with amino-functionalized montmorillonite. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 51, p. 129–135, 2015. ISSN: 0268005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.04.029.

GEORGE, Ashish; SANJAY, M. R.; SRISUK, Rapeeporn; PARAMESWARANPILLAI, Jyotishkumar; SIENGCHIN, Suchart. A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 154, p. 329–338, 2020. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.03.120. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.120>.

GHASEMLOU, Mehran; KHODAIYAN, Faramarz; OROMIEHIE, Abdulrasoul. Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 84, n. 1, p. 477–483, 2011. ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.12.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.010>.

GORGIEVA, Selestina; KOKOL, Vanja. Biomaterials and Their Biocompatibility : Review and Perspectives. **Biomaterials Applications for Nanomedicine**, [S. l.], 2011. DOI: 10.5772/1957. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/biomaterials-applications-for-nanomedicine>.

GOY, Rejane C.; MORAIS, Sinara T. B.; ASSIS, Odilio B. G. Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on E. Coli and S. aureus growth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 122–127, 2016. ISSN: 1981528X. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.09.010.

GUILLET, JAMES. Fundamental Processes in the Photodegradation of Polyolefins. [S. l.], p. 1–15, 1968. DOI: 10.1021/ba-1978-0169.ch001.

HANSES, Frank. Bakterielle Haut- und Weichteilinfektionen. **Zeitschrift für Rheumatologie**, [S. l.], v. 76, n. 9, p. 745–751, 2017. ISSN: 0340-1855. DOI:

10.1007/s00393-017-0378-1. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00393-017-0378-1>.

HARIRIAN, Yasamin; ASEFNEJAD, Azadeh; HAMISHEHKAR, Hamed; FARAHPOUR, Mohammad Reza. Carboxymethyl chitosan-gelatin-mesoporous silica nanoparticles containing *Myrtus communis* L. extract as a novel transparent film wound dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 253, n. September, 2023. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127081.

HEJNA, Aleksander; KOSMELA, Paulina; FORMELA, Krzysztof; PISZCZYK, Łukasz; HAPONIUK, Józef T. **Potential applications of crude glycerol in polymer technology—Current state and perspectives**. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 2016. ISSN: 18790690. DOI: 10.1016/j.rser.2016.08.020.

HELENA, Julia; NUNES, Bormio; HIDEKI, Douglas; PAULO, Pedro; ENOQUE, Raphael; PAIVA, Ferraz De. Beyond silver sulfadiazine : A dive into more than 50 years of research and development on metal complexes of sulfonamides in medicinal inorganic chemistry. [S. l.], v. 490, n. May, 2023.

HIBBERT, D. Brynn. Experimental design in chromatography: A tutorial review. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [S. l.], v. 910, p. 2–13, 2012. ISSN: 15700232. DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.01.020.

HIDAYATI, Sri; ZULFERIYENNI; MAULIDIA, Ulfa; SATYAJAYA, Wisnu; HADI, Sutopo. **Effect of glycerol concentration and carboxy methyl cellulose on biodegradable film characteristics of seaweed waste**. **Heliyon** 2021. (8) ISSN: 24058440. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07799.

HOLLOWAY, Samantha; HARDING, Keith G. Wound dressings. **Surgery (Oxford)**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 25–32, 2022. ISSN: 0263-9319. DOI: 10.1016/J.MPSUR.2021.11.002.

HUBNER, Patricia. **Desenvolvimento de filmes de gelatina contendo zeólita clinoptilolita impregnada com íons prata e avaliação das propriedades antimicrobianas**. 2017. 120 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [S. l.], 2017.

HUBNER, Patricia; DONATI, Nicoly; QUINES, Luci Kelin de Menezes; TESSARO, Isabel Cristina; MARCILIO, Nilson Romeu. Gelatin-based films containing clinoptilolite-Ag for application as wound dressing. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 107, n. October 2019, p. 110215, 2020. ISSN: 18730191. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110215. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110215>.

HUZUM, Bogdan; PUHA, Bogdan; NECOARA, Riana; GHEORGHEVICI, Stefan; PUHA, Gabriela; FILIP, Alexandru; SIRBU, Paul; ALEXA, Ovidiu. Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, [S. l.], v. 22, n. 5, p. 1–9, 2021. ISSN: 1792-0981. DOI: 10.3892/etm.2021.10750.

ILIESCU, Ruxandra Irina; ANDRONESCU, Ecaterina; VOICU, Georgeta; FICAI, Anton; COVALIU, Cristina Ileana. **Hybrid materials based on montmorillonite and citostatic drugs: Preparation and characterization**. **Applied Clay Science** 2011. (1–2) ISSN: 01691317. DOI: 10.1016/j.clay.2011.01.031.

IMESON, A. **Thickening and Gelling Agents for Food**. [s.l.] : Chapman & Hall, 1997. 340 p. ISBN: 083421296X.

