

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS QUÍMICOS E
BIOTECNOLÓGICOS

PATRÍCIA DIAS GAMERO

**EFEITO DO GLUCONATO DE CÁLCIO EM BLENDS POLIMÉRICAS
SERICINA / ÁLCOOL POLI (VINÍLICO)**

DISSERTAÇÃO

TOLEDO
2017

PATRICIA DIAS GAMERO

**EFEITO DO GLUCONATO DE CÁLCIO EM BLENDA POLIMÉRICAS
SERICINA / ÁLCOOL POLI (VINÍLICO)**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencout

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Reinoldo Scremin

TOLEDO
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

G192e

Gamero, Patrícia Dias

Efeito de Gluconato de Cálcio em Blendas Poliméricas Siricina/
álcool poli (Vinílico) / Patrícia Dias Gamero – 2018.

69 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencout

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Reinoldo Scremin

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do
Paraná. Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e
Biotecnológicos. Toledo, 2018.

Inclui bibliografias.

1. Biotecnológicos. 2. Polímeros 3. Processos Químicos –
Dissertações. I. Bittencout, Paulo Rodrigo Stival orient. II. Scremin,
Fernando Reinoldo, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do
Paraná. Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e
Biotecnológicos. IV. Título.

CDD: 660

Biblioteca Câmpus Medianeira
Fernanda Cristina Gazolla Bem dos Santos CRB 9/1735



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Toledo



TERMO DE APROVAÇÃO

EFEITO DO GLUCONATO DE CÁLCIO EM BLENDS POLIMÉTICAS SERICINA/ÁLCOOL POLI (VINÍLICO)

Por

PATRÍCIA DIAS GAMERO

Essa dissertação foi apresentada às 14 horas do dia vinte e nove de maio de dois mil e dezessete, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Processos Químicos e Biotecnológicos, Linha de Pesquisa de Processos Biotecnológicos, no Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos – PPGQB, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo relacionados. Após deliberação, a banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Prof. Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt (Orientador – PPGQB)

Prof. Dr. Fernando Reinoldo Scremin (Co-orientador – UTFPR – Câmpus
Medianeira)

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara (Membro Interno – PPGQB)

Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski (Membro Externo – UNIOESTE)

****A versão assinada encontra-se arquivada na Coordenação do PPGQB***

À Jesus o EU SOU da minha vida!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, o EU SOU sobre todas as coisas, por ter permitido, conduzido e abençoado tudo até aqui, graças à Ele por tudo.

A minha família, meu pai Célio, minha mãe Selma e minha irmã Priscila por toda doação, recurso, incentivo e carinho para que mais essa etapa fosse realizada.

Ao amor da minha vida, meu noivo João por viver esse mestrado junto comigo e por ser o meu melhor amigo. Obrigada amor por sua amizade, paciência e pela “questão de MMA”, te amo!

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt, por sua orientação, sua confiança e sua disponibilidade.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Fernando Reinoldo Scremin pelo empenho, disposição, pelos ensinamentos e toda contribuição com o trabalho.

Aos meus colegas de trabalho Mara, Marci, Simoni e Thiago, por toda a paciência, por me auxiliarem na minha ausência e por toda prestatividade.

A todos os meus amigos, que contribuíram de forma positiva direta e indiretamente, para a realização desse trabalho.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná de Medianeira pela oportunidade e apoio para a realização do mestrado.

RESUMO

GAMERO, Patrícia Dias. **Efeito do gluconato de cálcio em blendas poliméricas sericina / álcool poli (vinílico)**. 2017. 69 f. Dissertação. (Pós-graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos) – Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2017.

A pesquisa e o desenvolvimento de novas tecnologias na área de materiais e de processos químicos tem sido objeto de muitos trabalhos científicos que buscam inovações. O uso de materiais poliméricos para aplicação na área biomédica está em constante ascensão, e possuem importantes aplicações como sistema controlado de liberação de drogas, encapsulamento de células, regeneração de tecidos musculares e blendas para uso tópico. Os polímeros podem ser sintéticos como o álcool poli (vinílico)(PVA) e naturais também chamados de biopolímeros como a sericina (SER) formada pelo *Bombyx mori*. Para a utilização de biopolímeros é extremamente importante a avaliação de algumas características como dos agentes plastificantes e/ou reticulantes, a fim de, produzir blendas com melhores propriedades ao fim destinado. Dentro desse contexto, o estudo teve como objetivo avaliar o efeito do gluconato de cálcio (GLU) em blendas poliméricas SER/PVA visando uma possível aplicação em materiais com liberação controlada de fármacos, elaborar filmes poliméricos da blenda SER/PVA com glicerol (GLI) e gluconato de cálcio e composições e caracterizar sistemas esses filmes quanto ao teor de umidade, espectroscopia no infravermelho em módulo de refletância total atenuada com transformada de Fourier, análises termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura, ensaios de tração e monitorar o teor de cálcio em solução proveniente da liberação do gluconato de cálcio presente nos filmes da blenda SER/PVA por espectroscopia de absorção atômica. Observou-se maior estabilidade térmica nos filmes com GLU como aditivo devido ao seu possível efeito reticulante relacionado aos íons Ca^{2+} presentes na blenda, com teor de umidade maior quando a GLY é utilizada, Nos estudos de FTIR-ATR pode ser observado que o GLU causa alteração do perfil espectroscópico do filme entre 50% e 60% do teor de SER diferentemente do que ocorre com a GLY (40% - 50%) Nos estudos de morfologia observou-se uma separação de fase em ambos os filmes com GLY e GLU, nos resultados de tração o GLY apresentou a plasticidade esperada já o GLU elimina a plasticidade do filme SER/PVA porém aumento significativamente a resistência do material, consequência clara de interações mais intensas no interior do material. Apresentou também um perfil de liberação positivo que pode ser modulado em composições de SER/PVA, esses resultados demonstram a viabilidade do filme como um material de liberação. Assim o GLU possui uma função múltipla na blenda polimérica proposta além de atuar como reticulante também pode atuar como fármaco.

Palavras-chave: Blenda polimérica. Sericina. Gluconato de Cálcio

ABSTRACT

GAMERO, Patrícia Dias. Effect of calcium gluconate on sericin/poly (vinyl alcohol) polymer blends. 2017. 69 f. Dissertação. (Pós-graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos) – Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2017.

The research and development of new technologies in the field of chemical materials and processes has been the subject of many scientific works that seek innovations. The use of polymer materials for application in the biomedical area is constantly increasing, and they have important applications as controlled system of drug release, cell encapsulation, regeneration of muscle tissues and blends for topical use. The polymers may be synthetic such as poly (vinyl alcohol) (PVA) and natural also called biopolymers such as sericin (SER) formed by *Bombyx mori*. For the use of biopolymers it is extremely important to evaluate some characteristics such as plasticizers and / or crosslinking agents in order to produce blends with better properties to the intended purpose. The objective of this study was to evaluate the effect of calcium gluconate (GLU) on SER / PVA polymer blends aiming at a possible application in materials with controlled release of drugs, to prepare SER / PVA polymer blends with glycerol (GLY) And calcium gluconate and compositions and characterize systems such films for moisture content, infrared spectroscopy in Fourier transform attenuated total reflectance module, thermogravimetric analysis, scanning electron microscopy, tensile tests and monitor calcium content in solution Resulting from the release of the calcium gluconate present in the SER / PVA blends films by atomic absorption spectroscopy. It was observed higher thermal stability in GLU films as an additive due to its possible crosslinking effect related to the Ca^{2+} ions present in the blends, with a higher moisture content when GLY is used. In the FTIR-ATR studies it can be observed that GLU causes Alteration of the spectroscopic profile of the film between 50% and 60% of the SER content differently than occurs with GLY (40% - 50%) In the morphology studies a phase separation was observed in both GLY and GLU films, In the traction results the GLY presented the expected plasticity since the GLU eliminates the plasticity of the SER / PVA film but significantly increases the resistance of the material, a clear consequence of more intense interactions inside the material. It also showed a positive release profile that can be modulated in SER / PVA compositions, these results demonstrating the viability of the film as a release material. Thus, GLU has a multiple function in the proposed polymer blend as well as acting as a crosslinker can also act as a drug.

Keywords: Polymer blends. Sericin. Calcium Gluconate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. - (a) Lagartas construindo casulos, (b) Casulo, (c) Pupa no interior do casulo.	18
Figura 2. Metamorfose do inseto.....	19
Figura 3. Estrutura da seda.	20
Figura 4. Fórmula estrutural do gluconato de cálcio.	27
Figura 5. Casulos limpos e cortados para a etapa de extração.	31
Figura 6. Fluxograma da confecção de blendas de SER/PVA.	33
Figura 7. Blendas de SER/PVA com glicerol e gluconato obtidas.	33
Figura 8. A) Texturômetro com blenda em análise. B) Blenda ajustado nas garras do equipamento.	36
Figura 9. A) Incubadora <i>Shaker</i> B) Espectro de absorção atômica.	36
Figura 10. A) Análise termogravimétrica B) Análise termogravimétrica diferencial das blendas de SER/PVA utilizando Gly como plastificante realizada em atmosfera inerte de N ₂ , com uma razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ em porta amostra aberto de platina.	38
Figura 11. A) Análise termogravimétrica B) Análise termogravimétrica diferencial das blendas de SER/PVA utilizando GLY e GLU como plastificante realizada em atmosfera inerte de N ₂ , com uma razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ em porta amostra aberto de platina.	41
Figura 12. A) Análise termogravimétrica B) Análise termogravimétrica diferencial das blendas de SER/PVA utilizando GLU como plastificante realizada em atmosfera inerte de N ₂ , com uma razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ em porta amostra aberto de platina.	43
Figura 13. A) Análise termogravimétrica das blendas com teor de SER em 30% B) Análise termogravimétrica das blendas com teor de SER em 60% utilizando GLY, GLU e mistura de plastificantes realizada em atmosfera inerte de N ₂ , com uma razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ em porta amostra aberto de platina.	44
Figura 14. Espectros de FTIR-ATR da SER, PVA e blendas produzidos utilizando GLY como plastificante. Espectros obtidos na faixa de 4000 a 600 cm ⁻¹ , com 64 varreduras e resolução de 2cm ⁻¹	46
Figura 15. Análise da estrutura secundária da Sericina extraída a partir da banda amida I com o auxílio da segunda derivada, onze curvas lorentzianas foram geradas demonstrando excelente compatibilidade com a curva real.	46
Figura 16. Monitoramento do teor de estruturas secundárias das blendas SER/PVA utilizando glicerol como plastificante.....	48
Figura 17. Espectros de FTIR-ATR da SER, PVA e blendas produzidos utilizando GLY e GLU como plastificante. Espectros obtidos na faixa de 4000 a 600 cm ⁻¹ , com 64 varreduras e resolução de 2cm ⁻¹	50
Figura 18. Monitoramento do teor de estruturas secundárias das blendas SER/PVA utilizando GLY e GLU como plastificante.....	51
Figura 19. Espectros de FTIR-ATR da SER, PVA e blendas produzidos utilizando GLY e GLU como plastificante. Espectros obtidos na faixa de 4000 a 600 cm ⁻¹ , com 64 varreduras e resolução de 2cm ⁻¹	52
Figura 20. Monitoramento do teor de estruturas secundárias das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio como plastificante.....	52

Figura 21. Imagens de microscopia eletrônica de varredura sendo A e B referentes a blenda S40GLY100 com ampliações de 200x e 1000x respectivamente e C e D referentes a blenda S40GLU100 também nas mesmas ampliações.....	54
Figura 22. Ensaio de tração das blendas SER/PVA com GLY como plastificante.	56
Figura 23. Ensaio de tração das blendas SER/PVA com GLY e GLU como aditivos.	57
Figura 24. Ensaio de tração das blendas SER/PVA com GLU como aditivo.....	58
Figura 25. Monitoramento da liberação de Ca^{2+} de filmes SER/PVA na solução em função do tempo.	60
Figura 26. Modelo representando a estrutura proposta dos filmes obtidos pela blenda polimérica SER/PVA com gluconato de cálcio como plastificante.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição de aminoácidos da sericina (% mol).	22
Tabela 2- Classificação do PVA comercial quanto ao grau de hidrólise e polimerização.	25
Tabela 3 – Concentrações dos filmes obtidos e suas nomenclaturas.	32
Tabela 4 - Teor de umidade nas blendas com Gly100.	37
Tabela 5 - Valores de Massa Residual e T_{onset} para o início da degradação.....	40
Tabela 6 - Composição e atribuição dos componentes individuais da banda amida I.	47
Tabela 7 - Relação entre as integrais das bandas amida I com as bandas amida II, amida III e angular de OH, demonstrando o efeito reticulante do cálcio nas blendas SER/PVA.	53
Tabela 8 - Propriedades de tração das blendas SER/PVA com GLY como plastificante.	59

LISTA DE ABREVIATURAS

FTIR-ATR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada
GLY	Glicerol
GLU	Gluconato de cálcio
PVA	Álcool poli (vinílico)
SER	Sericina
TGA	Análise termogravimétrica
T_{onset}	Temperaturas de degradação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 POLÍMEROS	16
3.1.1 Blendas Poliméricas	17
3.2 <i>Bombyx mori</i>	17
3.2.1 Composição e processamento da seda.....	19
3.2.2 Sericina	20
3.2.3 Aplicações da sericina	23
3.3 BLENDAS SERICINA/PVA	24
3.4 PLASTIFICANTES E RETICULANTES	26
3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BLENDAS SERICINA/PVA.....	28
3.5.1 Análise termogravimétrica	28
3.5.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho	28
3.5.3 Ensaio de tração	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1 MATERIAIS	30
4.2 MÉTODOS.....	30
4.2.1 Metodologia de obtenção da solução de sericina	30
4.2.2 Metodologia de preparação dos filmes das blendas SER/PVA.....	31
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS BLENDAS SER/PVA.....	34
4.3.1 Teor de Umidade	34
4.3.2 Análise termogravimétrica (TGA).....	34
4.3.3 Espectroscopia de absorção no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	35
4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura	35
4.3.5 Ensaio de Tração	35
4.3.6 Análise de liberação de cálcio	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 TEOR DE UMIDADE	37
5.2 ANÁLISE TÉRMICA	38
5.2.1 Comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando Glicerol como plastificante.....	38
5.2.2 Comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando Gluconato de Cálcio e Glicerol como aditivos	40

5.2.3 Comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando Gluconato de Cálcio como aditivo.....	42
5.3 ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA POR INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER DAS BLENDA SER/PVA.....	45
5.3.1 Análise Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier das blendas SER/PVA utilizando glicerina como plastificante.	45
5.3.2 Análise Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier das blendas SER/PVA utilizando glicerina e gluconato de cálcio como aditivos	49
5.3.3 Análise Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio como plastificante.	51
5.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS BLENDA SER/PVA UTILIZANDO GLICERINA E GLUCUNATO DE CÁLCIO COMO ADITIVOS	54
5.5 ENSAIOS DE TRAÇÃO.....	55
5.5.1 Ensaios de tração das blendas SER/PVA utilizando glicerina como plastificante.....	55
5.5.2 Ensaios de Tração das blendas SER/PVA utilizando glicerina e gluconato de cálcio como aditivos.....	57
5.5.3 Ensaios de Tração das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio como aditivo	58
5.6 ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE CÁLCIO EM SOLUÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA.....	59
5.7 PROPOSIÇÃO DE ESTRUTURAS PARA O FILME SER/PVA UTILIZANDO O GLUCONATO DE CÁLCIO	61
6 CONCLUSÃO.....	63
7 REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa e o desenvolvimento de novas tecnologias na área de materiais e de processos químicos tem sido objeto de muitos trabalhos científicos que buscam inovações. O uso de materiais poliméricos para aplicação na área biomédica está em constante ascensão, e possuem importantes aplicações como sistema controlado de liberação de drogas, encapsulamento de células, regeneração de tecidos musculares e blendas para uso tópico (SEAL; OTERO; PANITCH, 2001).

Os polímeros podem ser de origem sintética ou naturais, estes também chamados de biopolímeros. Os sintéticos correspondem ao agrupamento de monômeros por reações de polimerização (adição ou condensação) formando macromoléculas, são exemplos destes polímeros: O álcool poli (vinílico), poliésteres, poliamidas, entre outros. Os biopolímeros são formados na natureza durante o ciclo de alguns organismos envolvendo processos catalisados por enzimas e crescimento das cadeias por reações de polimerização, tendo-se como exemplo de polímero natural a sericina formada pelo *Bombyx mori*.

Presente no casulo do bicho da seda (*Bombyx mori*), a sericina é uma proteína globular, complementar à formação do casulo com a função de envolver os filamentos de fibroína. Além disso, a maioria dos aminoácidos que constituem a sericina apresenta fortes grupos polares, tais como hidroxila, carboxila e grupos amino, que permitem a reticulação, copolimerização e a formação de blendas com outros polímeros para produzir materiais com propriedades aperfeiçoadas (ZHANG, 2002).

A biocompatibilidade desses produtos naturais permite que essas substâncias e seus produtos sejam eliminados pelo organismo por meio das vias metabólicas, e ainda permite que ao haver exposição contínua com o organismo haja aceitação e tolerância pelo corpo sem produzir reações desfavoráveis (MENESTRINA *et al.*, 1998).

Para a utilização de biopolímeros é extremamente importante à avaliação de algumas características, com o objetivo de produzir blendas com melhores propriedades ao fim destinado. Dessa forma, é interessante relacionar as características dos agentes plastificantes e/ou reticulantes com a suas propriedades funcionais. A incorporação desse agente modifica a organização molecular tridimensional da rede polimérica afetando propriedades macroscópicas do material.

