

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

DAPHNE CHRISTINE SALLES DE OLIVEIRA

**PREPARO DE HIDROGÉIS DE GELATINA/TANFLOC E  
ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

APUCARANA

2017

DAPHNE CHRISTINE SALLES DE OLIVEIRA

**PREPARO DE HIDROGÉIS A BASE DE GELATINA/TANFLOC E  
ESTUDO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Campus Apucarana, como requisito para a obtenção do título de Licenciado(a) em Química.

Orientador: Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

APUCARANA

2017



Ministério da Educação

**Universidade Tecnológica Federal  
do Paraná**

Câmpus Apucarana

COLIQ – Coordenação do Curso  
Superior de Licenciatura em Química

3



---

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título do Trabalho de Conclusão de Curso**

**PREPARO DE HIDROGÉIS A BASE DE GELATINA/TANFLOC E ESTUDO DE  
LIBERAÇÃO CONTROLADA**

por

Daphne Christine Salles de Oliveira

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado aos 20 de novembro do ano de 2017, às 14 horas, como requisito parcial para a obtenção do título de licenciada em Química, linha de pesquisa “química de materiais e compósitos”, do Curso Superior em Licenciatura em Química da UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela banca examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé - ORIENTADOR

---

Prof. Dr. Johny Paulo Monteiro - EXAMINADOR

---

Prof. Dra. Patrícia Salomão Garcia - EXAMINADORA

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”.

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”*

*(ALENCAR, José)*

## Agradecimentos

Palavras me faltam ao agradecer a todas as pessoas que de algum modo, nos momentos tranquilos ou difíceis, fizeram ou fazem parte desta minha jornada acadêmica. Por tanto, primeiramente agradeço a todos de coração.

Dedico esse trabalho a minha família, de forma especial, ao meus pais Huderson e Rosemeire, que não mediram esforços para que eu levasse meus estudos a diante. Aos meus avós Hildete, Maria, Valdomiro, que são exemplos de pessoas, quais levarei por toda minha vida. A você, minha querida avó/mãe Maria, que Deus a abençoe sempre. Você é para mim, um grande exemplo de bondade, de honestidade, de paciência, de fé, e principalmente de muito amor. As minhas irmãs Tiphane e Stephane. Ao meu namorado Eduardo que é o meu maior incentivador, acreditando em mim, mas do que eu mesma.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins e Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé, pela orientação, por todos ensinamentos, pela paciência, principalmente ao professor Alessandro que mesmo de longe se fez presente em todo processo deste trabalho. Agradeço aos demais professores da UTFPR em que tive o prazer de ter aula, vocês são os profissionais que levarei como exemplo por toda minha vida.

Com frequência costuma-se ouvir que a verdadeira família é aquela que a pessoa escolhe, sem a necessidade de um mesmo código genético. Agradeço agora, todos meus amigos que escolhi para compor a minha família. Stephanie, agradeço a você irmã por sempre estar comigo me aconselhando da melhor maneira possível. A Beatriz por dois anos de pura parceria no PIBID, com toda certeza você é um presente que a universidade me trouxe e que levarei para a vida. Ao meu amigo de longa data Douglas, que está comigo desde o ensino fundamental. A Rosecler pela amizade e paciência, que junto ao Orivaldo e a Ana Beatriz, mostraram-me de diversas maneiras que a universidade não é apenas um lugar onde a competição prevalece acima de quaisquer valores, mas também um lugar de fazer verdadeiros amigos, que te ajudam superar os desafios da vida acadêmica e pessoal. Ao meu parceiro de laboratório Ewerton, que me auxiliou em muitas horas. Aos meus demais amigos e todos aqueles que participaram de alguma forma, obrigado.

## RESUMO

OLIVEIRA, S. C. D. **Preparo de hidrogéis de tanfloc/gelatina e estudos de liberação controlada.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso, Licenciatura em Química - Coordenação do Curso de Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2017. 40 páginas.