- İNAL, M.; MÜLAZIMOĞLU, Gökçe. Production and characterization of bactericidal wound dressing material based on gelatin nanofiber. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 137, p. 392–404, 2019. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.119.
- JACOB, Joby; HAPONIUK, Józef T.; THOMAS, Sabu; GOPI, Sreeraj. **Biopolymer based nanomaterials in drug delivery systems: A review**. **Materials Today Chemistry** 2018. ISSN: 24685194. DOI: 10.1016/j.mtchem.2018.05.002.
- JAYRAJSINH, Sarvaiya; SHANKAR, Gauri; AGRAWAL, Yadvendra K.; BAKRE, Lateef. **Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review**. **Journal of Drug Delivery Science and Technology** 2017. ISSN: 17732247. DOI: 10.1016/j.jddst.2017.03.023.
- JIAN, Zhiwen; WANG, He; LIU, Menglong; CHEN, Siyao; WANG, Zhanhua; QIAN, Wei; LUO, Gaoxing; XIA, Hesheng. **Polyurethane-modified graphene oxide composite bilayer wound dressing with long-lasting antibacterial effect**. **Materials Science and Engineering C** 2020. ISSN: 18730191. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110833.
- JOMLAPEERATIKUL, Prayoon; POOMSA-AD, Nattapol; WISET, Lamul. Effect of Drying Temperatures and Plasticizers on the Properties of Konjac Flour Film. **Journal of Food Process Engineering**, [S. l.], v. 40, n. 3, 2017. ISSN: 17454530. DOI: 10.1111/jfpe.12443.
- JONES, Vanessa; GREY, Joseph E.; HARDING, Keith G. Wound dressings. **Practice**, [S. l.], v. 332, n. April, p. 777–780, 2006. ISSN: 14685833.
- JOSHI, Ghanshyam V.; KEVADIYA, Bhavesh D.; BAJAJ, Hari C. Design and evaluation of controlled drug delivery system of buspirone using inorganic layered clay mineral. **Microporous and Mesoporous Materials**, [S. l.], v. 132, n. 3, p. 526–530, 2010. ISSN: 13871811. DOI: 10.1016/j.micromeso.2010.04.003.
- JOSHI, Ghanshyam V.; KEVADIYA, Bhavesh D.; MODY, Haresh M.; BAJAJ, Hari C. Confinement and controlled release of quinine on chitosan-montmorillonite bionanocomposites. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 423–430, 2012. ISSN: 0887624X. DOI: 10.1002/pola.25046.
- KABIR, Ehsanul; KAUR, Rajnish; LEE, Jechan; KIM, Ki Hyun; KWON, Eilhann E. Prospects of biopolymer technology as an alternative option for non-degradable plastics and sustainable management of plastic wastes. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 258, 2020. ISSN: 09596526. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.120536.
- KAMOUN, Elbadawy A.; KENAWY, El-refaie S.; CHEN, Xin. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications : PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**, [S. l.], v. 8, n. 3, p. 217–233, 2017. ISSN: 2090-1232. DOI: 10.1016/j.jare.2017.01.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>.
- KAUR, Jaspreet; SARMA, Anil Kumar; JHA, Mithilesh Kumar; GERA, Poonam. **Valorisation of crude glycerol to value-added products: Perspectives of process technology, economics and environmental issues**. **Biotechnology Reports** 2020. ISSN: 2215017X. DOI: 10.1016/j.btre.2020.e00487.
- KAZEMI, Mohsen; JAHANBIN, Kambiz; OJAGH, Seyed Mahdi; ABDOLLAHI, Mehdi. Development of antimicrobial gelatin-ulvan-beeswax composite films: Optimization of formulation using mixture design methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 231, n. January, 2023. ISSN: 18790003. DOI:

10.1016/j.ijbiomac.2023.123384.

KEENAN, Thomas R. Gelatin. *In: Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. [s.l.: s.n.]. p. 311–324. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471440264.pst146>.

KEVADIYA, Bhavesh D. et al. Montmorillonite/poly(-caprolactone) composites as versatile layered material: Reservoirs for anticancer drug and controlled release property. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 47, n. 1, p. 265–272, 2012 a. ISSN: 09280987. DOI: 10.1016/j.ejps.2012.04.009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.04.009>.

KEVADIYA, Bhavesh D. et al. Layered inorganic nanocomposites: A promising carrier for 5-fluorouracil (5-FU). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S. l.], v. 81, n. 1, p. 91–101, 2012 b. ISSN: 09396411. DOI: 10.1016/j.ejpb.2012.01.004.

KEVADIYA, Bhavesh D. et al. **Biodegradable gelatin-ciprofloxacin-montmorillonite composite hydrogels for controlled drug release and wound dressing application**. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 2014. ISSN: 18734367. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.06.051.

KEVADIYA, Bhavesh D.; JOSHI, Ghanshyam V.; BAJAJ, Hari C. **Layered bionanocomposites as carrier for procainamide**. **International Journal of Pharmaceutics** 2010. (1–2) ISSN: 03785173. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.01.002.

KHATTAB, F. I.; HASSAN, N. Y. M.; AMER, M. M. Thermal analysis of pharmaceutical compounds. **Journal of Thermal Analysis**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 41–51, 1981. ISSN: 0368-4466. DOI: 10.1007/bf01915694.

KHURI, André I.; MUKHOPADHYAY, Siuli. Response surface methodology. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 128–149, 2010. ISSN: 19395108. DOI: 10.1002/wics.73.