Dentro deste contexto, o presente estudo avalia o efeito do gluconato de cálcio como agente plastificante e/ou reticulante nas blendas de sericina/álcool poli (vinílico) devido a sua estrutura molecular, aliando a sua funcionalidade como repositor mineral e no tratamento de queimaduras específicas, produzindo sistemas poliméricos com características superiores que servem melhor ao propósito de utilização como um biomaterial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do gluconato de cálcio em blendas poliméricas sericina/álcool poli (vinílico) visando uma possível aplicação em materiais com liberação controlada de fármacos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extração e precipitação da sericina do bicho da seda *Bombyx mori*;
- Elaboração de filmes poliméricos da blenda SER/PVA com glicerol e gluconato de cálcio e composições;
- Caracterização dos sistemas poliméricos quanto ao teor de umidade, espectroscopia no infravermelho em módulo de refletância total atenuada com transformada de Fourier, análises termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura e ensaios de tração.
- Monitorar o teor de cálcio em solução proveniente da liberação do gluconato de cálcio presente nos filmes da blenda SER/PVA por espectroscopia de absorção atômica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLÍMEROS

Os polímeros, também chamados de macromoléculas, são constituídos por um grande número de unidades moleculares que estão ligadas entre si por ligações covalentes. São compostos químicos que são resultados das reações químicas de polimerização, apresentando elevada massa molecular. O número de unidades estruturais repetidas numa macromolécula é chamado grau de polimerização (CALDEIRA, 2013).

Os polímeros podem ser sintéticos e naturais também chamados de biopolímeros. Os sintéticos correspondem ao agrupamento de monômeros por reações de polimerização (adição ou condensação) formando macromoléculas, são exemplos destes polímeros: O álcool poli (vinílico) (PVA), poliésteres, poliamidas, entre outros. Os biopolímeros são formados na natureza durante o ciclo de alguns organismos envolvendo processos catalisados por enzimas e crescimento das cadeias por reações de polimerização, tendo-se como exemplo de polímero natural a sericina formada pelo *Bombyx mori*.

O uso de materiais poliméricos para aplicação na área biomédica está em constante ascensão, e possuem importantes aplicações como sistema de liberação de drogas, encapsulação de células, regeneração dos tecidos musculares estriados e cardíacos e blendas para uso tópico (ZHANG; CAO, 2016; SEAL;OTERO; PANITCH, 2001). Entre esses materiais utilizados encontra-se o poli (ácido láctico-co-glicólico), poli (etilenoglicol), poliuretano, PVA e os polímeros naturais como o alginato, o amido, a celulose, a quitosana e a sericina. Dentre estes, os polímeros naturais são de particular interesse, dado que, sendo componentes naturais de seres vivos, apresentam semelhança química e biológica aos tecidos naturais (KIM *et al.*, 2007).

As suas propriedades podem ser facilmente alteradas por diferentes métodos físicos e químicos. Isto permite a seleção de propriedades importantes tais como capacidade de absorção de água, cinéticas de degradação, ou propriedades mecânicas com especificações apropriadas e determinadas aplicações. Blendas compostas por proteínas e polissacarídeos têm grande resistência mecânica e permeabilidade seletiva a gases, embora sejam sensíveis à umidade. Assim, a combinação de materiais pode resultar em melhores propriedades funcionais das blendas (MATTA-JUNIOR, 2009). Soares *et. al.*, (2007), define biomateriais como materiais de origem sintética ou natural, que quando inseridos no corpo são capazes de tratar, melhorar

ou substituir tecidos, órgãos ou funções do corpo. Podem servir como veículo, matriz (suporte) ou como estimulador para o crescimento de novos tecidos.

3.1.1 Blendas Poliméricas

Blenda polimérica, ou simplesmente blenda, é a mistura física entre dois ou mais polímeros, sem que ocorram reações químicas entre os componentes (WORK *et al.*, 2004). A grande atenção dada a estes materiais é devido à relativa facilidade de obtenção de novos materiais com características desejadas, com um custo relativamente baixo pela combinação de propriedades de interesse dos polímeros utilizados. O desenvolvimento de blendas formadas a partir de biopolímeros tem a propriedade de melhorar as características físicas, químicas e mecânicas, pois os constituintes das blendas são definidos de forma a um compensar a deficiência do outro, e vice-versa. Outra vantagem destes materiais é seu baixo custo como resultado da disponibilidade da matéria prima.

As blendas podem ser obtidas por vários métodos como por extrusão e eletrofiação assim como o método de secagem ou “*casting*”. O método de *casting* consiste na deposição da solução em uma superfície adequada e secagem pela evaporação do solvente. A obtenção das blendas é resultado das interações inter e intramoleculares que ocorrem entre os polímeros, o grau de coesão vai depender tanto da presença de outras moléculas, como por exemplo, os plastificantes, como a da estrutura dos polímeros que constituem a blenda (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

3.2 *Bombyx mori*

A seda é uma fibra têxtil natural secretada pelo inseto *Bombyx mori*, comumente denominado bicho-da-seda, originário do *Bombyx mandarina* (*Theophila mandarina*), sendo o principal de uma variedade de insetos do filo Arthropoda. Esta fibra tem por finalidade recobrir e proteger o inseto dentro do casulo durante a fase de transformação da larva em pulpa, e posterior transformação em mariposa (MAUERSBERGER, 1954).

A origem do *Bombyx mori* é da China e há 5.000 anos vem sendo cultivado pelo homem para obtenção de fios de seda. Da China, o bicho-da-seda foi inserido no Japão, Turquestão e Grécia. A introdução do inseto no Brasil foi em 1848 no Estado do Rio de Janeiro e, em 1922, na cidade de Campinas-SP, onde foi criada a Indústria de Seda Nacional S/A. A sericultura tornou-se uma importante atividade para a agroindústria brasileira a partir da década de 30, e atualmente, de acordo com o relatório da SEAB - Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (2016), o Paraná é o maior produtor nacional, uma vez que na safra de 2015/16, o Brasil produziu 2,9 mil t de casulos verdes sendo 85% (2,4 mil t) pelo Paraná que foi o maior produtor nacional (SEAB, 2016).

O bicho-da-seda apresenta um ciclo de vida, com quatro estágios distintos: ovos, lagartas, pupa (ou crisálida), e finalizando com a metamorfose (denominada imago) ilustrada pelas Figuras 1 e 2. Dependendo das condições de criação e do tipo do ovo a duração do ciclo de vida para essa espécie tem duração entre 55 e 60 dias, as larvas alimentam-se das folhas de amoreira, por um período médio de quatro semanas, e apresentam grandes variações físicas. Essa fase de crescimento das lagartas passa por cinco estágios, depois de cinco semanas, quando a lagarta está no 5º estágio, ela para de se alimentar, inicia a fiação do casulo e se converte em pupa, mais tarde esta se transformará em uma mariposa (ZANETTI; REIS, 2003). Os casulos são coletados e submetidos ao processo de secagem com temperatura elevada para evitar a saída da mariposa do casulo e, conseqüentemente, o comprometimento dos fios de seda ainda no estágio de pupa. Este processo apresenta duas finalidades: interromper a etapa de metamorfose da crisálida, induzindo sua morte; e eliminar a umidade excessiva, nociva à fiação. Obtendo dessa forma, um fio contínuo de cada casulo sem a danificação do filamento de seda pela saída da mariposa (HOLANDA; MATA; LIMA, 2004).

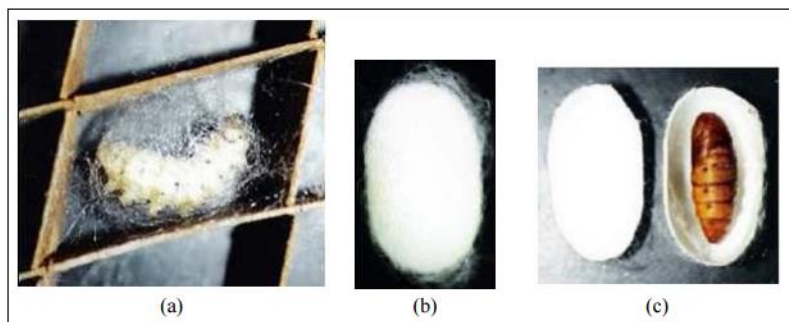


Figura 1. - (a) Lagartas construindo casulos, (b) Casulo, (c) Pupa no interior do casulo.
Fonte: BRANCALHÃO, 2016.

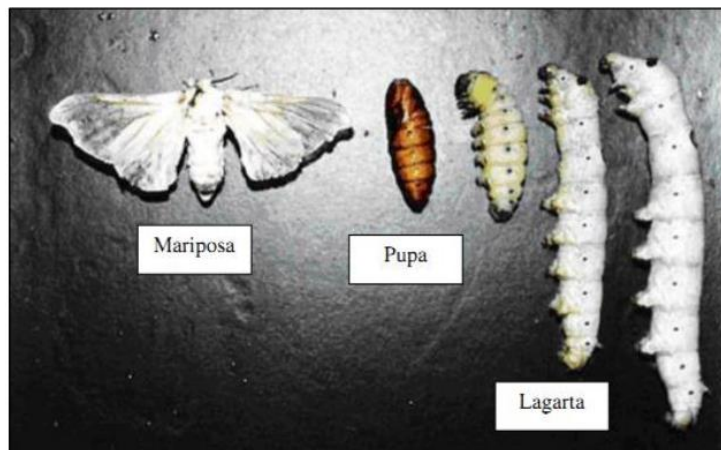


Figura 2. Metamorfose do inseto
 Fonte: BRANCALHÃO, 2016.

3.2.1 Composição e processamento da seda

Durante a formação do casulo a lagarta secreta três componentes proteicos: a fibroína, a Sericina e a P25. A fibroína é uma fibra filamentosa, em um montante que corresponde a 70 - 80 % da matéria seca, a sericina, em concentrações entre 20-30% cuja função é unir os filamentos de fibroína uns aos outros e a P25 é um glicoproteína que auxilia na manutenção da integridade do fio de seda. Componentes complementares, como polissacarídeos, cinzas e lipídeos podem ser detectados no casulo (ZHANG, 2002).

A fibroína é uma proteína fibrosa, altamente insolúvel em água, com alta massa molecular, sendo o principal produto no processamento da seda, é uma fibra natural com grande importância na indústria têxtil na confecção da seda, atualmente essa proteína tem sido estudada e incorporada como material funcional para produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos.

A segunda maior proteína que compõe a seda é a sericina, uma proteína globular hidrofílica, que tem por função fisiológica envolver a fibra de fibroína com sucessivas camadas adesivas, conformando a estrutura compacta do casulo. Conforme mostrado na Figura 3, os dois tipos de proteínas do bicho-da-seda *Bombyx mori* no filamento: sericina (revestimento exterior) e a fibroína (núcleo interno) RIGUEIRO *et al.*, 2001.

O processamento dos casulos para utilização na indústria de fiação constitui no tratamento do casulo do *Bombyx mori* para a obtenção da seda mediante as seguintes operações: secagem, cozimento, degomagem e fiação.

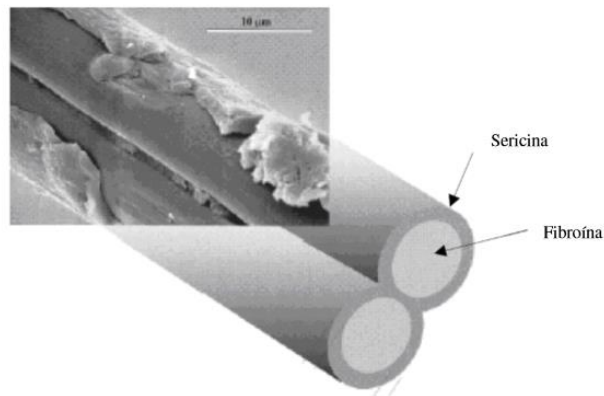


Figura 3. Estrutura da seda.
Fonte: RIGUEIRO *et al.*, 2001.

A secagem é a operação inicial na qual o casulo é processado com o intuito de interromper o processo de metamorfose da crisálida, evitando a sua saída do casulo, e padroniza a umidade para não prejudicar a fiação. O processo é obtido na secagem com ar quente em corrente tendo um longo período de operação (variando de 4 a 8 horas, conforme a capacidade do equipamento e necessidade do processo) (HOLANDA; MATA; LIMA, 2004). A etapa na qual ocorre a remoção efetiva da sericina é a degomagem. Esse processo é realizado com o tratamento dos casulos mediante imersão em solução aquosa contendo diversos aditivos à temperatura de ebulição, os aditivos mais utilizados para essa etapa são bases, sabões (especialmente o sabão de Marselha), e carbonatos (usualmente Na_2CO_3) (LAMOOLPHAK; DE-EKNAMKUL; SHOTIPRUK, 2008). A remoção de sericina é realizada para reduzir as imperfeições ocasionadas na superfície da seda e evitar eventuais reações alérgicas do usuário do produto têxtil a base de seda (ALTMANN *et al.*, 2003). O processamento da sericina, portanto, é variável de acordo com o grau de remoção de sericina, ou o grau de degomagem desejado.

3.2.2 Sericina

A sericina obtida do bicho da seda *Bombyx mori* é uma proteína globular, apresenta ampla faixa de distribuição de massa molar, variando de 10 até 400 kDa, tem por função fisiológica unir os filamentos de fibroína, uns aos outros, para a formação de um casulo composto de sericina-fibroína ambientalmente estável.

Ao descrever uma proteína, é comum distinguir quatro aspectos diferentes da sua estrutura: primária, secundária, terciária e quaternária. As três últimas constituem a conformação, ou estrutura espacial, da proteína.

A estrutura primária da proteína, representa todas as ligações covalentes, principalmente ligações peptídicas e dissulfeto, que ligam os resíduos de aminoácidos em uma cadeia polipeptídica. O elemento mais importante desta estrutura é a sequência de aminoácidos presentes. A estrutura terciária descreve todos os aspectos de dobragem tridimensional de uma proteína e quando a mesma tem duas ou mais subunidades polipeptídicas, a sua disposição no espaço é referida como estrutura quaternária (VOET e VOET, 1997).

A estrutura secundária refere-se a arranjos estáveis que dão origem a padrões estruturais, tais como α -hélice, folhas- β e estrutura aleatória. Na estrutura folha- β , diferentes segmentos do esqueleto de uma cadeia polipeptídica, ou de cadeias diferentes, encontram-se ligados por ligações de hidrogênio em que participam todos os resíduos, formando uma estrutura planar (SILVA, 1999). Se a fibroína e a sericina são consideradas como estrutura primária, cada proteína tem uma sequência de aminoácido repetido que é capaz de formar a estrutura β -folha.

A proteína sericina tem 18 tipos de aminoácidos, como mostra a Tabela 1, dos quais a maioria é constituída pela serina e pelo ácido aspártico, aproximadamente 27,3% e 18,8%, respectivamente. A serina é um aminoácido polar (hidrofílico) devido ao grupo hidroxila que é capaz de ligar o hidrogênio à água (TOMANDON JR, 2011). A sericina é solúvel em água quente (hidrofílica) quando exposta a tal dissolução e, em seguida mantida à temperatura ambiente, apresenta característica gelatinosa (KUNDU *et al.*, 2008).

O primeiro grupo presente na camada mais externa da fibroína são os aminoácidos de natureza polar das cadeias laterais que possuem oxigênio, enxofre e/ou nitrogênio nas cadeias laterais facilitando a interação destes aminoácidos com a água, ou seja, são hidrofílicos.

O segundo grupo presente na região intermediária são os aminoácidos polares com cadeias laterais carregadas positivamente, com caráter hidrofílico. Outro grupo são aminoácidos polares com cadeias laterais carregadas negativamente que confere maior estrutura mecânica ao casulo, contendo maior percentual de estrutura folha- β e ligada internamente às cadeias cristalinas da fibroína (PADAMWAR *et al.*, 2005).

Tabela 1- Composição de aminoácidos da sericina (% mol).

Aminoácido	% mol
Serina	25,28
Glicina	10,51
Ácido aspártico	20,27
Treonina	7,96
Ácido glutâmico	7,90
Arginina	5,26
Alanina	3,97
Tirosina	4,47
Valina	3,79
Lisina	4,68
Histidina	1,75
Leucina	1,36
Isoleucina	0,88
Prolina	0,00
Fenilalanina	0,91
Cisteína	0,72

A sericina ocorre principalmente em estrutura randômica enovelada e amorfa e, em menor extensão, como uma estrutura organizada do tipo folha- β , possui ainda propriedade de formação de gel dependente da temperatura, a qual se deve à mudança da sua estrutura de aleatória randômica para a estrutura organizada de folha- β . Em geral, à medida que a sericina está perto da fibroína, à quantidade de estrutura em folha- β é aumentada. A solução de sericina extraída se transforma em estado de gel após certo período de tempo, uma vez que a estrutura aleatória da sericina é solúvel em água quente e, com o resfriamento da solução, a estrutura aleatória se converte em folha beta, resultando em formação de gel (PADAMWAR *et al*, 2005). Ela pode ser utilizada para melhorar as propriedades dos materiais por sua capacidade de reticulação, copolimerização e de mistura com qualquer outro material macromolecular, principalmente polímeros sintéticos. (SAROVART *et al.*, 2003). Devido ao excelente carácter hidrofílico e a retenção de água, a sericina também tem sido utilizada para várias aplicações como um biomaterial para cicatrização e hidrogéis (TSUBOUCHI, 2001; TERAMOTO; NAKAJIMA; TAKABAYASHI, 2007).