Os hidrogéis são materiais que exibem grande capacidade para absorver água, sendo formados por redes poliméricas tridimensionais. Os hidrogéis podem ser utilizados como matriz carreadora de fármacos na área de liberação controlada de fármacos, matriz que promove o condicionamento de solos (aplicação na agricultura), scaffolds com atividade bactericida, destinados para o campo de engenharia de tecidos (cicatrização de feridas e regeneração tecidual). Este trabalho propôs o preparo de hidrogéis físicos a base de gelatina (GE) e um derivado de tanino amino funcionalizado (comercialmente chamado de tanfloc). Inicialmente, antes de preparar os hidrogéis, o tanfloc (TN) foi purificado por meio do processo de diálise. Verificou-se que o TN é formado principalmente por oligômeros (massa molar < 12 kDa). Ainda, confirmou-se por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (SEM), acoplado a um detector de energia dispersiva de raio-X (EDS) e espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), que o TN como recebido, apresentava alto teor de cloreto como impureza. A estrutura do TN (antes da diálise, ou seja, antes de ser purificado) apresentou estrutura compacta e esférica, enquanto o TN purificado evidenciou uma estrutura frágil, sem ocorrência de partículas esféricas. O TN obtido após diálise foi utilizado para preparar os hidrogéis de GE/TN. Soluções aquosas de GE e TN foram misturadas (50 °C) para obter blendas estáveis. Então, as blendas GE/TN foram acondicionadas a 4 °C (24 h). Após, foram obtidos pela primeira vez hidrogéis termossensíveis a base de GE e TN, sendo a temperatura de gelificação dos hidrogéis determinada por medidas de parâmetro viscoelástico, em função da temperatura. O hidrogel de GE/TN foi caracterizado por meio de FTIR e estudos de liberação controlada de TN. O revelou que o hidrogel possui estabilidade em água e no fluido intestinal simulado (SIF, pH 6,8). Porém, o TN foi liberado rapidamente quando o hidrogel GE/TN foi mantido em fluido gástrico simulado (SGF, pH 1,2). Os resultados apontam que este hidrogel pode apresentar grande potencial de aplicação na área medico-farmacêutica, atuando principalmente como uma matriz scaffold.

**Palavras-chave:** Tanfloc, Hidrogéis, Gelatina, Antioxidante, Liberação Controlada, Atividade Bactericida.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, S. C. D. **Preparation of gelatin/tanfloc hydrogels and controlled release study.** 2017. Graduation Course, Degree in Chemistry - Coordination of the Degree in Chemistry, Federal University of Technology (UTFPR), Apucarana, 2017.

Hydrogels are materials that exhibit great capacity to absorb water, being formed by three-dimensional polymer networks. Hydrogels may be used as a drug carrier matrix in controlled drug release, can promote soil conditioning (application in agriculture), and can be used as scaffolds with bactericidal activity, aiming application in tissue engineering arena (wound healing and tissue regeneration). This work proposes for the first time, the preparation of physical hydrogels based on gelatin (GE) and an amino-functionalized tannin derivative (commercially called as tanfloc). Initially, before preparing the hydrogels, the tanfloc (TN) was purified by the dialysis process. It has been found that TN is formed primarily by oligomers (molar mass <12 kDa). Also, it was confirmed by scanning electron microscopy (SEM), coupled to an X-ray dispersive energy detector (EDS) and infrared spectroscopy (FTIR) that TN (impure) contains a high chloride level. The TN (prior to dialysis) showed a compact and spherical structure, while the purified TN displayed a brittle structure, without spherical particles. The purified TN was used to prepare the hydrogels based on GE/TN. Aqueous solutions of GE and TN were mixed (50 °C) to design stable mixtures. Therefore, these mixtures were conditioned at 4 °C (24 h). Afterwards, thermo-sensitive hydrogels based on GE and TN were obtained and their gelling temperatures. The GE/TN hydrogel was characterized by FTIR and TN release studies, revealed that the material has water stability and, also stability under simulated intestinal fluid (SIF, pH 6.8). However, the TN was rapidly released when the GE/TN hydrogel was maintained in simulated gastric fluid (SGF, pH 1.2). This hydrogel can present great potential to be applied in the medical-pharmaceutical field, acting mainly as a scaffold matrix.

**Keywords:** Tanfloc, Hydrogels, Gelatin, Antioxidant, Controlled Release, Bactericidal Activity.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1</b> - Estrutura molecular da gelatina .....  | 18 |
| <b>Figura 2</b> - Reação de obtenção do polímero orgânico catiônico via reação de Mannich.<br>.....  | 19 |
| <b>Figura 3</b> – FTIR do TN SG antes (a) e depois (b) da diálise.....   | 25 |
| <b>Figura 4.</b> Espectros de EDS do TN antes da diálise (A) e do TN após diálise.....   | 27 |
| <b>Figura 5</b> - Imagens de SEM do TN SG antes (a) e depois (b) da diálise. ....  | 29 |
| <b>Figura 6</b> - Hidrogél de GE/TN (3% (m/v) de gelatina preparado com proporção 30/70 (v/v)).....  | 30 |
| <b>Figura 7.</b> Medidas de G' em função da temperatura para os hidrogéis GE/TN produzidos a partir das condições experimentais previstas na Tabela 1..... | 31 |
| <b>Figura 8</b> - Curva de liberação do TN em pH 1,2.....  | 33 |