KOEHLER, Julia; BRANDL, Ferdinand P.; GOEPFERICH, Achim M. **Hydrogel wound dressings for bioactive treatment of acute and chronic wounds**. **European Polymer Journal** 2018. ISSN: 00143057. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2017.12.046.

KWAK, Hyo Won; KIM, Jung Eun; LEE, Ki Hoon. Green fabrication of antibacterial gelatin fiber for biomedical application. **Reactive and Functional Polymers**, [S. l.], v. 136, n. September 2018, p. 86–94, 2019. ISSN: 13815148. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2018.12.020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.12.020>.

LAI, Hoong Cheng; KARIM, Alias Abd; CHEE, Choon Seow. Effects of water-glycerol and water-sorbitol interactions on the physical properties of konjac glucomannan films. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 71, n. 2, 2006. ISSN: 00221147. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb08898.x.

LAVORGNA, Marino; PISCITELLI, Filomena; MANGIACAPRA, Pasqualina; BUONOCORE, Giovanna G. **Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films**. **Carbohydrate Polymers** 2010. (2) ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.04.054.

LEI, Huan; ZHU, Chenhui; FAN, Daidi. Optimization of human-like collagen composite polysaccharide hydrogel dressing preparation using response surface for burn repair. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 239, n. January, p. 116249, 2020. ISSN: 01448617. DOI:

10.1016/j.carbpol.2020.116249. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116249>.

LEI, Jun; SUN, Lichun; LI, Ping; ZHU, Chenhong; LIN, Zhen. **The Wound Dressings and Their Applications in Wound Healing and Management** *Health Sci J.* [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.imedpub.com/>.

LIN, Zefeng; WU, Tingting; WANG, Wanshun; LI, Binglin; WANG, Ming; CHEN, Lingling; XIA, Hong; ZHANG, Tao. Biofunctions of antimicrobial peptide-conjugated alginate/hyaluronic acid/collagen wound dressings promote wound healing of a mixed-bacteria-infected wound. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 140, p. 330–342, 2019. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.087. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.087>.

LOBO, Lloyd. Coalescence during emulsification: 3. Effect of gelatin on rupture and coalescence. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 254, n. 1, p. 165–174, 2002. ISSN: 00219797. DOI: 10.1006/jcis.2002.8561.

LUO, Qingying; HOSSEN, Md Alomgir; ZENG, Yuanbo; DAI, Jianwu; LI, Suqing; QIN, Wen; LIU, Yaowen. Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 313, n. April 2021, p. 110762, 2022. ISSN: 02608774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110762. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110762>.

MA, Chao; LIU, Lin; HUA, Wei; CAI, Yurong; YAO, Juming. Fabrication and characterization of absorbent and antibacterial alginate fibers loaded with sulfanilamide. **Fibers and Polymers**, [S. l.], v. 16, n. 6, p. 1255–1261, 2015. ISSN: 12299197. DOI: 10.1007/s12221-015-1255-7.

MACEDO, H. P.; DE OLIVEIRA FELIPE, L. C.; SILVA, L. B.; GARCIA, L. M. P.; MEDEIROS, R. L. B. A.; COSTA, T. R. Application of design of experiments to the alkaline treatment in mordenite zeolite: Influence on Si/Al ratio. **Materials Science Forum**, [S. l.], v. 798–799, p. 435–442, 2014. ISSN: 16629752. ISBN: 9783038351146. DOI: 10.4028/www.scientific.net/MSF.798-799.435.

MADEJOVÁ, J.; JANEK, M.; KOMADEL, P.; HERBERT, H. J.; MOOG, H. C. FTIR analyses of water in MX-80 bentonite compacted from high.pdf. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 20, p. 255–271, 2002. Disponível em: www.elsevier.com/locate/clay.

MAHANTY, Siddhartha; PRIGENT, Antoine; GARRAUD, Olivier. Immunogenicity of infectious pathogens and vaccine antigens. **BMC Immunology**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 1–6, 2015. ISSN: 14712172. DOI: 10.1186/s12865-015-0095-y. Disponível em: ???

MAISANABA, Sara; HERCOG, Klara; FILIPIC, Metka; JOS, Ángeles; ZEGURA, Bojana. Genotoxic potential of montmorillonite clay mineral and alteration in the expression of genes involved in toxicity mechanisms in the human hepatoma cell line HepG2. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 304, p. 425–433, 2016. ISSN: 18733336. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.018.

MARIOD, Abdalbasit Adam; ADAM, Hadia Fadol. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 135–147, 2013. ISSN: 16440730.

MARTUCCI, Josefa F.; RUSECKAITE, Roxana A. Antibacterial activity of gelatin/copper (II)-exchanged montmorillonite films. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 64, p. 70–77, 2017.

ISSN: 0268005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.030. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16306233>.

MASSARIOL, Polyana Silvério. **ESTUDO DA ADSORÇÃO DO ANTIBIÓTICO SULFANILAMIDA EM ESMECTITA MODIFICADA COM Na**. 2019. 1–117 f. Universidade Federal do Espírito Santo, [S. l.], 2019.

MEDEIROS, Fábio Gonçalves Macêdo. **Microencapsulação de curcumina em células de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) via osmoporação: Avaliação de parâmetros do processo, estabilidade térmica e capacidade antioxidante**. 2019.