A remoção da sericina dos casulos é realizada por um processo de degomagem, é realizada por via física ou química, seguido da precipitação por congelamento. No primeiro

caso é baseado principalmente na solubilidade dessa proteína em água em dois métodos: extração com água a uma temperatura elevada, extração com água a uma temperatura elevada e sob pressão. Os métodos de degomagem que ocorrem por via química são: extração com solução básica, extração com solução ácida, e remoção por enzimas. Os métodos de degomagem que utilizam enzimas como agentes são mais eficazes e envolvem economia em termos de água, energia, produtos químicos e no tratamento de efluentes. Entretanto, o alto custo das enzimas tem limitado a sua aplicação industrial ((LAMOOLPHAK; DE-EKNAMKUL; SHOTIPRUK, 2008). Durante o processo de fiação na indústria têxtil, tradicionalmente, a sericina é incorporada ao efluente industrial, acarretando em custos de processo e problemas ambientais. No entanto, as suas propriedades como: antioxidante, resistência à radiação ultravioleta, capacidade de absorção e retenção de água e biocompatibilidade, agrega valor a essa proteína, permitindo a sua aplicação na área de alimentos, cosméticos e na medicina (ANGHILERI *et al.* 2007, PADAMWAR *et al.*, 2005).

3.2.3 Aplicações da sericina

Os aminoácidos que constituem a sericina possuem aplicações importantes em toda a faixa de massa molecular. Além disso, a maioria dos aminoácidos apresentam fortes grupos polares tais como hidroxila e carboxila, que permitem a reticulação, copolimerização e blends com outros polímeros para formar materiais biodegradáveis aperfeiçoados. Devido a essas propriedades, é particularmente útil para melhorar materiais poliméricos tais como poliésteres, poliamida e poliolefina (ZHANG, 2002; CAPAR *et al.*, 2009). A sericina também tem utilidade potencial em aplicações farmacológicas, cosméticas e biotecnológicas e pode ser aplicada em biomateriais degradáveis, biomembranas e fibras funcionais (KUNDU *et al.*, 2008).

Por ser uma proteína globular, a sericina também é capaz de formar uma blenda protetora sobre a pele, que produz uma sensação de elasticidade e mantém a pele bem hidratada. Esta blenda permanece mesmo após frequentes lavagens. Adicionalmente, a sericina possui atividade de hidratação da pele (possivelmente devido ao alto conteúdo de serina), ação antirugas, pode ser aplicada como antioxidante em medicina, cosméticos, alimentos e aditivos alimentares. Possui atividade antibacteriana, é resistente à radiação ultravioleta e absorve e libera a umidade facilmente. Além disso, possui alta afinidade por outras proteínas, sendo capaz

de se ligar à queratina da pele e dos cabelos, formando uma blenda resistente, hidratante e protetor, conferindo boas propriedades de barreira (TYRRELL *et al.*, 2003).

Devido à sua composição variável de aminoácidos e diversos grupos funcionais, a proteína confere propriedade bioativa importante particularmente para aplicações biomédicas. Os seus efeitos positivos sobre os queratinócitos e os fibroblastos levam ao desenvolvimento de biomateriais à base de sericina para reparação do tecido dérmico, principalmente para tratamento de feridas e na engenharia de tecido devido à sua capacidade para induzir a nucleação da matriz óssea. A sericina pode também ser utilizada para administração de fármacos porque a sua atividade química e a sua capacidade de resposta ao pH facilitam a obtenção de nano e micropartículas, hidrogéis e moléculas conjugadas, melhorando a atividade dos fármacos (LAMBONI, *et al.*, 2015).

Aramwit *et al.*, (2007) também avaliaram os efeitos da sericina na cicatrização e redução do tamanho de feridas em ratos. Um creme contendo 8% de sericina não apresentou efeito tóxico em ratos, mostrando-se seguro e biocompatível. As reações inflamatórias da pele, em feridas tratadas com sericina, apresentaram menor intensidade com relação ao controle. A cicatrização das feridas tratadas com o creme à base de sericina foi mais rápida do que a cicatrização das feridas tratadas com o controle, 11 e 15 dias respectivamente.

3.3 BLENDA SERICINA/PVA

O PVA também conhecido como poli (álcool vinílico) possui uma estrutura química relativamente simples com grupos hidroxila pendente. A polimerização direta do PVA não é possível devido à instabilidade do monômero, o qual se tautomeriza para a forma de acetaldeído. Portanto, o PVA é um polímero sintético obtido por meio da polimerização radicalar no monômero de acetato de vinila para poli acetato de vinila (PVAc), seguida pela hidrólise dos grupos acetato para produzir a cadeia polimérica hidroxilada. A reação de hidrólise não é completa resultando em polímeros com certos graus de hidrólise dependendo da extensão da reação (FINCH, 1992). A Tabela 2 apresenta o grau de hidrólise e o grau de polimerização do PVA comercial.

Tabela 2- Classificação do PVA comercial quanto ao grau de hidrólise e polimerização.

	PVA	Classificação
	98,0 a 98,8	Totalmente hidrolisado
Hidrólise	95 a 97	Intermediário
(%)	87 a 89	Parcialmente hidrolisado
	79 a 81	Baixo
	500	Baixo
Grau de	900	Intermediário
Polimerização	1500	Médio
	2200	Alto

O grau de hidrólise, ou o conteúdo de grupos acetato no polímero, tem um efeito global sobre as propriedades químicas, solubilidade e cristalinidade do PVA. Por suas excelentes propriedades descritas, ele tem sido utilizado em um grande número de aplicações industriais. Este polímero é um excelente adesivo, possui boa resistência a solventes, óleos e graxas e sua resistência à passagem de oxigênio é superior a de qualquer polímero conhecido. É um dos poucos polímeros semi cristalinos solúveis em água com boas características interfaciais e mecânicas. O PVA tem sido usado em processamento de papel e fibras e como estabilizante de emulsão, além de ser importante como matéria-prima para blendas. Estudos de obtenção de PVA vêm sendo desenvolvidos para controle da cristalinidade e, pela introdução de grupos funcionais, para melhorar ou conferir propriedades específicas (MARTEN *et al.*, 1985).

As blendas que contêm apenas proteínas obtêm propriedades mecânicas insatisfatórias, limitando dessa forma a sua utilização. Uma opção atrativa devido às suas características de fácil preparação, boa resistência química e propriedades mecânicas é a incorporação PVA (RASIA,2014).

A biocompatibilidade desses produtos naturais como a sericina permite que essas substâncias e seus produtos sejam eliminados pelo organismo por meio das vias metabólicas, e ainda permite que ao haver exposição contínua a área dérmica haja aceitação e tolerância pelo corpo sem produzir reações desfavoráveis. Neste contexto pode ser adicionado a sericina a outros polímeros como o PVA, produzindo blendas com características superiores que servem melhor ao propósito de utilização como um biomaterial (MENESTRINA *et al.*, 1998).

Siritienthong (2012) e colaboradores, desenvolveram sistemas poliméricos de sericina/PVA com precipitado com álcool etílico para cicatrização feridas, o estudo apresentou

resultados positivos em relação a redução do tamanho das ferida e maior extensão da formação de colágeno e da área dérmica.

3.4 PLASTIFICANTES E RETICULANTES

A formação de blendas poliméricas depende da solubilização da macromolécula no solvente (água, etanol, ácido acético, outros), da adição de plastificante e/ou adição de agente reticulante ou outro aditivo que se deseja, para a obtenção de um gel. Esse gel envolve ligações inter e intramoleculares cruzadas entre cadeias de polímeros, formando uma matriz tridimensional semi-rígida que envolve e imobiliza o solvente utilizado (KESTER e FENNEMA, 1986).

Os plastificantes são definidos como substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade que quando adicionados a uma matriz polimérica provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas do material (McHUGH; KROCHTA, 1994).

A composição, tamanho, e forma da molécula do plastificante influenciam a sua habilidade de interagir com as cadeias dos polímeros e ligar-se às moléculas de água, causando assim um maior efeito plastificante, já que a água é um plastificante efetivo nas blendas de biopolímeros hidrofílicos (SCHOCH; MAYMALD, 1968).

A adição de aditivos à solução filmogênica podem reduzir a fragilidade da blenda, e aumenta a flexibilidade e extensibilidade do mesmo. A incorporação desse agente modifica a organização molecular tridimensional da rede polimérica, diminuindo as forças de atração intermoleculares e aumentando o volume livre do sistema. A rede torna-se menos densa devido à redução das forças entre as cadeias, ocorrendo assim, a diminuição da temperatura de transição vítrea e o aumento da mobilidade da estrutura polimérica (MALI, 2002).

Para a produção de biopolímeros é extremamente importante à avaliação de algumas características, a fim de produzir blendas com melhores propriedades ao fim destinado. Dessa forma, é interessante relacionar as características dos agentes plastificantes e/ou reticulantes com a suas propriedades funcionais.

Entre os vários plastificantes utilizados em polímeros destacam-se a policaprolactona, polietileno glicol, glicerol, sorbitol, citratos e monoglicerídeo. O mais usado é o glicerol, que é um plastificante com alto ponto de fusão, solúvel em água, polar e não volátil. (OLABARRIETA, 2005).

O glicerol ou propano-1,2,3-triol é um composto orgânico pertencente à função álcool ligado a ácidos graxos tais como ácido esteárico, palmítico e láurico para formar a molécula de triacilglicerol. Por ser o glicerol uma molécula hidrofílica, relativamente pequena com três carbonos ligados a três hidroxilas, pode reagir entre as cadeias poliméricas adjacentes aumentando a mobilidade molecular.

Solorza-Feria (2008) avaliou o efeito do grau de hidrólise do PVA e a concentração de plastificante na cor, opacidade, e propriedades mecânicas e térmicas de blendas de gelatina e PVA, utilizando o glicerol como plastificante. As blendas obtidas foram adequadamente resistentes, porém mostrando forte dependência da concentração de glicerol utilizada nas propriedades estudadas. Recentemente, outros tipos de materiais como os fármacos estão sendo utilizados como aditivos aliados à sua estrutura molecular e propriedades funcionais, estudos envolvendo lidocaína, cetoprofeno, ibuprofeno, mostraram efeito plastificante e reticulantes e a consequente mudança nas propriedades físico-químicas e mecânicas de sistemas poliméricos (NAIR *et al.*, 2001). Dentre os fármacos utilizados como aditivos, o gluconato de cálcio apresenta características interessantes por sua estrutura com grupos hidroxilas e íons de Ca^{2+} em sua composição química (Figura 4). O gluconato é um sal de cálcio proveniente do ácido glucônico, possui atividade terapêutica como repositor mineral (CHEN; YANG, 2017), no tratamento de intoxicações (LUSCHER *et al.*, 1994) e no tratamento de queimaduras específicas (ZHANG, *et al.*, 2014; ROBLIN *et al.*, 2006).

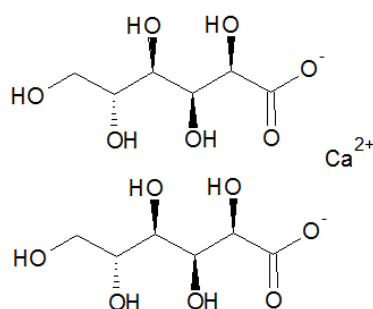


Figura 4. Fórmula estrutural do gluconato de cálcio.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS BLENDA SERICINA/PVA

3.5.1 Análise termogravimétrica

A Análise Termogravimétrica (TGA) é uma técnica termoanalítica que acompanha a variação da massa da amostra em função de um programa de temperatura, verificando a decomposição térmica da substância. Esta técnica é muito utilizada para observar o comportamento e a estabilidade térmica das blendas poliméricas avaliando a capacidade de uma substância em manter suas propriedades sob variações de temperatura (CALDEIRA, 2013).

3.5.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR - do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) é uma técnica que baseia-se na interação da radiação infravermelha com as moléculas, a absorção dessa radiação ocorre de maneira diferenciada em relação a cada tipo de ligação e interação que o material sofre. A absorção dessa radiação resulta em bandas que formam um espectro único para cada material.

3.5.3 Ensaio de tração

Ensaio de tração avaliam as propriedades mecânicas das blendas poliméricas, a razão entre a tensão aplicada e a deformação sofrida na região elástica, define o módulo de elasticidade ou módulo de Young da amostra. Dessa forma, quanto mais elástico o material, maior será a sua resistência à deformação, esta resistência depende da extensão da cadeia polimérica, da sua geometria, da dispersão das forças intermoleculares, da natureza e da posição de grupamentos laterais (PAULA, 2011).

As propriedades mecânicas estão diretamente relacionadas à natureza do material filmogênico utilizado e à coesão da estrutura da matriz polimérica, que está ligada à distribuição

e concentração inter e intramoleculares na estrutura formadora de blenda entre as cadeias. (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993).

Estudos encontrados na literatura relatam a interferência de alguns compostos nessa análise. Turbiani (2011) elaborou blendas poliméricas com sericina e glicerol e de sericina/PVA e glicerol, quando comparado o comportamento mecânico das blendas com a incorporação do PVA alterou significativamente as propriedades das blendas aumentando para 12,24% o alongamento na ruptura.

Miyake *et al.* (2002) desenvolveram um molde de injeção plástica de uma mistura de PVA e sericina, estudaram suas propriedades físicas e estruturais com vários conteúdos de sericina. Em seu estudo, a tensão e o alongamento aumentaram quando se utilizou um conteúdo de sericina de 2% em massa. No entanto, os valores da tensão e do alongamento foram reduzidos quando se usou 5% sericina em massa, e aumentou novamente acima de 10% sericina em massa.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para a confecção das blendas, as macromoléculas utilizadas foram a proteína sericina (SER) obtida a partir dos casulos do bicho da seda *Bombyx mori* de segunda classe, cedidos pela empresa BRATAC S/A – Londrina – PR e o álcool polivinílico (PVA, 87% - 89% hidrolisado (Dinâmica), glicerol (GLY) (Alphatec) e gluconato de cálcio (GLU). Os dessecadores utilizados para o armazenamento das blendas apresentavam 52% de umidade relativa a partir de soluções saturadas de nitrato de magnésio (Ecibra, Brasil).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção da solução de sericina

Sericina da seda foi extraída dos casulos do bicho da seda *Bombyx mori*. Para facilitar a extração, os casulos foram cortados em pequenos pedaços exemplificados na Figura 5 e então imersos em água destilada na proporção 3:100 (m/v), os recipientes foram tampados com papel filtro.

A extração foi realizada em 2 etapas. Primeiramente, a solução aquosa de SER foi extraída com água quente a 120°C na pressão manométrica correspondente a 1 kgf/cm² durante 60 min em autoclave. Após processo de extração em autoclave a solução foi armazenada em garrafas PET e levadas ao freezer onde foram mantidas a -20 °C durante 24 horas para precipitação. Após este período a solução foi retirada do freezer e deixada à temperatura ambiente (25 °C) até descongelar (aproximadamente 12 horas). Por fim a SER foi obtida por filtração a vácuo (TURBIANI, 2011).



Figura 5. Casulos limpos e cortados para a etapa de extração.

4.2.2 Preparação dos filmes das blendas SER/PVA

Os filmes das blendas de SER/PVA foram obtidos por “*casting*”, a partir de soluções preparadas em água destilada de SER, PVA, glicerol e gluconato de cálcio à concentração de 1% (m/v). As blendas foram formadas por duas frações: A primeira constituída dos materiais poliméricos (90% m/m) e a segunda de aditivos (10% m/m). A fração polimérica é constituída de diversas composições de SER e PVA. Os aditivos utilizados foram GLY, GLU e uma mistura 1:1 GLY/GLU. Na Tabela 3 pode ser observadas as respectivas concentrações e sua nomenclatura.

Tabela 3 – Concentrações dos filmes obtidos e suas nomenclaturas.

Filme Obtido	Fração Polimérica		Aditivos	
	SER	PVA	GLY	GLU
S30GLY100	30	70	100	0
S40GLY100	40	60	100	0
S50GLY100	50	50	100	0
S60GLY100	60	40	100	0
S70GLY100	70	30	100	0
S30GLU100	30	70	0	100
S40GLU100	40	60	0	100
S50GLU100	50	50	0	100
S60GLU100	60	40	0	100
S70GLU100	70	30	0	100
S30GLU50	30	70	50	50
S40GLU50	40	60	50	50
S50GLU50	50	50	50	50
S60GLU50	60	40	50	50
S70GLU50	70	30	50	50

A solução foi mecanicamente agitada com agitador (IKA RH basic KT/C) equipado com controlador de temperatura a 1000 rpm por 1 h para garantir homogeneidade. Alíquotas de 10 mL dessa solução foram transferidas para placas de teflon (diâmetro = 7 cm), e levadas a uma estufa de circulação de ar (Marconi – MA035, Brasil), a 40°C, por 24 horas, para formação de uma blenda a partir da evaporação do solvente. Um fluxograma do processo é apresentado na Figura 6. Antes de sua caracterização, as blendas foram armazenadas por 72 horas em dessecadores a uma umidade relativa de 52% (solução saturada de nitrato de magnésio) e temperatura de 25 °C para uniformizar seu teor de umidade, na Figura 7 pode-se observar as blendas poliméricas obtidas.