**LISTA DE TABELAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Condições experimentais utilizadas para preparar os hidrogéis GE/TN..... | 24 |
| <b>Tabela 2.</b> Temperaturas de gelificação dos hidrogéis GE/TN .....                    | 32 |

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

|              |   |
|--------------|---|
| <b>DPPH</b>  | Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil     |
| <b>EDS</b>   | Energia dispersiva de raio-X              |
| <b>FTIR</b>  | Espectroscopia Na Região do Infravermelho |
| <b>GE</b>    | Gelatina                                  |
| <b>GE/TN</b> | Hidrogéis de gelatina e tanfloc           |
| <b>SEM</b>   | Microscopia eletrônica de varredura       |
| <b>TN</b>    | Tanfloc                                   |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>13</b> |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>2.1. OBJETIVO GERAL</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....   | <b>16</b> |
| <b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>3.1. GELATINA</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>3.3. TANINOS</b> .....   | <b>18</b> |
| <b>3.4. TANFLOC (DERIVADO AMINO-FUNCIONALIZADO DE TANINOS<br/>CONDENSADOS)</b> .....          | <b>19</b> |
| <b>4 MATERIAS E METÓDOS</b> .....   | <b>21</b> |
| <b>4.1. MATERIAIS</b> .....   | <b>21</b> |
| <b>4.2. PURIFICAÇÃO DO TANFLOC</b> .....  | <b>21</b> |
| <b>4.3. CARACTERIZAÇÃO DO TANFLOC PURIFICADO</b> .....  | <b>21</b> |
| 4.3.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA ACOPLADO COM ENERGIA<br>DISPERSIVA DE RAIOS-X ..... | 21        |
| 4.3.2. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR) .....                                 | 22        |
| <b>4.4. PREPARO DOS HIDROGÉIS</b> .....   | <b>22</b> |
| <b>4.5. CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGÉIS</b> .....   | <b>23</b> |
| <b>4.6. ENSAIOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DO TN A PARTIR DO<br/>HIDROGEL GE/TN</b> .....        | <b>23</b> |
| 4.6.1. CURVA DE CALIBRAÇÃO E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO .....                                 | 23        |
| 4.6.2. ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DO TN.....   | 24        |
| <b>5. RESULTADOS</b> .....  | <b>25</b> |
| <b>5.1. PURIFICAÇÃO DO TANFLOC VIA PROCESSO DE DIÁLISE</b> .....                              | <b>25</b> |
| 5.1.1. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DE INFRAVERMELHO (FTIR) .....                                 | 25        |
| 5.1.2 ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (EDS) .....   | 27        |
| <b>5.1.3. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM)</b> .....                                 | <b>28</b> |
| <b>5.3. CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGEL</b> .....  | <b>31</b> |
| <b>5.3.1. TEMPERATURA DE GELIFICAÇÃO</b> .....  | <b>31</b> |
| <b>5.4. ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA E ESTABILIDADE DO<br/>HIDROGEL GE/TN</b> .....        | <b>32</b> |

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| <b>6 CONCLUSÕES .....</b> | <b>35</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS.....</b> | <b>36</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Hidrogéis são materiais poliméricos capazes de absorverem grandes conteúdos de água e fluidos biológicos e, por isso, recebem muita atenção na área biomédica. Estes sistemas podem ser obtidos através da associação de polímeros sintéticos ou naturais, sendo classificados em dois grandes grupos; hidrogéis químicos e hidrogéis físicos (GUILHERME, M. R et al., 2015). Os hidrogéis físicos são formados principalmente por meio da interação eletrostática entre grupos de cargas opostas presentes em solução polimérica e, ainda, via estabelecimento de interações intermoleculares (FAJARDO et al. 2012). Os hidrogéis físicos podem ser permanentes ou não. Este fato depende de muitos fatores, tais como, composição química dos polímeros envolvidos na formação do material, massa molar, hidrofiliicidade, tipo de estrutura polimérica, pH, temperatura, concentração, força iônica, entre outros (HENNINK.; VAN NOSTRUM, 2012). Por outro lado, os hidrogéis químicos são estruturas permanentes, pois são mantidos por meio do estabelecimento de ligações covalentes, que garantem integridade física e insolubilidade em água (GUILHERME et al., 2015).