MELO, João Vitor Staub De. **DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO E DESEMPENHO MECÂNICO DE CONCRETO**. 2020. 415 f. Universidade Federal de Santa Catarina, [S. l.], 2020. DOI: 10.13140/RG.2.2.19025.97120.

MELO, Vander Freitas; SALATA, Regiane; ABATE, Gilberto; AZEVEDO, Antonio Carlos; KUMMER, Larissa. Characterization and manipulation of montmorillonite properties towards technological and environmental applications. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, [S. l.], v. 45, p. 1–17, 2021. ISSN: 18069657. DOI: 10.36783/18069657rbcs20200149.

MENG, Xin; LU, Yang; GAO, Ying; CHENG, Suying; TIAN, Feng; XIAO, Yuliang; LI, Fan. Chitosan/alginate/hyaluronic acid polyelectrolyte composite sponges crosslinked with genipin for wound dressing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 182, p. 512–523, 2021. ISSN: 01418130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.044. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813021007996>.

MOGOȘANU, George Dan; GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. **Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing**. **International Journal of Pharmaceutics** 2014. (2) ISSN: 18733476. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.12.015.

MOHAJER, Setareh; REZAEI, Masoud; HOSSEINI, Seyed Fakhreddin. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 157, p. 784–793, 2017. ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.10.061.

MOHAJERANI, Abbas et al. Recycling waste rubber tyres in construction materials and associated environmental considerations: A review. **Resources, Conservation and Recycling**, [S. l.], v. 155, n. August 2019, 2020. ISSN: 18790658. DOI: 10.1016/j.resconrec.2020.104679.

MOUSAVI, Saba; KHOSHFETRAT, Ali Baradar; KHATAMI, Neda; AHMADIAN, Mehri; RAHBARGHAZI, Reza. Comparative study of collagen and gelatin in chitosan-based hydrogels for effective wound dressing: Physical properties and fibroblastic cell behavior. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 518, n. 4, p. 625–631, 2019. ISSN: 10902104. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.08.102. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.102>.

NAGAI, Yasutaka; NAKAMURA, Daisuke; MIYAKE, Tomoyuki; UENO, Hitoshi; MATSUMOTO, Naomi; KAJI, Atsushi; OHISHI, Fujio. Photodegradation mechanisms in poly(2,6-butylenenaphthalate-co-tetramethyleneglycol) (PBN-PTMG). I: Influence of the PTMG content. **Polymer Degradation and Stability**, [S. l.], v. 88, n. 2, p. 251–255, 2005. ISSN: 01413910. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.10.016.

NAM, Geewoo; RANGASAMY, Sabarinathan; PURUSHOTHAMAN, Baskaran; SONG, Joon Myong. The application of bactericidal silver nanoparticles in wound treatment. **Nanomaterials and Nanotechnology**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2015. ISSN: 18479804. DOI: 10.5772/60918.

NASCIMENTO, Joe Vitor Alves Do. **Avaliação das propriedades de argilas montmorillonitas natural e sintética pilarizadas com polihidroxições de alumínio**. 2018. [S. l.], 2018. ISSN: 09514198.

NONES, Janaína; RIELLA, Humberto Gracher; TRENTIN, Andrea Gonçalves; NONES, Jader. Effects of bentonite on different cell types: A brief review. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 105–106, p. 225–230, 2015. ISSN: 01691317. DOI: 10.1016/j.clay.2014.12.036.

NUR HANANI, Z. A.; BEATTY, E.; ROOS, Y. H.; MORRIS, M. A.; KERRY, J. P. Manufacture and characterization of gelatin films derived from beef, pork and fish sources using twin screw extrusion. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 113, n. 4, p. 606–614, 2012. ISSN: 02608774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.07.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.002>.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. **Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products**. **International Journal of Biological Macromolecules** 2014. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.04.027.

NUUTILA, Kristo; ERIKSSON, Elof. Moist Wound Healing with Commonly Available Dressings. **Advances in Wound Care**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 685–698, 2021. ISSN: 21621934. DOI: 10.1089/wound.2020.1232.

OKUR, Mehmet Evren; KARANTAS, Ioannis D.; ŞENYİĞİT, Zeynep; ÜSTÜNDAĞ OKUR, Neslihan; SIAFAKA, Panoraia I. **Recent trends on wound management: New therapeutic choices based on polymeric carriers**. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences** 2020. ISSN: 2221285X. DOI: 10.1016/j.ajps.2019.11.008.

OVUNG, Aben; BHATTACHARYYA, Jhimli. Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. **Biophysical Reviews**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 259–272, 2021 a. ISSN: 18672469. DOI: 10.1007/s12551-021-00795-9.

OVUNG, Aben; BHATTACHARYYA, Jhimli. Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. **Biophysical Reviews**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 259–272, 2021 b. ISSN: 18672469. DOI: 10.1007/s12551-021-00795-9.

ÖZEREN, Hüsamettin D.; WEI, Xin Feng; NILSSON, Fritjof; OLSSON, Richard T.; HEDENQVIST, Mikael S. **Role of hydrogen bonding in wheat gluten protein systems plasticized with glycerol and water**. **Polymer** 2021. ISSN: 00323861. DOI: 10.1016/j.polymer.2021.124149.