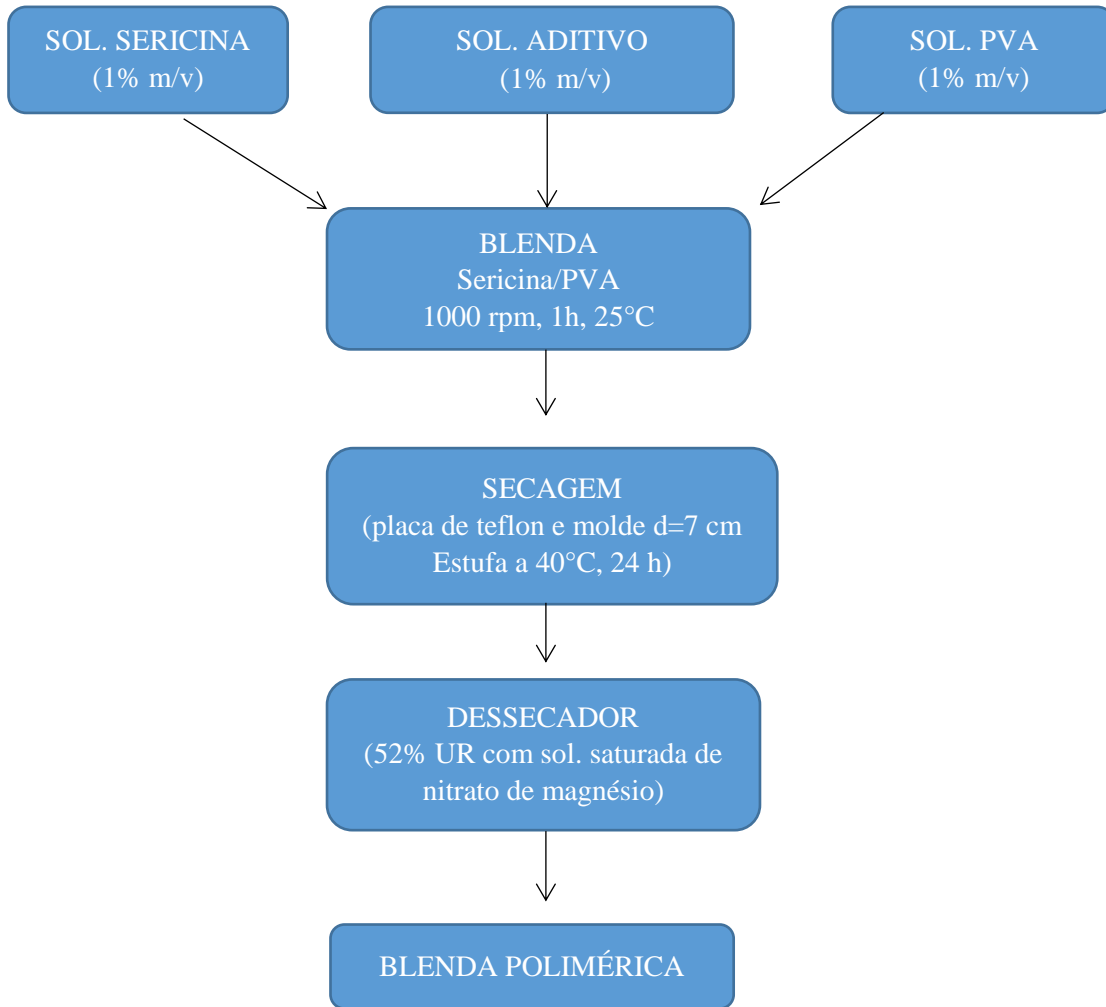


Figura 6. Fluxograma da confecção de blendas de SER/PVA.



Figura 7. Blendas de SER/PVA com glicerol e gluconato obtidas.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS BLENDA SER/PVA

4.3.1 Teor de Umidade

A umidade (ω) foi determinada em triplicata para cada formulação de blenda, de acordo com Rhim et al. (2002). A massa inicial de discos cortados das blendas, de 2,5 cm de diâmetro, foi quantificada e as amostras submetidas à secagem a 105° C por 24 h em estufa (*Quimis*, G-3176112, Brasil) e a massa seca quantificada novamente. O teor de umidade (ω) foi expresso como fração da massa inicial da blenda pela Equação. 1:

$$\omega = \frac{(m_i - ms_f)}{m_i} \cdot 100$$

onde: ω é a umidade da blenda [%];

m_i é a massa seca inicial da amostra [g];

ms_f é a massa seca final da amostra [g].

4.3.2 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas termogravimétricas foram obtidas em um termo-analisador Perkin Elmer STA6000, em porta amostra de platina, com aproximadamente 10 mg de amostra essas foram mantidas à 70 °C por 5 minutos antes de serem aquecidas em uma faixa de temperatura entre 70 a 600 °C. A razão de aquecimento utilizada foi de 10 °C.min⁻¹, conduzidas sob atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de 20 mL.min⁻¹.

4.3.3 Espectroscopia de absorção no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

A espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em um espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 100, no modo refletância total atenuada (ATR). Todas as amostras foram analisadas com janela espectral na região entre 4000 e 600 cm^{-1} , com 64 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} .

4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

As análises morfológicas foram obtidas em microscópio TM 3000 *Tabletop Scanning Electron Microscope*, as imagens foram obtidas com 15 KV sem metalização.

4.3.5 Ensaio de Tração

Para a realização dos ensaios de tração foi utilizado um texturômetro modelo TA.HD.-plus - Stable Micro Systems, seguindo a norma ASTM D882-02 (Método de Teste Padrão para Propriedades de Tração de Folha Plástica Fina). As amostras de cada formulação foram cortadas com 25 mm de comprimento e 10 mm de largura e ajustadas nas garras do equipamento (Figura 8). A taxa de tração utilizada nos nanocompósitos foi de 1 mm.s^{-1} , com uma distância inicial entre as garras de 15 mm. A célula de carga aplicada foi de 5 kgf.

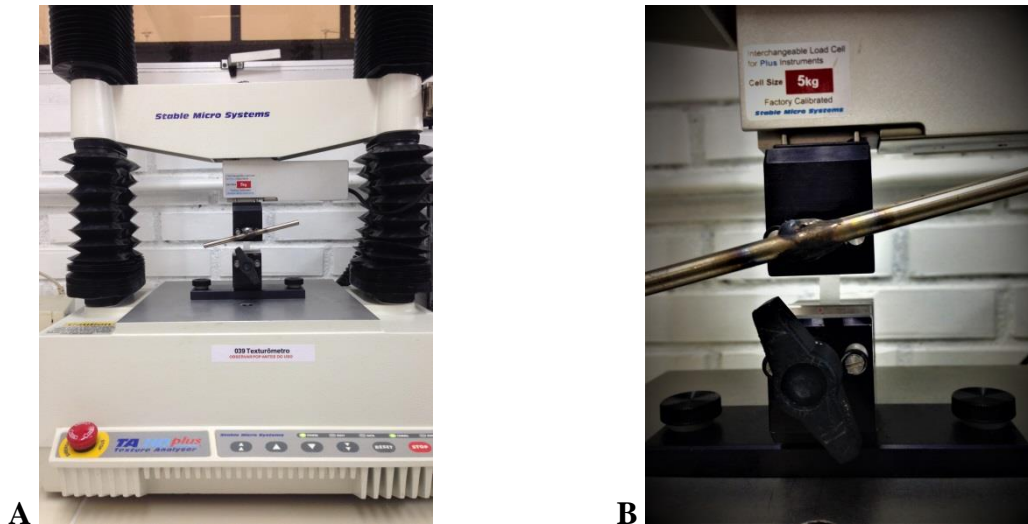


Figura 8. A) Texturômetro com blenda em análise. B) Blenda ajustada nas garras do equipamento.

4.3.6 Análise de liberação de cálcio

As blendas analisadas nesse experimento foram a S40GLU100 e a S70GLU100, as amostras foram pesadas e imersas em 100 mL de água destilada, os erlenmeyer foram submetidos a Incubadora *Shaker – Lactea* (Figura 9), sob leve agitação constante à temperatura controlada durante 10 dias. Aliquotas de 1 mL foram retiradas ao longo do tempo para posterior análise por espectroscopia de absorção atômica, o espectro utilizado foi o Modelo 240FS AA Marca Varian (Figura 9) as leituras foram realizadas em absorbância com chama ar/acetileno, comprimento de onda da lâmpada em 422,7 nm, corrente da lâmpada em 10,0mA, vazão de ar comprimido em 13,50L/min e vazão do acetileno em 2,00L/min.



Figura 9. A) Incubadora *Shaker* B) Espectro de absorção atômica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade das blendas SER/PVA com os diferentes aditivos são apresentados na Tabela 4. O teor de umidade para as blendas utilizando GLY como plastificante demonstraram-se maior nas situações onde o PVA exibia maior teor na composição da blenda, isto é atribuído ao fato do PVA ser um material mais hidrofílico quando comparado com a SER apresentando uma interação mais intensa com a água. Nas blendas utilizando o GLU como aditivo, tanto na mistura como utilizado exclusivamente não se observou alteração significativa no teor de umidade em relação a composição SER/PVA. As blendas com GLU apresentaram um teor de umidade menor quando comparados com as blendas com GLY, isso é atribuído ao possível efeito reticulante causado pelos íons Ca^{2+} no material. Acredita-se que estes íons interagem mais intensamente com grupos hidrofílicos da SER e do PVA diminuindo a disponibilidade de grupos hidrofílicos que podem interagir com a água, diminuindo então a umidade do material (JOSHI; GULRAJANI; BAR, 2015).

Tabela 4 - Teor de umidade nas blendas.

Blenda	Umidade (%)
S30Gly100	15,74
S40Gly100	15,40
S50Gly100	14,06
S60Gly100	12,93
S30Glu50	9,26
S40Glu50	8,96
S50Glu50	8,35
S60Glu50	10,28
S70Glu50	9,14
S30Glu100	12,50
S40Glu100	12,65
S50Glu100	11,76
S60Glu100	11,54
S70Glu100	11,90

5.2 ANÁLISE TÉRMICA

5.2.1 Comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando glicerol como plastificante

O comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando o GLY como plastificante foi estudado a partir de ensaios termogravimétricos das blendas e dos principais componentes estudados: a SER e o PVA, estes são apresentados na Figura 10 juntamente com a derivada da curva termogravimétrica.

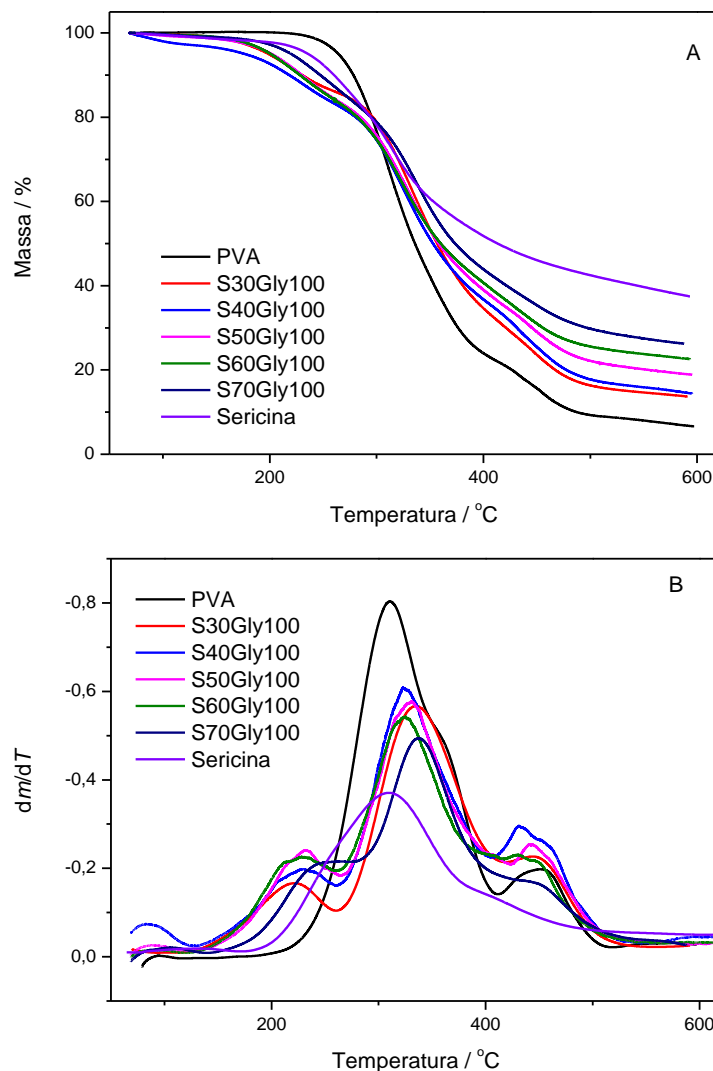


Figura 10. A) Análise termogravimétrica B) Análise termogravimétrica diferencial das blendas de SER/PVA utilizando Gly como plastificante realizada em atmosfera inerte de N_2 , com uma razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em porta amostra aberto de platina.

A SER apresenta ao menos dois processos de perda de massa, o primeiro em aproximadamente 245 °C relacionado a perda de massa ocasionada pela cisão da ligação peptídica a evoluções gasosas relacionadas, o segundo em aproximadamente 425°C, observado de forma sobreposta ao primeiro processo, conforme observado pela curva diferencial, é relacionado a perda de massa por oxidação de cadeias mais estáveis. A massa residual é elevada ao final do processo (37,4 %) estes resultados estão coerentes com os observados por Tsukada (1978), que realizou estudos mais detalhados sobre o comportamento térmico da SER extraída de diversas formas.

O PVA por sua vez tem seu comportamento térmico bem conhecido, apresentando dois processos térmicos de perda de massa, o primeiro e mais intenso relacionado a desidratação das cadeias poliméricas e o segundo relacionado a clivagem das cadeias poliméricas apresentando baixa massa residual visto a grande liberação de voláteis. (TSUCHIYA; SUMI, 1969; YANG *et al.*, 2012).

Em relação aos filmes produzidos, pode-se observar a partir das curvas diferenciais que, existem ao menos três processos que envolvem a perda de massa estes são bem definidos e ocorrem com máximo em torno de 200 °C atribuído possivelmente a evolução de água gerada nos filmes a partir de uma reação entre resíduos da cisão da ligação peptídica, ricos em grupos amina, com as hidroxilas do PVA e/ou do plastificante, dessa forma ocorrendo um efeito sinérgico que diminui a estabilidade térmica das blendas quando comparado aos seus materiais puros. O processo que ocorre em 300 °C é atribuído a degradação da proteína e a desidratação da cadeia polimérica do PVA e com máximo em torno de 450 °C observa-se a clivagem da cadeia polimérica do PVA, este por sua vez pode ser observado como uma diminuição na intensidade em função da composição da blenda sendo menos intenso em blendas com menor teor de PVA.

A massa residual dos filmes SER/PVA com GLY como plastificante varia entre 13 e 26% sendo maior em função do teor de SER o que é bastante coerente uma vez que a SER apresenta alta massa residual.

Quanto à estabilidade térmica das blendas nota-se que não existem diferenças significativas entre as temperaturas de degradação (T_{onset}) variando entre 161,4 °C e 165,6 °C com tendência a ser maior quanto mais alto o teor de sericina na blenda polimérica. Todos estes valores de estabilidade térmica e massa residual podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de Massa Residual e T_{onset} para o início da degradação para todos as blendas produzidos.

Amostra	Massa Residual / %	T_{onset} / °C
PVA	7,06	269,19
Sericina	37,38	245,03
S30GLY100	13,73	161,40
S40GLY100	14,78	163,42
S50GLY100	19,14	162,12
S60GLY100	22,49	163,40
S70GLY100	26,58	165,50
S30GLU50	17,11	171,51
S40GLU50	19,69	169,17
S50GLU50	26,11	172,39
S60GLU50	27,37	173,30
S70GLU50	29,42	173,01
S30GLU100	18,64	181,07
S40GLU100	20,71	183,25
S50GLU100	24,82	181,60
S60GLU100	28,66	186,80
S70GLU100	31,24	183,55

5.2.2 Comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio e glicerol como aditivos

A substituição da GLY pelo GLU foi realizada em duas etapas, inicialmente 50% da GLY foi substituída por igual quantidade de GLU, ou seja, foi utilizado uma mistura de 1:1 em massa de GLY e GLU. O comportamento termogravimétrico e o perfil termogravimétrico diferencial das blendas com a mistura de plastificantes são apresentados na Figura 11.

Da mesma forma que as blendas produzidas somente com GLY a massa residual das blendas obtidos com a mistura de plastificantes apresenta massa residual dependente da quantidade de SER, ou seja, quanto maior o teor de SER nas blendas maior é massa residual do polímero. A massa residual neste caso varia entre 17% a 29%, esses valores quando comparados aos observados nas blendas obtidos somente com GLY são maiores e isso ocorre devido à presença do cálcio nas blendas que em alta temperatura resulta na formação de óxido de cálcio residual, assim o aumento da massa residual não é só coerente como também esperado.

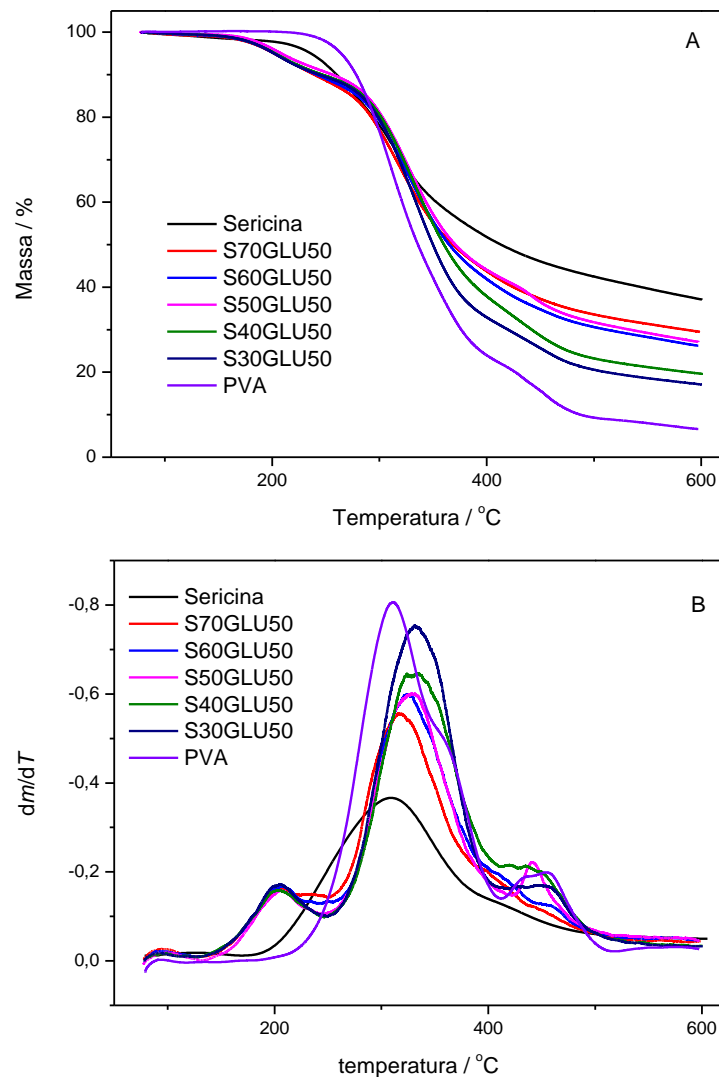


Figura 11. A) Análise termogravimétrica B) Análise termogravimétrica diferencial das blendas de SER/PVA utilizando GLY e GLU como plastificante realizada em atmosfera inerte de N₂, com uma razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em porta amostra aberto de platina.