A gelatina (GE) é um polímero biodegradável e biocompatível que pode ser usado para formar hidrogéis em solução aquosa. A GE possui propriedades estruturais e físico-mecânicas interessantes, por isso, a mesma tem recebido grande atenção de pesquisadores, pois seus hidrogéis podem apresentar renomada propriedade mecânica e, assim, potencial para serem aplicados no desenvolvimento de novas matrizes scaffolds (LAI, 2013; KHAN; SCHENEIDER, 2013). Na indústria médico-farmacêutica, a GE pode ser utilizada para a produção de lentes de contato, medicamentos de ingestão oral, obtenção de materiais com capacidade para regenerar e cicatrizes tecidos, e no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada. A GE também possui aplicação na indústria de alimentos, pois é um dos ingredientes mais empregados como gelificante, espessante, emulsificante e estabilizante. Além do mais, a GE pode ser utilizada na confecção de filmes biodegradáveis para produção de embalagens plásticas. (LAI, 2013; KHAN; SCHENEIDER, 2013). (BUENO et al., 2011)

A GE é um polipeptídeo de alto peso molecular, obtida por meio da desnaturação térmica e degradação estrutural do colágeno. A GE é constituída por uma mistura de proteínas solúveis (origem animal), pois é processada principalmente de ossos, peles, chifres, e tecidos de bovinos e suínos. A GE é solúvel em água e materiais a base de GE, tais como os hidrogéis podem ser obtidos com as propriedades de termo-reversibilidade (SALAZAR, 2015).

Os taninos exibem propriedades de biodegradabilidade, citocompatibilidade e atividade bactericida. Sendo assim, podem apresentar boas perspectivas para o desenvolvimento de hidrogéis (FACCHI et. al 2017). Os taninos são polifenóis solúveis em água, amplamente distribuídos nas plantas e nos alimentos. Podem ser classificados em hidrolisáveis e condensados. Os hidrolisáveis são formados basicamente por moléculas de ácido gálico ligadas em unidades de açúcares. Já os condensados têm como base estrutural moléculas de flavan-3-ol. O Tanfloc (TN) é um derivado catiônico obtido pela reação de taninos condensados com ácido fórmico e cloreto de amônio (FACCHI et. al 2017).

O TN apresenta as mesmas propriedades dos taninos condensados, tais como solubilidade, atividade antioxidante e potencial quelante sobre metais tóxicos dependendo da condição de pH (BELTRÁN-HEREDIA et al., 2010). Porém, o TN possui atividade bactericida, devido ao seu caráter catiônico e, ainda, pode ser utilizado como agente coagulante de proteínas e compostos orgânicos presentes em efluentes. O TN possui grupos amino (pKa 6,0) em sua estrutura, que em condições de pH < 6,0 encontram-se protonados. Estes grupamentos, associados ao conteúdo fenólico do TN pode conferir grande potencial bactericida ao TN. Recentemente, confirmou-se que o TN tem potencial para matar *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (FACCHI et al., 2017). A membrana celular das bactérias apresenta substâncias aniônicas (fosfolipídios) que muitas vezes interagem com metais (Mg(II) e Ca(II)). Esta interação estabiliza a membrana celular dos microorganismos (MARTINS et al., 2014). A interação eletrostática entre o TN catiônico e/ou a interação do TN com estes íons podem desestabilizar as membranas das bactérias, promovendo a morte dos microorganismos (FACCHI et al., 2017). Mesmo com estes resultados, o uso do TN em formulações com potencial biomédico ainda não foi investigado. O TN possui também excelente

atividade antioxidante (HALIWELL, 2001; SOUSA et al., 2007). O uso de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos encontrado na maior parte das plantas, inibe a formação de radicais livres e, portanto, tem sido associado com o menor índice de doenças causadas pelo estresse oxidativo (DROGE, 2002).