PACKER, Joanne M.; IRISH, Julie; HERBERT, Ben R.; HILL, Cameron; PADULA, Matthew; BLAIR, Shona E.; CARTER, Dee A.; HARRY, Elizabeth J. Specific non-peroxide antibacterial effect of manuka honey on the *Staphylococcus aureus* proteome. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 43–50, 2012. ISSN: 09248579. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.03.012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092485791200129X>.

PATEL, Satish; SRIVASTAVA, Shikha; SINGH, Manju Rawat; SINGH, Deependra. Preparation and optimization of chitosan-gelatin films for sustained delivery of lupeol for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 107, p.

1888–1897, 2018. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.056.

PATHAK, Vinay Mohan; NAVNEET. Review on the current status of polymer degradation: a microbial approach. **Bioresources and Bioprocessing**, [S. l.], v. 4, n. 1, 2017. ISSN: 21974365. DOI: 10.1186/s40643-017-0145-9.

PAUDEL, Sandeep; REGMI, Sumi; JANASWAMY, Srinivas. Effect of glycerol and sorbitol on cellulose-based biodegradable films. **Food Packaging and Shelf Life**, [S. l.], v. 37, n. May, 2023. ISSN: 22142894. DOI: 10.1016/j.fpsl.2023.101090.

PEHLIVAN, H.; BALKÖSE, D.; ÜLKÜ, S.; TIHMİNLİOĞLU, Funda. Characterization of pure and silver exchanged natural zeolite filled polypropylene composite films. **Composites Science and Technology**, [S. l.], v. 65, n. 13, p. 2049–2058, 2005. ISSN: 02663538. ISBN: 02663538 (ISSN). DOI: 10.1016/j.compscitech.2005.04.011.

PETROVIĆ, Sanja; TAČIĆ, Ana; SAVIĆ, Saša; NIKOLIĆ, Vesna; NIKOLIĆ, Ljubiša; SAVIĆ, Sanela. **Sulfanilamide in solution and liposome vesicles; in vitro release and UV-stability studies**. **Saudi Pharmaceutical Journal** 2017. (8) ISSN: 13190164. DOI: 10.1016/j.jsps.2017.09.003.

PINKAS, Oded; GODER, Daniella; NOYVIRT, Roni; PELEG, Sivan; KAHLON, Maayan; ZILBERMAN, Meital. Structuring of composite hydrogel bioadhesives and its effect on properties and bonding mechanism. **Acta Biomaterialia**, [S. l.], v. 51, p. 125–137, 2017. ISSN: 18787568. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.01.047. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2017.01.047>.

POLLINI, M.; PALADINI, F.; CATALANO, M.; TAURINO, A.; LICCIULLI, A.; MAFFEZZOLI, A.; SANNINO, A. Antibacterial coatings on haemodialysis catheters by photochemical deposition of silver nanoparticles. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [S. l.], v. 22, n. 9, p. 2005–2012, 2011. ISSN: 09574530. DOI: 10.1007/s10856-011-4380-x.

PONGJANYAKUL, Thaned; PRIPREM, Aroonsri; PUTTIPIPATKHACHORN, Satit. Investigation of novel alginate-magnesium aluminum silicate microcomposite films for modified-release tablets. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 107, n. 2, p. 343–356, 2005. ISSN: 01683659. DOI: 10.1016/j.jconrel.2005.07.003.

QUISPE, César A. G.; CORONADO, Christian J. R.; CARVALHO, João A. **Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion**. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 2013. ISSN: 13640321. DOI: 10.1016/j.rser.2013.06.017.

RAGHAVAN, DharmaraJ; ZEWEDE, B.; AMBAYE, A.; STUBBS III, J.; RAGHAVAN, D. A Review of Stabilized Silver Nanoparticles – Synthesis, Biological Properties, Characterization, and Potential Areas of Applications. **JSM Nanotechnol Nanomed**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 1043, 2016. ISSN: 2334-1815.

RAGHAVENDRA, Gownolla Malegowd; JAYARAMUDU, Tippabattini; VARAPRASAD, Kokkarachedu; RAMESH, Singanamala; RAJU, Konduru Mohana. Microbial resistant nanocurcumin-gelatin-cellulose fibers for advanced medical applications. **RSC Advances**, [S. l.], v. 4, n. 7, p. 3494–3501, 2014. ISSN: 20462069. DOI: 10.1039/c3ra46429f.

RAPACZ-KMITA, A.; BUĆKO, M. M.; STODOLAK-ZYCH, E.; MIKOŁAJCZYK, M.; DUDEK, P.; TRYBUS, M. **Characterisation, in vitro release study, and antibacterial activity of montmorillonite-gentamicin complex material**. **Materials Science and**

Engineering C 2017. ISSN: 09284931. DOI: 10.1016/j.msec.2016.09.031.

REZVANIAN, Masoud; AHMAD, Naveed; MOHD AMIN, Mohd Cairul Iqbal; NG, Shiow Fern. Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 97, p. 131–140, 2017. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.12.079. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.079>.