Em relação aos processos de perda de massa não se observa alteração significativa no perfil termogravimétrico das blendas, isto é, os processos de perda de massa ocorrem de maneira semelhante as blendas contendo somente GLY.

Quanto a estabilidade térmica, as temperaturas de início de decomposição ocorrem entre 169 °C e 173 °C sem correlação significativa entre o teor de SER e a temperatura de início de degradação nas blendas, assim como observado nas blendas obtidas com GLY. Porém ao comparar estas blendas com GLU com as blendas contendo GLY observa-se que a estabilidade térmica das blendas com GLU é maior em média 10 °C.

Acredita-se que essa estabilidade térmica maior está relacionada ao efeito reticulante que os íons Ca^{2+} pode causar entre as cadeias dos polímeros, uma vez que trata-se de um cátion bivalente que pode interagir atraindo duas cadeias poliméricas, este efeito já foi observado por Mangala 2013 que observou o poder da interação do Al^{3+} sobre filmes de Sericina, neste trabalho os autores descrevem uma possível interação dos íons Al^{3+} com os átomos de nitrogênio e oxigênio presentes na estrutura da proteína, de forma análoga blendas produzidos por Sone (2017) onde íons Ag^+ foram adicionados a blendas de SER e diminuíram significativamente tanto a estabilidade térmica, como as propriedades mecânicas das blendas à base de SER.

5.2.3 Comportamento térmico das blendas SER/PVA utilizando Gluconato de Cálcio como aditivo.

Por fim foi realizada a substituição completa do GLY pelo GLU, o comportamento termogravimétrico e o perfil termogravimétrico diferencial das blendas com utilizando GLU como plastificante são apresentados na Figura 12.

As observações relacionadas ao conjunto de análises relacionadas as blendas de SER/PVA utilizando GLU como aditivo são as mesmas já realizadas para as blendas anteriores, a massa residual é dependente do teor de SER e demonstra-se superior ao conjunto passado, pois possui um teor ainda maior de cálcio o que leva a uma massa residual mais elevada como já discutido.

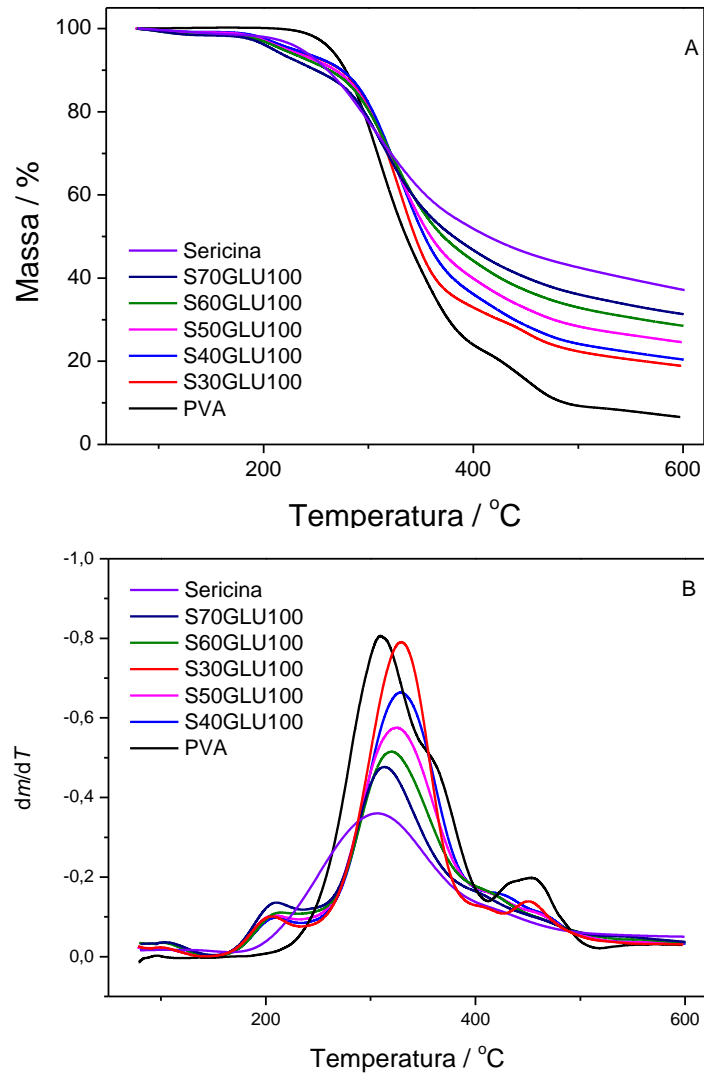


Figura 12. A) Análise termogravimétrica B) Análise termogravimétrica diferencial das blendas de SER/PVA utilizando GLU como plastificante realizada em atmosfera inerte de N_2 , com uma razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em porta amostra aberto de platina.

Quanto à estabilidade térmica também se observou uma elevação da temperatura, onde a temperatura de início de degradação aumentou em aproximadamente $10\text{ }^\circ\text{C}$ assim essa elevação ocorre de maneira linear o que corrobora com a teoria proposta que o cálcio apresenta o efeito reticulante aumentando a estabilidade térmica do material. Pode-se observar também a evolução da estabilidade térmica das blendas a partir das curvas termogravimétricas nas blendas com a mesma composição polimérica e diferentes plastificantes demonstrado na Figura 13.

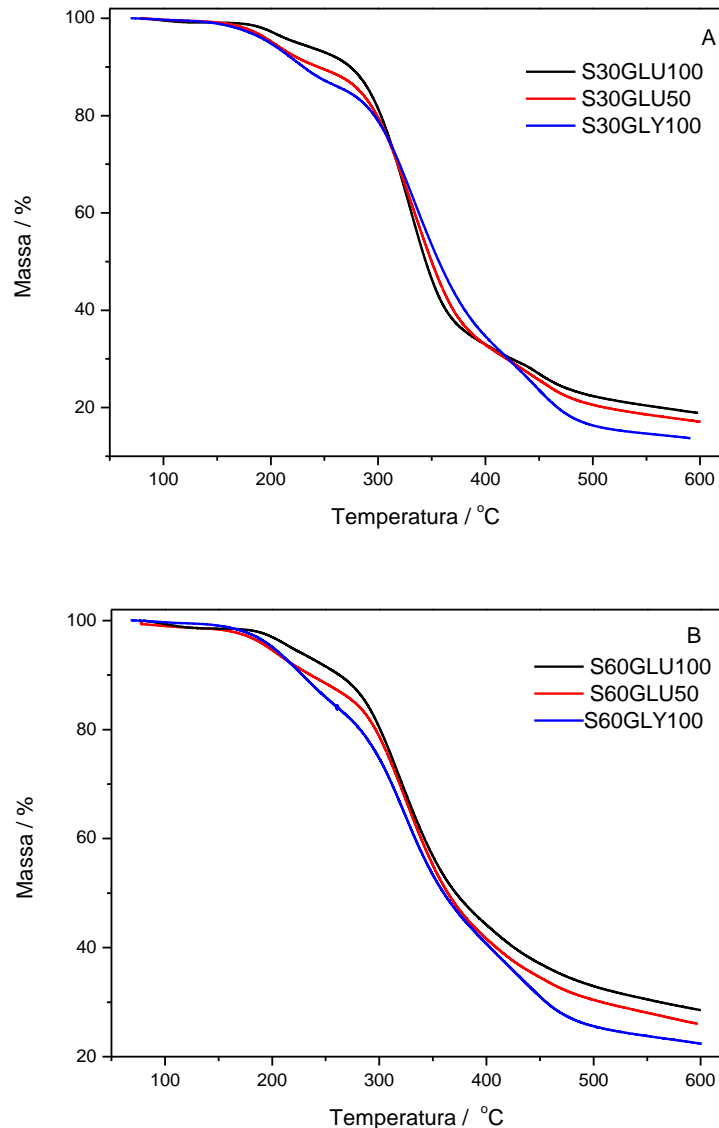


Figura 13. A) Análise termogravimétrica das blendas com teor de SER em 30% B) Análise termogravimétrica das blendas com teor de SER em 60% utilizando GLY, GLU e mistura de plastificantes realizada em atmosfera inerte de N₂, com uma razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em porta amostra aberto de platina.

Os perfis termogravimétricos em ambas as situações apresentam uma elevação na estabilidade térmica das blendas, essa elevação ocorre sem efeito visível em relação ao teor de SER nas blendas, dessa forma pode ser atribuída principalmente ao efeito reticulante do cálcio, assim acredita-se que o GLU atua principalmente como um agente reticulador diferente do que era esperado visto a similaridade da estrutura do GLU com o GLY.

5.3 ANALISE ESPECTROSCÓPICA POR INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER DAS BLENDA SER/PVA

5.3.1 Análise Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier das blendas SER/PVA utilizando glicerina como plastificante.

Os espectros de FTIR-ATR da SER extraída dos casulos, do PVA e das blendas preparadas com SER e PVA utilizando GLY como plastificante são apresentados na Figura 14. Observa-se um comportamento bastante comum em relação ao espectro da SER, este exibe bandas características de proteínas como as de amida I, II, e III, em aproximadamente 1630, 1520, e 1230 cm^{-1} , respectivamente. Amida I está relacionada a deformação axial da ligação C=O do grupo amida. Amida II apresenta deformações angulares da ligação N-H e vibração de ligação C-N; amida III é atribuída principalmente a vibração da ligação C-N acoplada com a deformação angular no plano do grupo N-H. A absorção do estiramento N-H de grupos amida aparece aproximadamente em 3300 cm^{-1} essa banda encontra-se em sobreposição a forte absorção do grupo O-H de resíduos de amino ácido como a serina. Bandas em aproximadamente 1400 e 1060 cm^{-1} são atribuídas a vibração angular da ligação C-H e a deformação angular O-H respectivamente. Estes resultados estão em acordo com os observados por Teramoto e Miyazawa (2005), que observaram o comportamento espectroscópico da SER extraída por em diversas composições de solventes etanol:água.

No trabalho de Teramoto os pesquisadores também apresentaram um método utilizado para determinação de estruturas secundárias a partir da deconvolução da banda da amida I com o auxílio da segunda derivada. Essa metodologia de análise foi aplicada a SER extraída e aos filmes da blenda SER/PVA obtidos nesse trabalho, os resultados referentes a SER extraída podem ser observados na Figura 15.

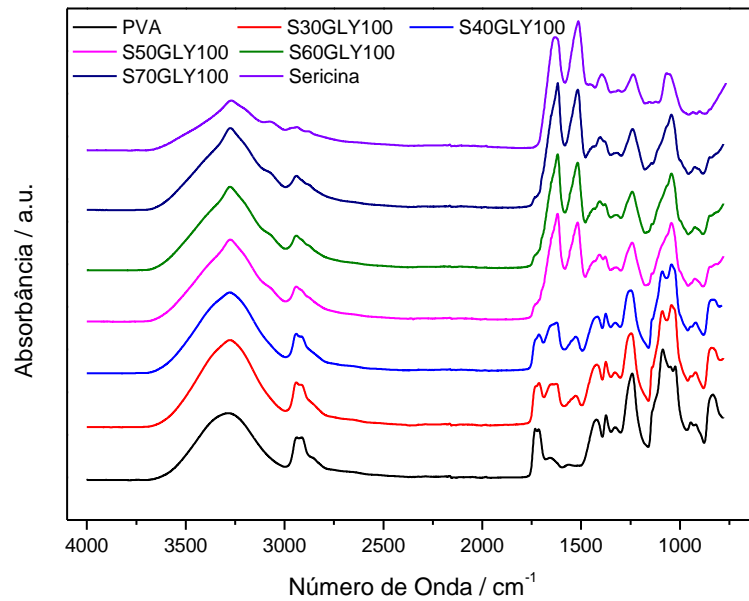


Figura 14. Espectros de FTIR-ATR da SER, PVA e blendas produzidos utilizando GLY como plastificante. Espectros obtidos na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} , com 64 varreduras e resolução de 2cm^{-1} .

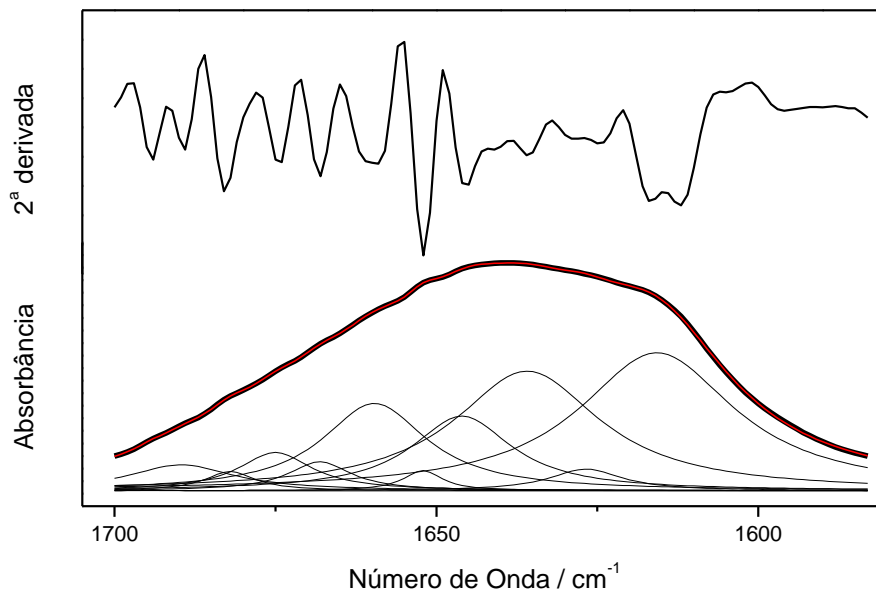


Figura 15. Análise da estrutura secundária da Sericina extraída a partir da banda amida I com o auxílio da segunda derivada, onze curvas lorentzianas foram geradas demonstrando excelente compatibilidade com a curva real.

Proteínas naturais apresentam mais de uma estrutura secundária, contudo as bandas provenientes dessas absorções estão normalmente sobrepostas na banda amida I. Dessa forma a segunda derivada da banda amida I pode auxiliar na separação dessas contribuições sobrepostas. Onze componentes foram detectados, considerando os pontos mínimos da curva da segunda derivada, as deconvoluções foram obtidas a partir de curvas Lorentzianas. A

resultante das curvas traçadas gera em uma curva teórica (linha vermelha Figura 15) com excelente compatibilidade com a curva experimental ($R^2 = 0,99997$).

Cada uma das curvas traçadas foram atribuídas a estruturas secundárias baseando-se em estudos apresentados na literatura (BYLER; SUSI, 1986; SUREWICZ; MANTSCH, 1988) e estão apresentadas na Tabela 6. A proporção das estruturas secundária foram estimadas a partir das áreas de cada pico de deconvolução e demonstram que os agregados proteicos estão em maior abundância na proteína, estes resultados são semelhantes aos apresentados por Teramoto e Miyazawa (2005).

Tabela 6 - Composição e atribuição dos componentes individuais da banda amida I.

Nº de Onda / cm^{-1}	Composição / %	Atribuição
1614, 1626	34,92	Agregados Proteicos
1636	26,25	Folha- β
1645,1651	12,46	Cadeias Aleatórias
1659	13,76	α -Hélice
1668,1677,1683	8,47	Volta
1689,1694	4,14	Folha- β antiparalela

Quanto ao espectro de infravermelho do PVA também apresentado na Figura 14 as principais bandas características são: 3290 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação O-H, 2925 cm^{-1} referente ao estiramento C-H, 1723 cm^{-1} representa o estiramento da carbonila, em 1425 cm^{-1} observamos a deformação angular da liga O-H por fim em 838 cm^{-1} observa-se o estiramento da ligação C-C do polímero, a atribuição destas bandas estão coerentes com a literatura.(ASRAN; HENNING; MICHLER, 2010; JIPA *et al.*, 2012)

Em relação as blendas poliméricas produzidas a partir de SER e PVA com GLY como plastificante observa-se que os espectros de infravermelho apresentam alterações em função da variação da composição da blenda, as principais bandas alteradas são as bandas amida I e amida II estas apresentam comportamento semelhante a SER pura nas composições S50GLY100, S60GLY100 e S70GLY100, ou seja, nas composições onde a SER é componente majoritário da blenda. Nas composições S40GLY100 e S30GLY100 observa-se que as bandas provenientes do PVA se apresentam mais intensas, fato esperado uma vez que neste ponto o componente majoritário da blenda polimérico é o PVA.

As estruturas secundárias de todas as blendas produzidos com GLY foram determinadas e demonstraram um perfil que depende da composição da blenda, ou seja, são afetadas pelo teor de PVA adicionado na blenda. Estes dados são apresentados na Figura 16.