RIBEIRO, Hálisson L.; BRITO, Edy S.; SOUZA FILHO, Men de sá M.; AZEREDO, Henriette M. C. Montmorillonite as a reinforcement and color stabilizer of gelatin films containing acerola juice. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 165, n. August, p. 1–7, 2018. ISSN: 01691317. DOI: 10.1016/j.clay.2018.07.041.

ROCHA, Geisa Oliveira. **Obtenção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis a partir de Misturas de Amido de Mandioca e Extrato Protéico de Soja**. 2009. 89 f. Universidade Federal do Rio de Janeiro, [S. l.], 2009.

RODRIGUES, Andréia O.; ANGÉLICA, Rômulo S.; PAZ, P. A. DIFERENCIAÇÃO CATIONICA DE BENTONITAS POR INFRAVERMELHO: UM ESTUDO DOS EFEITOS DA HIDRATAÇÃO DOS CÁTIOS TROCÁVEIS. **Química Nova**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 272–277, 2021.

ROMERO-BASTIDA, Claudia A.; BELLO-PÉREZ, Luis A.; GARCÍA, María A.; MARTINO, Miriam N.; SOLORZA-FERIA, Javier; ZARITZKY, Noemí E. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 60, n. 2, p. 235–244, 2005. ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.01.004.

ROWE, Raymond C.; SHESKEY, Paul J.; OWEN, Sian C. **Handbook of pharmaceutical excipients**. [s.l.: s.n.]. ISSN: 10346775. ISBN: 1582120587.

RUJITANAROJ, Pim on; PIMPHA, Nuttaporn; SUPAPHOL, Pitt. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. **Polymer**, [S. l.], v. 49, n. 21, p. 4723–4732, 2008. ISSN: 00323861. DOI: 10.1016/j.polymer.2008.08.021.

SABERI, Bahareh; THAKUR, Rahul; VUONG, Quan V.; CHOCKCHAIWASDEE, Suwimol; GOLDING, John B.; SCARLETT, Christopher J.; STATHOPOULOS, Costas E. Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 86, p. 342–352, 2016. ISSN: 09266690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.04.015.

SALOUTI, Mojtaba; AHANGARI, Azam. Nanoparticle based Drug Delivery Systems for Treatment of Infectious Diseases. *In: Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. [s.l.] : InTech, 2014. v. 11. p. 13. ISSN: 17187729. ISBN: 0000957720. DOI: 10.5772/58423. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>.

SASIKALA, L.; RATHINAMOORTHY, R.; DHURAI, Bhaarathi. Optimization of process conditions for chitosan-manuka honey film as wound contact layer for wound dressings. **Wound Medicine**, [S. l.], v. 23, n. September, p. 11–21, 2018. ISSN: 22139109. DOI: 10.1016/j.wndm.2018.09.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.09.007>.

SAVENCU, Ioana; IURIAN, Sonia; PORFIRE, Alina; BOGDAN, Cătălina; TOMUȚĂ, Ioan.

Review of advances in polymeric wound dressing films. **Reactive and Functional Polymers**, [S. l.], v. 168, n. July, 2021. ISSN: 13815148. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105059.

SEOW, Yi Xin; YEO, Chia Rou; CHUNG, Hui Ling; YUK, Hyun Gyun. Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 54, n. 5, p. 625–644, 2014. ISSN: 10408398. DOI: 10.1080/10408398.2011.599504.

SHAO, Wei; WU, Jimin; WANG, Shuxia; HUANG, Min; LIU, Xiufeng; ZHANG, Rui. **Construction of silver sulfadiazine loaded chitosan composite sponges as potential wound dressings**. **Carbohydrate Polymers** 2017. ISSN: 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.11.087.

SHARMA, Bhasha; MALIK, Parul; JAIN, Purnima. **Biopolymer reinforced nanocomposites: A comprehensive review**. **Materials Today Communications** 2018. ISSN: 23524928. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2018.07.004.

SHOJAEE, Mozghan; NAVAEI, Fatemeh; JALILI-FIROOZINEZHAD, Sasan; FATURECHI, Rahim; MAJIDI, Mohammad; BONAKDAR, Shahin. Fabrication and characterization of ovalbumin films for wound dressing applications. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 48, p. 158–164, 2015. ISSN: 09284931. DOI: 10.1016/j.msec.2014.11.063.

SILVA, Ana; FILHO, Edson; SOUSA, Gracelena; SILVA, Jennys; SILVA, Antonia; ARAUJO, Carla. As principais coberturas utilizadas pelo enfermeiro. **Revista UNINGÁ**, [S. l.], v. 53, n. 2, p. 117–123, 2017. ISSN: 2318-0579.

SILVA, Paulo Henrique De Lima. Introdução aos conceitos de mecânica dos fluidos e de reologia em produtos do cotidiano. **Cadernos UniFOA**, [S. l.], v. n. 37, p. 33–44, 2018.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed., Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos, 2012. 488 p.

SIMÕES, Déborah; MIGUEL, Sónia P.; RIBEIRO, Maximiano P.; COUTINHO, Paula; MENDONÇA, António G.; CORREIA, Ilídio J. Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S. l.], v. 127, n. February, p. 130–141, 2018. ISSN: 18733441. DOI: 10.1016/j.ejpb.2018.02.022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.02.022>.