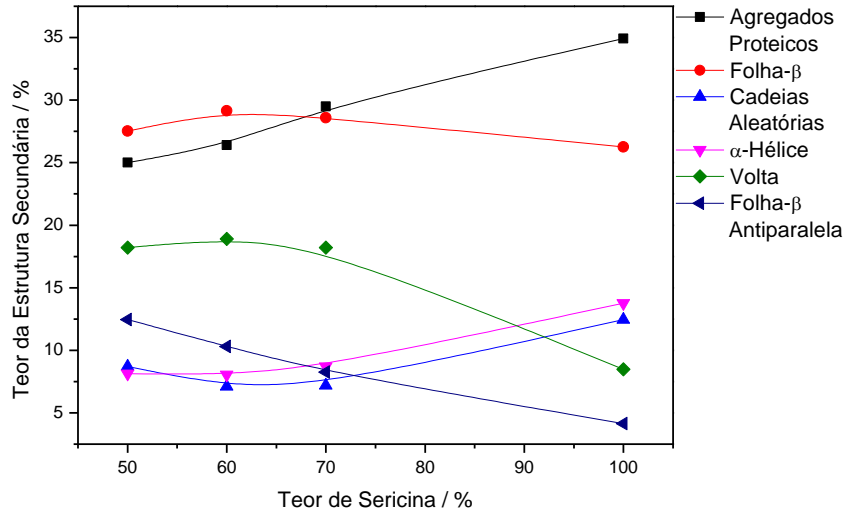


Figura 16. Monitoramento do teor de estruturas secundárias das blendas SER/PVA utilizando GLY como plastificante.

É de conhecimento que o meio onde a proteína se encontra, a hidrofiliicidade do meio altera a estrutura secundária de proteínas como a SER e a fibroína. Assim tratamentos térmicos na presença de diferentes solventes orgânicos podem induzir a conversão de estruturas como as cadeias aleatórias e agregados proteicos em folha-β (CHEN *et al.*, 2001; MONTI *et al.*, 2001)

Estes estudos deixam claro que o aumento da hidrofiliicidade do meio leva ao intumescimento da proteína o que diminui o teor de estruturas sem padrão definido como cadeias aleatórias e agregados proteicos (TAKASU; YAMADA; TSUBOUCHI, 2002).

Ao correlacionar estes estudos com as blendas produzidas podemos propor que o PVA é um meio mais hidrofílico que a SER visto sua solubilidade superior então, quanto maior o teor de PVA na blenda maior será o intumescimento da proteína e ocorrerá então uma diminuição das estruturas secundárias como agregados proteicos e cadeias aleatórias.

Os resultados obtidos em relação a composição de estrutura secundária para as blendas de SER/PVA utilizando o GLY como plastificante encontram-se em concordância com os demonstrados na literatura, pois observa-se o decaimento das estruturas secundárias, cadeias aleatórias e agregados proteicos e o aumento do teor de estruturas folha-β em função do aumento da fração mais hidrofílica o PVA. Também é observado uma significativa evolução

das estruturas secundárias volta, este efeito é atribuído ao fato de que as hidroxilas presentes no PVA não possuem mobilidade como no caso do metanol e etanol normalmente utilizado nos estudos citados que demonstraram a conversão das estruturas em folha- β . Devido essa falta de mobilidade acredita-se que as estruturas de volta na proteína são formadas, pois assim podem interagir de forma mais efetiva com o PVA.

De forma geral as estruturas secundárias folha- β , folha- β antiparalela e volta apresentam um aumento em seus teores com a diminuição do teor de SER, ou seja, essas estruturas são formadas preferencialmente em meios hidrofílicos, já os agregados proteicos, as cadeias aleatórias e α -hélice são estruturas mais comuns em sistemas hidrofóbicos que no material em questão trata-se da SER.

5.3.2 Análise Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier das blendas SER/PVA utilizando glicerina e gluconato de cálcio como aditivos

A introdução do GLU nas blendas poliméricas a base de SER e PVA foi realizada primeiramente na proporção de 1:1, ou seja 50% de GLU e 50% de GLY nestas blendas poliméricas observou-se um comportamento semelhante aos produzidos com GLY como observado nos espectros de infravermelho apresentados na Figura 17.

A introdução de 50% de GLU como plastificante nas blendas SER/PVA não pode ser notada claramente nos espectros de infravermelho pois trata-se de uma quantidade pequena do plastificante. Os espectros com maior teor de SER ainda assumem um perfil semelhante a SER e os espectros com maior teor de PVA continuam com um perfil mais voltado ao PVA, a grande alteração causada pela adição do GLU nas blendas ocorre no momento onde existe a inversão destes perfis.

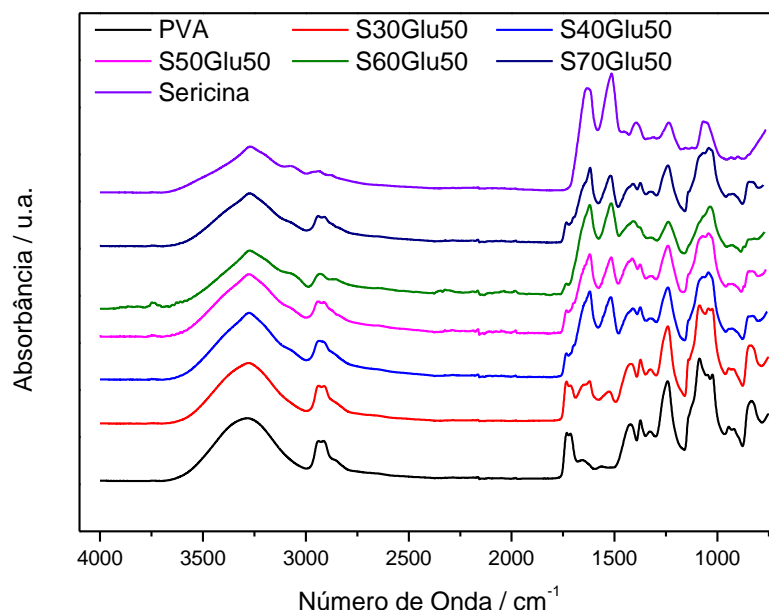


Figura 17. Espectros de FTIR-ATR da SER, PVA e blendas produzidos utilizando GLU como plastificante. Espectros obtidos na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} , com 64 varreduras e resolução de 2cm^{-1} .

No grupo de análise anterior observou-se essa inversão nos perfis entre 50% e 40% de SER no material, já neste momento observa-se que essa transição ocorre entre 40% e 30% do teor de SER no material, acredita-se que essa alteração no comportamento ocorre a partir do momento em que a SER se torna miscível ao PVA assim não existe mais regiões com grande domínio proteico no material, dessa forma as estruturas secundárias são afetadas e o espectro assume o perfil do PVA.

Da mesma forma que no grupo de análises anteriores as estruturas secundárias foram monitoradas e são apresentadas na Figura 18.

As blendas com a mistura de plastificantes também apresenta um decaimento em suas estruturas não definidas como as cadeias aleatórias e os agregados proteicos assim como a α -hélice, as estruturas folha- β , folha- β antiparalela e volta possuem um aumento de em seu teor, dessa forma acredita-se que as estruturas secundárias não são diretamente afetadas pelos plastificantes e sim principalmente pela composição do meio, ou seja, a hidrofobicidade do material polimérico.

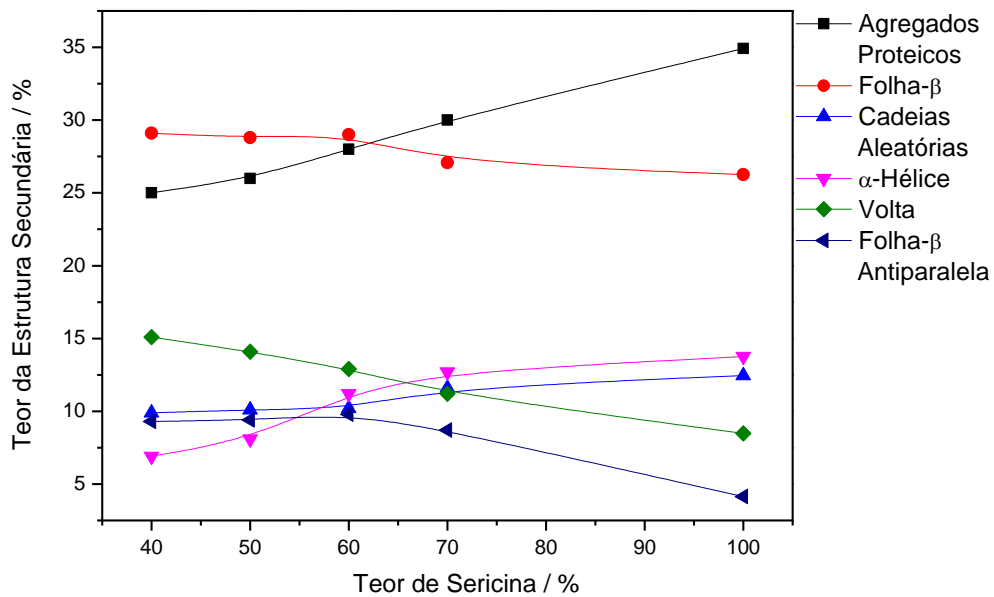


Figura 18. Monitoramento do teor de estruturas secundárias das blendas SER/PVA utilizando GLY e GLU como plastificante

5.3.3 Análise Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio como plastificante.

Os espectros de infravermelho das blendas poliméricas utilizando GLU como aditivo são apresentados na Figura 19. Comparando este grupo de análises com os anteriores não se observa diferenças quanto ao surgimento de novas bandas, ou seja, o espectro assume preferencialmente o perfil do PVA ou o perfil da SER. Porém o momento onde ocorre a transição entre os comportamentos é um fato interessante a ser discutido.

Inicialmente para as blendas com glicerina a transição ocorre entre 50% - 40% de SER na blenda, para as blendas com a mistura de plastificantes a transição é observada entre 40% - 30% e para as blendas utilizando GLU a transição ocorre entre 60%-50%. Acredita-se que essa transição seja o momento onde ocorre a separação de fase entre os componentes da blenda, ou seja, em teores de SER maiores que os citados ocorrem a separação de fase e existe então regiões mais ricas em SER pura na blenda resultando em um espectro com perfil mais voltado a proteína.

Resultados semelhantes foram obtidos por Purwar e colaboradores (2015) estudaram blendas de PVA e SER com GLY e glutaraldeído como plastificantes, este efeito de separação

de fase pode ser melhor observado pelas análises morfológicas obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

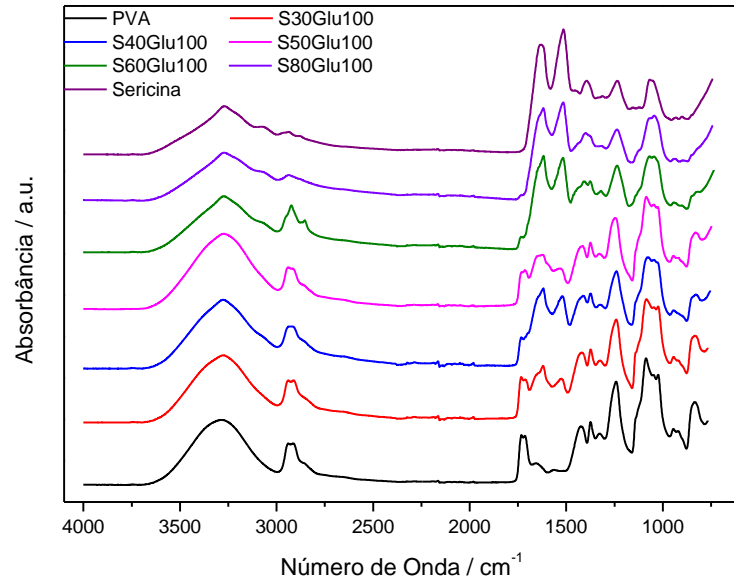


Figura 19. Espectros de FTIR-ATR da SER, PVA e blendas produzidos utilizando GLU como aditivo. Espectros obtidos na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} , com 64 varreduras e resolução de 2cm^{-1} .

Quanto as estruturas secundárias o monitoramento foi realizado e apresentado na Figura 20.

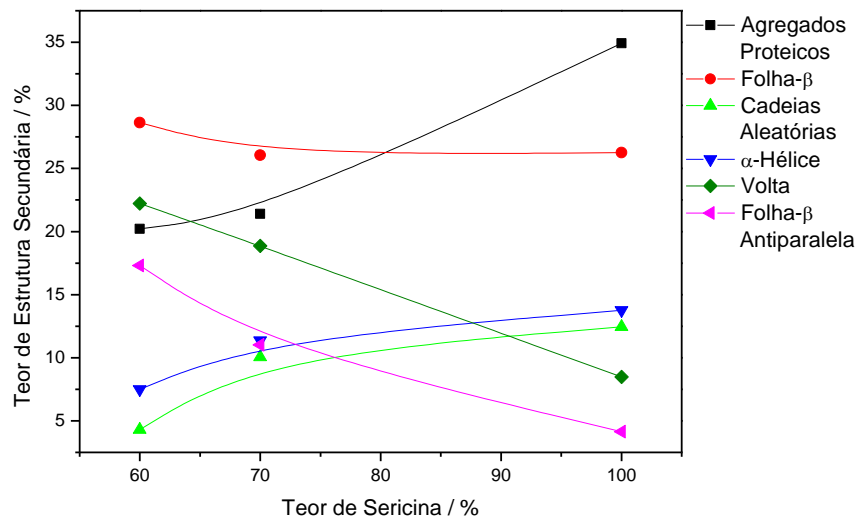


Figura 20. Monitoramento do teor de estruturas secundárias das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio como aditivo.

A evolução nos teores das estruturas secundárias assume o mesmo comportamento para os três casos estudados, não se observou correlação entre o teor de cálcio e o comportamento das estruturas secundárias, aparentemente o cálcio atua na reticulação afeta a miscibilidade entre os materiais poliméricos, mas não se sabe qual o real efeito que o cálcio gera na estrutura secundária, por outro lado, fica claro o efeito da hidrofiliabilidade do sistema e este é já descrito pela literatura.

O efeito reticulante que o cálcio pode causar nas blendas de SER/PVA pode ser observado desenvolvendo a relação entre integral da banda amida I que tem máximo em 1625 cm^{-1} e é atribuída a deformação da ligação no grupo carbonila, com a integral das bandas relacionadas a amida II (1520 cm^{-1}) que diz respeito a contribuições a desdobramento das ligações N-H, amida III (1285 cm^{-1}) que resulta da interação de ligações C-N acopladas com o grupo N-H e vibração angular da ligação O-H (1050 cm^{-1}) essa relação demonstra o comportamento de uma ligação não afetada na teoria pela presença do cálcio que é carbonila com grupos onde possivelmente a reticulação pode ocorrer sendo eles o O-H e o N-H. Este tipo de análise já foi proposta (JOSHI; GULRAJANI; BAR, 2015) quando demonstrou o efeito reticulante que íons Al^{3+} causam em blendas de sericina.

As relações entre as integrais das bandas dos espectros de FTIR estão todas apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Relação entre as integrais das bandas amida I com as bandas amida II, amida III e angular de OH, demonstrando o efeito reticulante do cálcio nas blendas SER/PVA.

Relação	S60Gly100	S60Glu50	S60Glu100
Amida I/Amida II	1,38	1,44	1,68
Amida I/Amida III	1,43	1,51	1,84
Amida I/ Angular OH	0,58	0,69	0,72

*Bandas monitoradas: Amida I $\approx 1625\text{ cm}^{-1}$, Amida II $\approx 1520\text{ cm}^{-1}$, amida III $\approx 1285\text{ cm}^{-1}$, deformação angular de OH $\approx 1050\text{ cm}^{-1}$.

Observa-se um valor crescente em todas as bandas monitoradas em função do aumento do teor de cálcio nas amostras, esse comportamento indica que as bandas referentes aos grupos N-H e O-H estão perdendo sua intensidade, pois começam a interagir com os íons Ca^{2+} , dessa forma a relação demonstra que quanto maior o valor observado mais intenso é o efeito reticulante do cálcio.

5.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS BLENDA SER/PVA UTILIZANDO GLICERINA E GLUCUNATO DE CÁLCIO COMO ADITIVOS

Foram obtidas imagens por microscopia eletrônica de varredura para as amostras S40GLY100 e S40GLU100 essas imagens em diferentes ampliações são apresentadas na Figura 21.

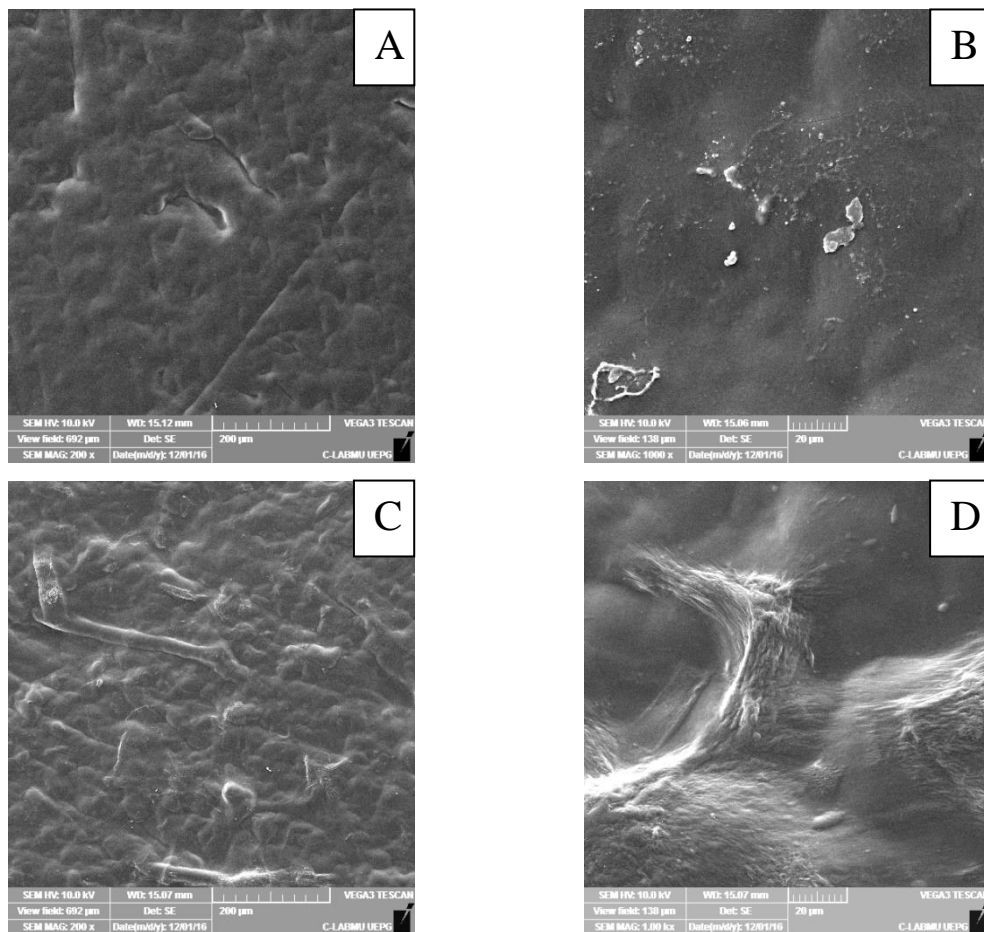


Figura 21. Imagens de microscopia eletrônica de varredura sendo A e B referentes a blenda S40GLY100 com ampliações de 200x e 1000x respectivamente e C e D referentes a blenda S40GLU100 também nas mesmas ampliações.

As blendas S40GLY100 apresentam-se com uma boa homogeneidade nas imagens com baixa amplificação somente com ampliações maiores se pode observar uma pequena separação de fases identificada por pontos mais salientes na superfície da blenda.

Em relação as blendas com GLU observou-se a formação de uma blenda com menor homogeneidade, apresentando maior rugosidade na superfície, ampliando a imagem pode-se observar estes pontos de rugosidade como regiões com maior aglomeração de material, também pode ser observado pequenas regiões onde ocorre a formação de separação de fases, porém menos evidente comparada ao caso da blenda com GLY.

Purwar e colaboradores (2015) desenvolveram blendas com SER e PVA utilizando GLY e gluteraldeído como plastificantes, observaram que em misturas entre SER 40% e PVA 60% existe uma grande separação de fase e a adição de plastificantes diminui significativamente este efeito, neste trabalho também ressalta que o gluteraldeído um reticulante diminui ainda mais esta separação de fase.

Estes resultados estão em bom acordo com os obtidos no presente trabalho, ambos as blendas demonstraram pequenas regiões de separação de fase sendo mais intenso nas blendas com GLY, assim como no trabalho de Purwar acredita-se que isso ocorra devido a uma melhor interação entre os materiais poliméricos ocasionada pelo GLU, quanto a rugosidade essa característica pode ser explicada pelo possível efeito reticulante do cálcio no meio, efeito também observado por Joshi (2015) estudando o efeito reticulante de átomos de Al^{3+} em blendas de Sericina.

5.5 ENSAIOS DE TRAÇÃO

5.5.1 Ensaio de tração das blendas SER/PVA utilizando glicerina como plastificante

Os ensaios de tração para as blendas com GLY como plastificantes são apresentados na Figura 22. Os ensaios de tração podem fornecer informações valiosas como a tensão máxima suportada pela blenda, o módulo elástico e a deformação de ruptura da blenda.

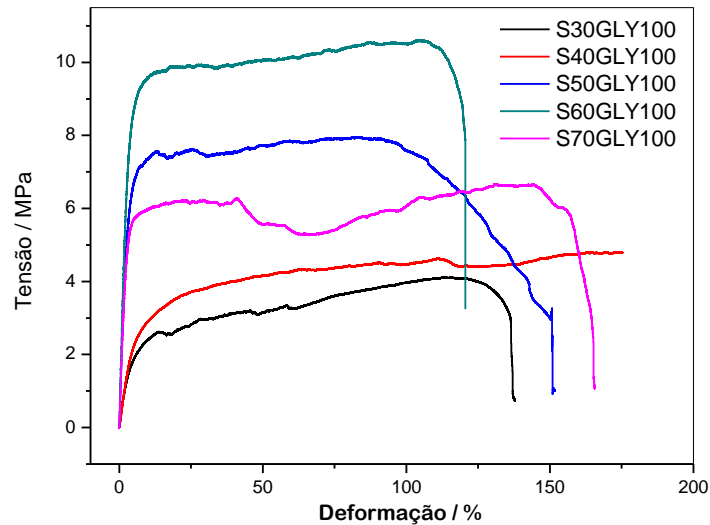


Figura 22. Ensaios de tração das blendas SER/PVA com GLY como plastificante.

As informações extraídas dos ensaios de tração podem ser correlacionadas com informações a nível estrutural das blendas. Os valores precisos são todos demonstrados na Tabela 8.

As blendas com diferentes composições quanto à relação SER/PVA foram analisadas todos com a adição de 10% em massa de GLY, em todos os casos observou-se um comportamento clássico de uma deformação plástica até o momento a ruptura total das blendas. Observou-se que existe uma elevação da tensão máxima com o aumento do teor de SER na blenda até 60%, após isso existe então um decaimento na tensão máxima suportada, esse comportamento se repete no módulo elástico acredita-se que esse comportamento deve-se ao fato de que acima de 60% em massa blendas poliméricas de SER/PVA exibem separação de fases como descrito por Purwar (2015). Quanto à deformação de ruptura observa-se que em todos os casos existe uma elevada deformação característica de processos plásticos, porém sem correlação direta com o teor de SER nas blendas, a grande deformação deve-se ao efeito da GLY como plastificante o que aumenta o caráter amorfo da blenda que por sua vez aumenta a flexibilidade das blendas e plasticidade (SOTHORNVIT; CHOLLAKUP, 2009).

Outro efeito que a GLY promove na blenda é separação entre as estruturas secundárias da SER, sabe-se que meios hidrofílicos como a GLY diminuem o teor de estruturas randômicas e entrelaçadas resultando em estruturas mais definidas o que facilita o cisalhamento entre as cadeias poliméricas gerando a propriedade plástica (ZHANG *et al.*, 2011).

5.5.2 Ensaio de Tração das blendas SER/PVA utilizando glicerina e gluconato de cálcio como aditivos

Os ensaios de tração para as blendas com GLY e GLU como aditivos são apresentados na Figura 23.

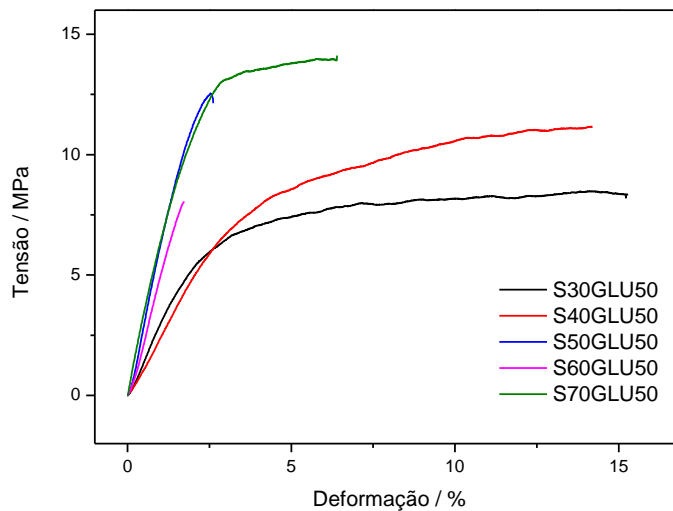


Figura 23. Ensaio de tração das blendas SER/PVA com GLY e GLU como aditivos.

Com a adição de GLU às blendas SER/PVA observou-se claramente uma alteração no comportamento das blendas nos ensaios de tração. Observou-se uma diminuição do comportamento elástico onde a tensão de ruptura decaiu drasticamente não ultrapassando os 15% de deformação. Acredita-se que o Ca^{2+} presente no GLU possui um efeito reticulante o que diminui a mobilidade entre as cadeias poliméricas inibindo a plasticidade, por outro lado os resultados de tensão máxima e módulo elástico mostraram-se superiores sugerindo um material mais resistente, o efeito do Ca^{2+} , um sal divalente, pode ser comparado ao efeito que íons Al^{3+} causam em blendas contendo SER onde o aumento da concentração do íon trivalente aumenta significativamente a tensão máxima e o módulo de elasticidade, porém diminuem a deformação de ruptura. (JOSHI; GULRAJANI; BAR, 2015).

Quanto ao efeito da variação do teor de SER nas blendas as mesmas observações são realizadas, dessa forma uma elevação das propriedades até 60% do teor de SER é observado e acima disso existe um decaimento das mesmas.

5.5.3 Ensaio de Tração das blendas SER/PVA utilizando gluconato de cálcio como aditivo

Os ensaios de tração para as blendas com GLU como aditivo são apresentados na Figura 24.

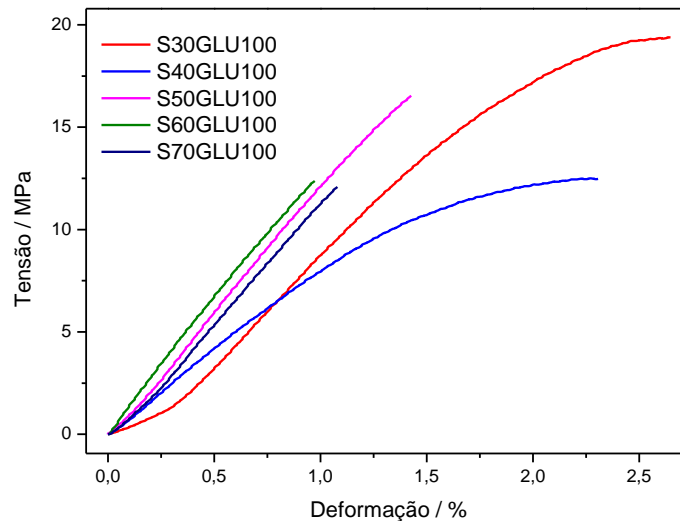


Figura 24. Ensaio de tração das blendas SER/PVA com GLU como aditivo.

Nas blendas utilizando o GLU como aditivo observa-se o perfil de um material rígido sem plasticidade, considerando os experimentos anteriores podemos observar que a adição do GLU elimina a propriedade plástica do material, porém torna o material extremamente mais rígido, acredita-se que esse efeito esteja principalmente relacionado aos íons Ca^{2+} presentes na blenda e seu possível efeito reticulante, porém não se descarta o efeito do GLU apresentar uma maior densidade de hidroxilas e também um grupo carboxila comumente presente em agentes reticulantes, como o glutaraldeído que quando adicionado a blendas de SER/PVA causa os mesmos efeitos aqui observados, o aumento da tensão máxima e módulo de elasticidade assim como a diminuição drástica da elasticidade da blenda. (PURWAR *et al.*, 2015). Todos os resultados podem ser observados de maneira precisa a partir da Tabela 8.

Tabela 8 - Propriedades de tração das blendas SER/PVA com GLY como plastificante.

Composição	Tensão Máxima / MPa	Módulo Elástico / MPa	Deformação de Ruptura / %
PVA	8,84	1,45	37,32
S30GLY100	4,14	0,48	134,78
S40GLY100	4,7	0,55	174,86
S50GLY100	7,92	2,40	149,19
S60GLY100	10,63	3,13	130,41
S70GLY100	6,26	2,50	165,35
S30GLU50	8,55	2,86	15,01
S40GLU50	11,19	2,65	14,21
S50GLU50	12,56	6,61	2,62
S60GLU50	10,15	4,92	1,95
S70GLU50	14,06	6,63	6,48
S30GLU100	19,42	4,37	2,77
S40GLU100	12,49	8,44	2,31
S50GLU100	16,66	10,51	1,44
S60GLU100	12,43	14,31	0,97
S70GLU100	12,22	9,55	1,09

5.6 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO DE CÁLCIO

Ensaio em relação à liberação de cálcio em solução foram realizados para monitorar o comportamento do filme como um material aplicado a liberação controlada de fármacos. A concentração de Ca^{2+} em solução normalizada pela massa de filme utilizada no experimento foi monitorada em função do tempo e é apresentada na Figura 25.

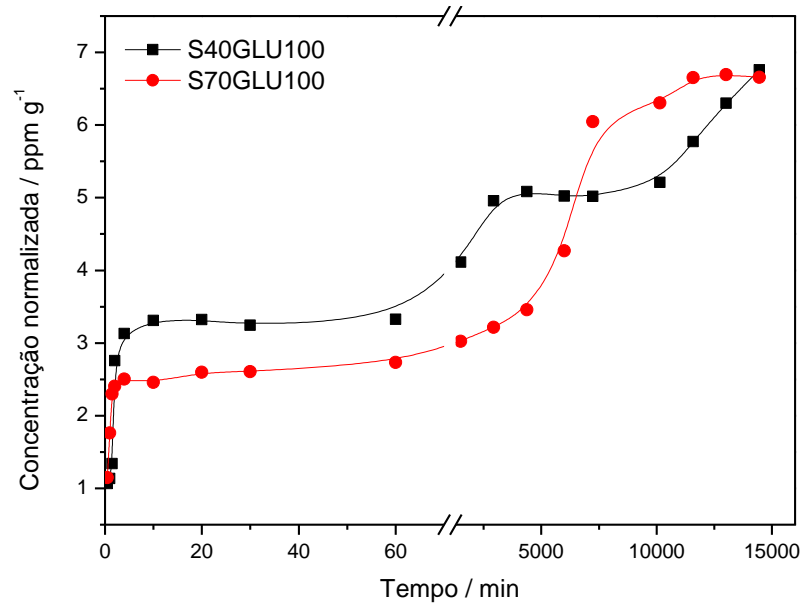


Figura 25. Monitoramento da liberação de Ca^{2+} de filmes SER/PVA na solução em função do tempo.

O GLU atuou nos filmes SER/PVA como um reticulante, porém possui notável atividade terapêutica como repositor mineral (CHEN; YANG, 2017), no tratamento de intoxicações (LUSCHER *et al.*, 1994) e no tratamento de queimaduras específicas (ROBLIN *et al.*, 2006). Assim o GLU possui uma função múltipla na blenda polimérica proposta além de atuar como reticulante também pode atuar como fármaco, dessa forma estudos de liberação da droga são fundamentais.

Os estudos de liberação do fármaco em solução foram realizados monitorando-se a liberação de Ca^{2+} em solução visto que o poder terapêutico desse fármaco está justamente na disponibilidade do íon em solução.

A liberação do íon Ca^{2+} ocorreu em dois momentos distintos, primeiramente de maneira rápida onde em menos de 20 segundos foi atingido o primeiro patamar em relação à concentração dos íons Ca^{2+} esse primeiro momento é atribuído à dissolução do PVA em água e liberação do GLU que estaria entre suas cadeias. Nesse primeiro momento a liberação de Ca^{2+} nos filmes S40GLU100 e S70GLU100 foi de $3,4 \text{ ppm g}^{-1}$ e $2,6 \text{ ppm g}^{-1}$ respectivamente o que corresponde a 42,5% e 32,5% do total de cálcio disponível na amostra que foi determinado em $8,0 \text{ ppm g}^{-1}$.

No segundo momento observa-se uma liberação mais lenta onde cada ponto foi determinado em um período de 24 horas, nesse momento a liberação do GLU esta relacionada ao intumescimento da SER e consequente difusão dos íons Ca^{2+} para solução após um período

de 10 dias observou-se a que o teor de cálcio liberado foi semelhante para as duas amostras e corresponde a $6,7 \text{ ppm g}^{-1}$ o que corresponde a 83,75% do teor de cálcio presente na amostra.

Esses resultados demonstram a viabilidade do filme como um material de liberação controlada de fármacos que pode ser modulado, ou seja, a concentração inicial de fármaco liberado pode ser ajustada pela relação SER/PVA do material e posteriormente ocorreria uma liberação mais lenta do fármaco afim de manter a concentração do mesmo em atividade.

5.7 PROPOSIÇÃO DE ESTRUTURAS PARA O FILME SER/PVA UTILIZANDO O GLUCONATO DE CÁLCIO

Baseando-se nos experimentos realizados durante a caracterização do filme gerado pela blenda polimérica SER/PVA sugere-se um modelo de estrutura demonstrando as interações entre as cadeias poliméricas dos materiais utilizados com o GLU. Este modelo é apresentado na Figura 26.