SINGH, Baljit; SHARMA, Nisha. Mechanistic implications of plastic degradation. **Polymer Degradation and Stability**, [S. l.], v. 93, n. 3, p. 561–584, 2008. ISSN: 01413910. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008.

SLAMOVA, R.; TRCKOVA, M.; VONDRUSKOVA, H.; ZRALY, Z.; PAVLIK, I. Clay minerals in animal nutrition. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 51, n. 4, p. 395–398, 2011. ISSN: 01691317. DOI: 10.1016/j.clay.2011.01.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016913171100010X>.

SLAVUTSKY, Aníbal M.; BERTUZZI, María A.; ARMADA, Margarita; GARCÍA, María G.; OCHOA, Nelio A. Preparation and characterization of montmorillonite / brea gum nanocomposites films. **Food hydrocolloids**, [S. l.], v. 35, p. 270–278, 2014. ISSN: 0268-005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.06.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.008>.

SOBCZYK, Andressa de Espíndola; LUCHESE, Cláudia Leites; FACCIN, Débora Jung

Luvizetto; TESSARO, Isabel Cristina. **Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties.** *International Journal of Biological Macromolecules* 2021. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.084.

SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGER, M. D.; ROQUES, M. A. **Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films.** *Food Hydrocolloids* 2001. (4–6) ISSN: 0268005X. DOI: 10.1016/S0268-005X(01)00061-3.

SOTHORNVIT, Rungsinee; KROCHTA, John M. **Plasticizers in edible films and coatings.** *Innovations in Food Packaging* 2005. ISBN: 9780123116321. DOI: 10.1016/B978-012311632-1/50055-3.

SOUZA, Damiana Sinézio De. **Inserção controlada de pilares de óxido de alumínio em argilas bentonitas.** 2021. *[S. l.]*, 2021. ISSN: 09514198.

SUDERMAN, N.; ISA, M. I. N.; SARBON, N. M. **The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review.** *Food Bioscience* 2018. ISSN: 22124306. DOI: 10.1016/j.fbio.2018.06.006.

SUN, Bingfeng; RANGANATHAN, Balu; FENG, Si-Shen. Multifunctional poly(d,l-lactide-co-glycolide)/montmorillonite (PLGA/MMT) nanoparticles decorated by Trastuzumab for targeted chemotherapy of breast cancer. *Biomaterials*, *[S. l.]*, v. 29, n. 4, p. 475–486, 2008. ISSN: 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.09.038. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961207007909>.

SUN, Xiaoqing; MA, Chao; GONG, Wenli; MA, Yanan; DING, Yanhong; LIU, Lin. Biological properties of sulfanilamide-loaded alginate hydrogel fibers based on ionic and chemical crosslinking for wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, *[S. l.]*, v. 157, p. 522–529, 2020. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.210. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.210>.

SWETHA MENON, N. P.; KAMARAJ, M.; ANISH SHARMILA, M.; GOVARTHANAN, M. Recent progress in polysaccharide and polypeptide based modern moisture-retentive wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, *[S. l.]*, v. 256, n. December 2023, 2024. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128499.

THAKUR, Rahul; SABERI, Bahareh; PRISTIJONO, Penta; STATHOPOULOS, Costas E.; GOLDING, John B.; SCARLETT, Christopher J.; BOWYER, Michael; VUONG, Quan V. Use of response surface methodology (RSM) to optimize pea starch–chitosan novel edible film formulation. *Journal of Food Science and Technology*, *[S. l.]*, v. 54, n. 8, p. 2270–2278, 2017. ISSN: 09758402. DOI: 10.1007/s13197-017-2664-y.

THAPA, Raj Kumar; DIEP, Dzung B.; TØNNESEN, Hanne Hjorth. Topical antimicrobial peptide formulations for wound healing: Current developments and future prospects. *Acta Biomaterialia*, *[S. l.]*, v. 103, n. xxxx, p. 52–67, 2020. ISSN: 18787568. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.12.025.

THIELE-BRUHN, Sören. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *[S. l.]*, v. 166, n. 2, p. 145–167, 2003. ISSN: 14368730. DOI: 10.1002/jpln.200390023.

TONICIELLI RIGUETO, Cesar Vinicius; ROSSETO, Marieli; ALESSANDRETTI, Ingridy; DE OLIVEIRA, Rafaela; WOHLMUTH, Daniela Alexia Raber; FERREIRA MENEZES,

Juliana; LOSS, Raquel Aparecida; DETTMER, Aline; PIZZUTTI, Ionara Regina. Gelatin films from wastes: A review of production, characterization, and application trends in food preservation and agriculture. **Food Research International**, [S. l.], v. 162, n. October, 2022. ISSN: 18737145. DOI: 10.1016/j.foodres.2022.112114.

TÜRE, Hasan. **Characterization of hydroxyapatite-containing alginate–gelatin composite films as a potential wound dressing**. **International Journal of Biological Macromolecules** 2019. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.143.

TYUFTIN, Andrey A.; KERRY, Joe P. Gelatin films: Study review of barrier properties and implications for future studies employing biopolymer films. **Food Packaging and Shelf Life**, [S. l.], v. 29, n. May, p. 100688, 2021. ISSN: 22142894. DOI: 10.1016/j.fpsl.2021.100688. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100688>.

ULUBAYRAM, Kezban; AKSU, Ebru; GURHAN, S. Ismet Deliloglu; SERBETCI, Kemal; HASIRCI, Nesrin. Cytotoxicity evaluation of gelatin sponges prepared with different cross-linking agents. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [S. l.], v. 13, n. 11, p. 1203–1219, 2002. ISSN: 09205063. DOI: 10.1163/156856202320892966.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. **Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films**. **Food Hydrocolloids** 2005. (5) ISSN: 0268005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2004.12.003.

VAZQUEZ, A.; LÓPEZ, M.; KORTABERRIA, G.; MARTÍN, L.; MONDRAGON, I. Modification of montmorillonite with cationic surfactants. Thermal and chemical analysis including CEC determination. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 41, n. 1–2, p. 24–36, 2008. ISSN: 01691317. DOI: 10.1016/j.clay.2007.10.001.

VERMA, Deepak; OKHAWILAI, Manunya; NANGAN, Senthilkumar; THAKUR, Vijay Kumar; GOPI, Sreeraj; KUPPUSAMY, Kanagaraj; SHARMA, Mohit; UYAMA, Hiroshi. A sustainable and green approach towards the utilization of biopolymers for effective wound dressing applications: A detailed review. **Nano-Structures and Nano-Objects**, [S. l.], v. 37, n. December 2023, p. 101086, 2024. ISSN: 2352507X. DOI: 10.1016/j.nanoso.2023.101086. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2023.101086>.

VIEIRA, Melissa Gurgel Adeodato; DA SILVA, Mariana Altenhofen; DOS SANTOS, Lucielen Oliveira; BEPPU, Marisa Masumi. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 47, n. 3, p. 254–263, 2011. ISSN: 00143057. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011.

VILELA, Carla; SOUSA, Andreia F.; FONSECA, Ana C.; SERRA, Arménio C.; COELHO, Jorge F. J.; FREIRE, Carmen S. R.; SILVESTRE, Armando J. D. The quest for sustainable polyesters-insights into the future. **Polymer Chemistry**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 3119–3141, 2014. ISSN: 17599962. DOI: 10.1039/c3py01213a.

VINOD, A.; SANJAY, M. R.; SUCHART, Siengchin; JYOTISHKUMAR, Parameswaranpillai. Renewable and sustainable biobased materials: An assessment on biofibers, biofilms, biopolymers and biocomposites. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 258, 2020. ISSN: 09596526. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.120978.

VOWDEN, Kathryn; VOWDEN, Peter. Wound dressings: principles and practice. **Surgery (United Kingdom)**, [S. l.], v. 35, n. 9, p. 489–494, 2017. ISSN: 18781764. DOI: 10.1016/j.mpsur.2017.06.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2017.06.005>.

WANG, Lanlan; LI, Dawei; SHEN, Ying; LIU, Feng; ZHOU, Yuqi; WU, Huiping; LIU, Qingsheng; DENG, Bingyao. Preparation of Centella asiatica loaded gelatin/chitosan/nonwoven fabric composite hydrogel wound dressing with antibacterial property. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 192, n. July, p. 350–359, 2021. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.09.145. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.145>.

WANG, Lizhe Z.; LIU, Li; HOLMES, Justin; KERRY, John F.; KERRY, Joe P. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. **International Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 42, n. 9, p. 1128–1138, 2007. ISSN: 09505423. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.01440.x.

WOODFORD, Neil; LIVERMORE, David M. Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge. **Journal of Infection**, [S. l.], v. 59, n. SUPPL. 1, p. S4–S16, 2009. ISSN: 01634453. DOI: 10.1016/S0163-4453(09)60003-7. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0163-4453\(09\)60003-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0163-4453(09)60003-7).

WU, Hejun et al. Sustained-release antibacterial gelatin films: Effects of diatomite/carvacrol complex on their structure, physicochemical and antibacterial properties. **Food Packaging and Shelf Life**, [S. l.], v. 35, n. December 2022, 2023. ISSN: 22142894. DOI: 10.1016/j.fpsl.2022.101019.

XU, Zhangpeng; GAO, Yingjun; LI, Jingjing; DAI, Jingjing; ZHU, Shanshan; MENG, Kai; YIN, Weimin; ZHAO, Huijing. Bio-macromolecules/modified-halloysite composite hydrogel used as multi-functional wound dressing. **Smart Materials in Medicine**, [S. l.], v. 2, p. 134–144, 2021. ISSN: 25901834. DOI: 10.1016/j.smaim.2021.03.004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590183421000077>.

YOUNG, Simon; WONG, Mark; TABATA, Yasuhiko; MIKOS, Antonios G. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], n. 109, p. 256–274, 2005.

ZHAO, Shan; ZHANG, Ying; LIU, Yang; YANG, Fan; YU, Wenguang; ZHANG, Shixin; MA, Xiaojun; SUN, Guangwei. Optimization of preparation conditions for calcium pectinate with response surface methodology and its application for cell encapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 115, p. 29–34, 2018. ISSN: 18790003. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.04.048.