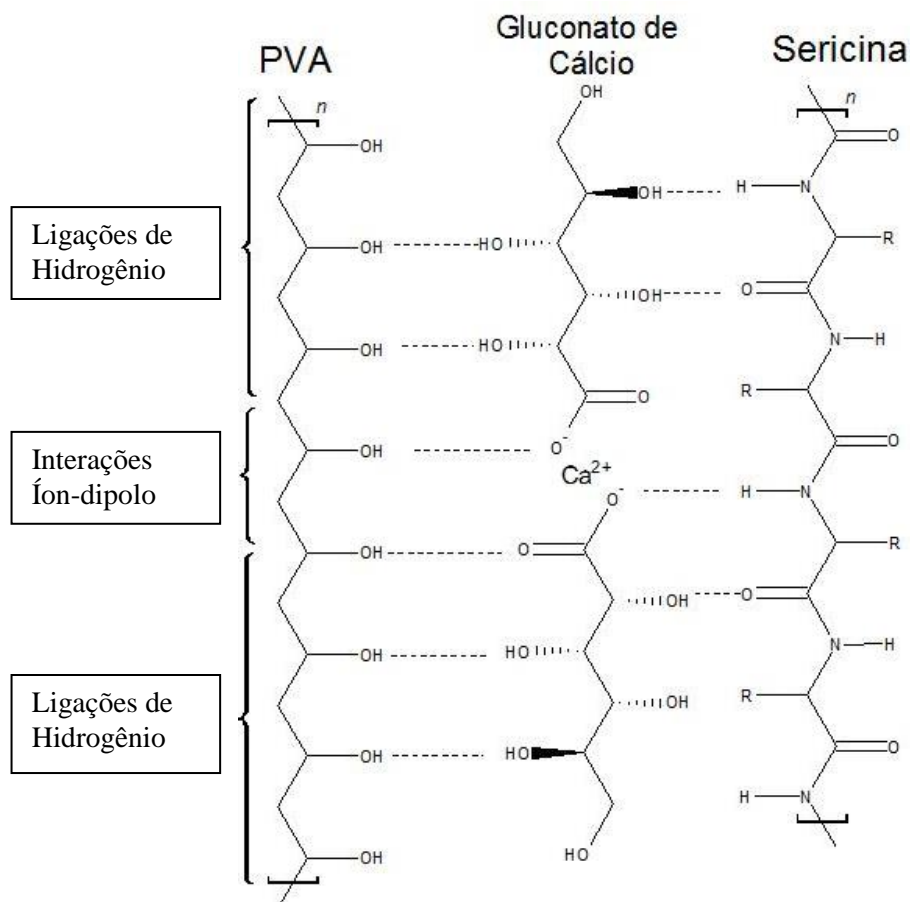


Figura 26. Modelo representando a estrutura proposta dos filmes obtidos pela blenda polimérica SER/PVA com gluconato de cálcio como plastificante.

Este modelo tem utilidade para discussão dos resultados obtidos durante a caracterização, inicialmente durante a análise térmica do material observou-se uma maior estabilidade térmica nos filmes com GLU como aditivo isso é esperado uma vez que o GLU possui interações mais intensas como já discutido, essa situação se correlaciona com o teor de umidade que é maior quando a GLY é utilizada, nesse caso existem mais grupos disponíveis para a interação dos materiais SER e PVA com a água.

Nos estudos de FTIR-ATR observou-se que o GLU causa a alteração do perfil espectroscópico do filme entre 50% e 60% do teor de SER diferentemente do que ocorre com a GLY (40% - 50%) esse fato pode ser atribuído a melhor interação entre cadeias provocado pela adição do GLU tornando a interação mais favorável assim diminuindo a separação de fase do sistema.

Nos estudos de morfologia observou-se uma separação de fase em ambos os filmes com GLY e GLU, porém a separação de fase é mais evidente no caso dos filmes com GLY, a rugosidade mais elevada no caso dos filmes com GLU acredita-se ser ocasionada pela interação mais intensa que deforma as cadeias poliméricas podendo gerar consequências morfológicas.

Resultados de Tração também são demonstrados em acordo com o modelo proposto pois a adição de GLU elimina a plasticidade do filme SER/PVA porém aumento significativamente a resistência do material, consequência clara de interações mais intensas no interior do material.

6 CONCLUSÃO

Visando atender a demanda na inovação na área de materiais e processos químicos com propriedades aperfeiçoadas, filmes de blendas poliméricas SER/PVA passou a ser uma alternativa interessante para utilização de um biomaterial, aliando suas propriedades com a adição de plastificantes e/ou reticulantes, o presente estudo avaliou o efeito de dois aditivos.

O GLY obteve um comportamento clássico como plastificante no meio, aumentando o caráter amorfo da blenda que por sua vez aumenta a flexibilidade e plasticidade foi possível relacionar também o teor de umidade que foi maior quando a GLY foi utilizada por existirem mais grupos disponíveis de GLY para interação dos materiais SER e PVA com a água, essas características correlacionam o aumento da separação de fase nas blendas com maior teor de SER.

Já o GLU apresentou intensas interações com a matriz polimérica, aumentando a estabilidade térmica da blenda e diminuindo a separação de fase do sistema nos filmes com maior teor de SER. Observou-se também que a adição do GLU aumentou significativamente a resistência do material devido ao seu possível efeito reticulante relacionado aos íons Ca^{2+} presentes na blenda e apresentou um perfil de liberação positivo que pode ser modulado em composições de SER/PVA, esses resultados demonstram a viabilidade do filme como um material de liberação. Assim o GLU possui uma função múltipla na blenda polimérica proposta além de atuar como reticulante também pode atuar como fármaco por sua notável atividade terapêutica como repositores mineral, no tratamento de intoxicações e no tratamento de queimaduras específicas.

7 REFERÊNCIAS

ALTMAN G. H.; DIAZ F.; JAKUBA C.; CALABRO T.; HORAN R. L.; CHEN J.; LU H.; RICHMOND J.; KAPLAN D. L. Silk-based biomaterials. **Biomaterials**, v. 24, p. 401 - 416, 2003.

ANGHILERI A.; LANTTO R.; KRUIUS K.; AROSIO C.; FREDDI G. Tyrosinasecatalyzed grafting of sericin peptides onto chitosan and production of protein-polysaccharide bioconjugates. **Journal of Biotechnology**, v. 127, p. 508 - 519, 2007.

ARAMWIT, Pornanong, SANGCAKUL, A. The effects of sericin cream on wound healing in rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. v.71, n. 10, p. 2473-2477, 2007.

ASRAN, A. S.; HENNING, S.; MICHLER, G. H. Polyvinyl alcohol-collagen-hydroxyapatite biocomposite nanofibrous scaffold: Mimicking the key features of natural bone at the nanoscale level. **Polymer**, v. 51, n. 4, p. 868–876, 2010.

BRANCALHÃO, Rose M. C. **Bicho-da-Seda**. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/complexo_da_seda/b_mori.pdf. Acesso em: 29 set. 2016.

BYLER, D. M.; SUSI, H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra. **Biopolymers**, v. 25, n. 3, p. 469–487, mar. 1986.

CAPAR G.; AYGUN S. S.; GECIT M. R. Separation of sericin from fatty acids towards its recovery from silk degumming wastewaters. **Journal of Membrane Science**, v. 342, p. 179 - 189, 2009.

CALDEIRA, Mariana S. **Produção de nanocompósito utilizando diferentes fontes de celulose como reforço**. 2013. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura). Faculdade de Ciências Agronômicas. Botucatu. SP. 2013. Disponível em: <<http://www.pg.fca.unesp.br/Teses/PDFs/Arq1216.pdf>>. Acesso em: 23 ago. 2016.

CAVALCANTI, O. A., VAN DEN MOOTER, G., CARAMICO-SOARES, I., KINGET, R. Polysaccharides as excipients for colon-specific coatings. permeability and swelling properties of casted films. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v.28, n. 2, p. 157-164, 2002.

CHEN, X. *et al.* Conformation transition kinetics of regenerated Bombyx mori silk fibroin membrane monitored by time-resolved FTIR spectroscopy. **Biophysical chemistry**, v. 89, n. 1, p. 25–34, 31 jan. 2001.

CHEN, Xiaoyu. YANG, Zaixing. Successful treatment of propafenone-induced cardiac arrest by calcium gluconate: A case report. **The American Journal of Emergency Medicine**. 2017.

FINCH, C. A. Poly Vinyl Alcohol, Developments. ed. Jonh-Wiley, 850 p., 1992.

GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier property of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58, n.1, p. 206-211, 1993.

HOLANDA, Pedro R. H.; MATA, Sandoval F.; LIMA, Antonio G. B. Propriedades físicas e secagem de casulos do bicho-da-seda em leito fixo: uma investigação teórica e experimental. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, n. 2, p. 104 – 114, set. 2004.

JIPA, I. M. et al. Effect of gamma irradiation on biopolymer composite films of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 278, p. 82–87, 2012.

JOSHI, M.; GULRAJANI, M. L.; BAR, M. Novel cross-linked sericin films: Characterization and properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 5, p. n/a-n/a, 5 fev. 2015.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.

KIM H. G.; PARK C.; YANG J.; LEE B.; KIM S. S.; KIM S. Optimization of backflushing conditions for ceramic ultrafiltration membrane of disperse dye solutions. **Desalination**, v. 202, p. 150 – 155, 2007.

KUNDU S. C.; DASH B. C.; DASH R.; KAPLAN D. L. Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: Potential for biomedical and biotechnological applications. **Progress in Polymer Science**, v. 33, p. 998 – 1012, 2008.

LAMBONI, Lallepak; GAUTHIER, Mario; YANG, Guang; WANG, Qun. Silk sericin: A versatile material for tissue engineering and drug delivery. **Biotechnology Advances**. v. 33, p. 1855-1867, 2015.

LAMOOLPHAK, W.; DE-EKNAMKUL, W.; SHOTIPRUK, A. Hydrothermal production and characterization of protein and amino acids from silk waste. **Bioresearch Technology**, v. 99, p.7678–7685, 2008.

LUSCHER, T. F. et al. Calcium Gluconate in Severe Verapamil Intoxication. **New England Journal of Medicine**, v. 330, n. 10, p. 718–720, 10 mar. 1994.

MALI, Suzana.; Grossmann, Maria V. E.; GARCIA, Maria A.; Martino, Miriam N.; ZARITZKY, Noemi E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 379-386, 2002.

MARTEN, F. L. Vinyl alcohol polymers. In: **Encyclopedia of Polymer Science and Engineering**. New York: John Wiley, v.17, p. 167-198, 1985.

MATTA-JUNIOR, M. D. Caracterização de biofilmes obtidos a partir do amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol. 2009.113 f.Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2009.

MAUERSBERGER, Matthews H. R. **TEXTILE FIBERS**. Their Physical, **Microscopic and Chemical Properties**. 6 ed. Londres: Chapman & Hall, 1954.

McHUGH, T. H., KROCHTA, J. M. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42, p.841-845, 1994.

MENESTRINA, J.M.; IACOMINI, M.; JONES, C.; GORIN, P.A.J. Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide structures in gum exsudate of *Anacardium occidentale*. *Phytochemistry*, v. 47, p. 715-721, 1998.

MIYAKE, H., WAKISAKA, H., NAGURA, M. Structures and physical properties of poly (vinyl alcohol)/sericin blended plastic. **Journal of Insect Biotechnology and Sericology**, v. 71, p. 85-89, 2002.

MONTI, P. et al. Raman spectroscopic characterization of *Bombyx mori* silk fibroin: Raman spectrum of Silk I. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 32, n. 2, p. 103–107, fev. 2001.

NAIR R., NYAMWEYA, N., GO`NEN, S. b , L.J. MARTI`NEZ-MIRANDA L. J., HOA, S.W. Influence of various drugs on the glass transition temperature of poly(vinylpyrrolidone): a thermodynamic and spectroscopic investigation. **International Journal of Pharmaceutics**. p. 83-96, 2001.

OLABARRIETA, I. **Strategies to improve the aging, barrier and mechanical properties of chitosan, whey and wheat gluten protein films**. Tesis de Doutorado. Department of Fibre and Polymer Technology, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden, 2005.

PAULA, Gomes P. **Formulação e caracterização de compósitos com fibras vegetais e matriz termoplástica**. 2011. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Engenharia e

Ciência dos Materiais. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro, 2011.

PADAMWAR, M. N., PAWAR, A. P., DAITHANKAR, A.V., MAHADIK, K.R. Silk Sericin as a moisturizer: an in vivo study. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v.4, p. 250-257, 2005.

PURWAR, R. et al. Flexible sericin/polyvinyl alcohol/clay blend films. **Fibers and Polymers**, v. 16, n. 4, p. 761–768, 11 abr. 2015.

RASIA, Gisele M. Síntese e funcionalização de hidrogéis de poli (álcool vinílico). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

RIGUEIRO, Pérez J., ELICES, M., LLORCA, J., VINEY, C. Tensile properties of silkworm silk obtained by forced silking. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 82, p. 1928-1935, fev. 2001.

ROBLIN, I. et al. Topical Treatment of Experimental Hydrofluoric Acid Skin Burns by 2.5% Calcium Gluconate. **Journal of Burn Care & Research**, v. 27, n. 6, p. 889–894, nov. 2006.

SAROVART, S., SUDATIS, B., MEESILPA, P., GRADY, B.P., MAGARAPHAN, R. The use of sericin as an antioxidant and antimicrobial for polluted air treatment. **Review Advances Materials Science**, v.5, p.193-198, 2003.

SEAL, B.L.; OTERO, T.C.; PANITCH, A. Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration. **Materials Science & Engineering**.v. 34, p.147-230, 2001.

SCHOCH, TJ; MAYWALD, EC. Preparation and properties of various legume starches. **Cereal Chemistry**, v.45, n.6, p. 564-573, 1968.

SEAB – Secretaria da Agricultura e Abastecimento. **Sericultura no Estado do Paraná**. Disponível em:

http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2016/Sericultura_2016.pdf
f Acesso em: 29 set. 2016.

SIRITIENHONG, Tippawan. RATANAVARAPORN, Juthamas, ARAMWIT, Pornanong. Development of ethyl alcohol-precipitated silk sericin/polyvinyl alcohol scaffolds for accelerated healing of full-thickness wounds. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 439, p.175-186, dez. 2012.

SOARES, A. Q.; OLIVEIRA, L. F.; RABELO, D.; SOUZA, A. R. Polímeros biodegradáveis: novas perspectivas para as ciências farmacêuticas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 2 (2), 202-205, 2005.

SONE Ana P. **Utilização da sericina no preparo de biomateriais para aplicação como curativos destinados a queimaduras.** Tese. Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 2017.

SOLORZA-FERIA, J., MARIA, T. M. C., CARVALHO, R. A., SOBRAL, P. J. A., HABITANTE, A. B. Q., The effect of the degree of hydrolysis of the PVA and the plasticizer concentration on the color, opacity, and thermal and mechanical properties of films based on PVA and gelatin blends. *Journal of Food Engineering*, v. 87, p. 191-199, 2008.

SOTHORNVIT, R.; CHOLLAKUP, R. Properties of sericin-glucomannan composite films. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 44, n. 7, p. 1395–1400, jul. 2009.

SUREWICZ, W. K.; MANTSCH, H. H. New insight into protein secondary structure from resolution-enhanced infrared spectra. *Biochimica et biophysica acta*, v. 952, n. 2, p. 115–30, 29 jan. 1988.

TAKASU, Y.; YAMADA, H.; TSUBOUCHI, K. Isolation of Three Main Sericin Components from the Cocoon of the Silkworm, *Bombyx mori*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 66, n. 12, p. 2715–2718, 22 jan. 2002.

TERAMOTO, H.; MIYAZAWA, M. Molecular Orientation Behavior of Silk Sericin Film as Revealed by ATR Infrared Spectroscopy. p. 2049–2057, 2005.

TERAMOTO, H., NAKAJIMA, K., TAKABAYASHI, C. Preparation of elastic silk sericin hydrogel. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* v.69, p.845-847, 2005.

TOMADON JR, J. **Obtenção da proteína sericina, com alta massa molecular, a partir de casulos *Bombyx mori*.** Dissertação. Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 2011.

TSUBOUCHI, K. Wound dressing material containing silk fibroin and sericin as main component and method for preparing same. US Patent No. 6,175,053, 2001.

TSUCHIYA, Y.; SUMI, K. Thermal decomposition products of poly(vinyl alcohol). *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry*, v. 7, n. 11, p. 3151–3158, nov. 1969.

TSUKADA, M. Thermal decomposition behavior of sericin cocoon. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 22, n. 2, p. 543–554, fev. 1978.

TURBIANI F. R. B. **Desenvolvimento e caracterização de blendas biodegradáveis de sericina e PVA reticulados com dimetiluréia**. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 2011.

TYRRELL, D. J., DI LUCCIO, R. C., YAHIAOUI, A., EVERHART, D. S., MAY, W.B. Delivery of a skin health benefit agent to a treated substrate for transfer to skin, USPTO, 2003.

VOET, D.; VOET, J. G. *Biochemistry*. New York: John Willey and Sons, 1997.

YANG, Haigang. XU, Shoubin. JIANG, Long. DAN Yi. Thermal Decomposition Behavior of Poly (Vinyl Alcohol) with Different Hydroxyl Content. **Journal of Macromolecular Science, Part B**, v. 51, n. 3, p. 464–480, mar. 2012.

WORK, W. J.; HORIE, K.; HESS, M.; STEPTO, R. F. T. Definitions of terms related to polymer blends, composites and multiphase polymeric materials. *Pure of Applied Chemistry*. V76, p. 1985-2007, 2004.

ZANETTI, Ronald; REIS André M. **Sericicultura**. 1 ed. Lavras: UFLA, 2003.

ZHANG, Y. Q. Application of natural silk protein sericin in biomaterials. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 91-100, 2002.

ZHANG, H. et al. Enhancing Effect of Glycerol on the Tensile Properties of Bombyx mori Cocoon Sericin Films. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 12, p. 3170–3181, 16 maio 2011.

ZHANG, Yuanhai; YE, Chunjiang; LIU, Liping; JIANG, Ruiming; NI, Liangfang; XIA, Wenhao; HAN, Chunmao. The clinical effectiveness of the intravenous infusion of calcium gluconate for treatment of hydrofluoric acid burn of distal limbs. **Burns**. v. 40, p 26-30, jun. 2014.

ZHANG, Yu-Qing; CAO, Ting-Ting. Processing and characterization of silk sericina from *Bombyx mori* and its application in biomaterials and biomedicines. **Material Science and Engineering: C**. v. 61, p. 940-952, 2016.