Portanto, este estudo tem como objetivo associar a GE e o TN para produzir hidrogéis com grande potencial biomédico, devido às propriedades individuais dos polímeros precursores (GE e TN). Os hidrogéis poderão ser aplicados como matrizes scaffolds utilizadas para regenerar e cicatrizar tecidos. Estes scaffolds podem ainda apresentar atividade antimicrobiana e atividade antioxidante.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Preparar hidrogéis de gelatina/tanfloc (GE/TN) e estudar suas propriedades físico-químicas.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Promover a purificação do tanfloc por meio do processo de diálise e avaliar a composição e estrutura do tanfloc purificado;
- Caracterizar o tanfloc purificado;
- Preparar hidrogéis de gelatina com o tanfloc purificado em meio aquoso;
- Avaliar a temperatura de gelificação dos hidrogéis por meio de ensaios de reologia;
- Avaliar a estabilidade do hidrogel, quando submetido em diferentes condições de pHs;
- Realizar estudos de liberação controlada do tanfloc a partir da matriz do hidrogel;



### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

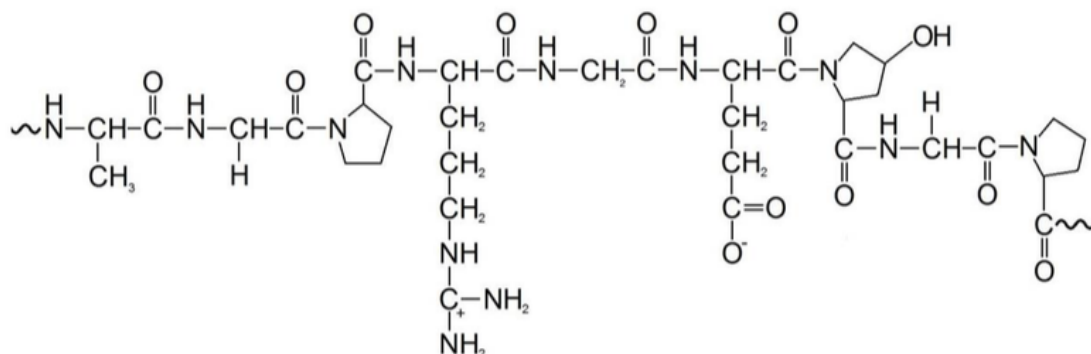
#### 3.1. GELATINA

A maioria das gelatinas são produzidas através de matérias-primas derivadas de mamíferos, tratando-se então de proteínas de origem animal, resultante da hidrólise parcial do colágeno extraído de ossos, peles e tecidos conectivos de suínos e bovinos (ALMEIDA, 2012).

A obtenção da gelatina é feita, primeiramente, por hidrólise (ácida ou alcalina) da matéria-prima. Após isso, há um tratamento térmico onde se obtém dois distintos tipos de gelatina. Quando a gelatina é produzida por pré-tratamento em meio ácido, a mesma é classificada como gelatina tipo A, enquanto a gelatina tipo B é obtida através do pré-tratamento alcalino (OLIVEIRA, 2013).

Silva et al. (2011) afirmaram que a qualidade da GE, depende do processo de extração, do tipo de tratamento, da concentração de colágeno na matéria prima e de alguns parâmetros tais como tempo de extração, temperatura e pH. A GE é composta aproximadamente por 85% de proteínas, 12% de água e 3% de sais minerais. Possui alta massa molar, rica em glicina, 4-hidroxiprolina e prolina (ZIEGLER e SGARBIERI, 2009). A Figura 1 apresenta a estrutura geral da GE. A GE pode ser considerada uma mistura complexa de vários aminoácidos com sequências idênticas na maioria das vezes. Essa estrutura é estabilizada pela formação de interações entre as cadeias via ligações de hidrogênio. No processo de desnaturação do colágeno (formação da GE), a estrutura tripla-hélice é rompida, levando a formação de outras estruturas aleatórias em forma de espiral (SANTOS, 2012). Durante o pré-tratamento químico, as ligações não-covalentes irão se romper, desorganizando a estrutura das proteínas, permitindo a expansão adequada e solubilização (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011), enquanto o processo térmico realizado em sequência cliva as ligações covalentes e de hidrogênio para desestabilizar a estrutura tripla-hélice, resultando a transição de estrutura hélice para espiral e conversão em gelatina solúvel (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002 apud SANTOS, 2012).

Figura 1. Estrutura geral da gelatina.



Fonte: HANANI et al. 2014

A GE é solúvel em água, possui potencial para formar hidrogéis termo reversíveis e, também, capacidade para produzir filmes flexíveis. Além do mais, por conta de apresentar excelente biocompatibilidade, plasticidade, boa aderência e excelente desempenho para promover regeneração e crescimento celular (AYALA, MALINCONICO e LAURIENZO, 2008), a GE está sendo produzida em grande escala comercial (LAI, 2013; KHAN; SCHENEIDER, 2013; BUENO et al., 2011).

### 3.3. TANINOS

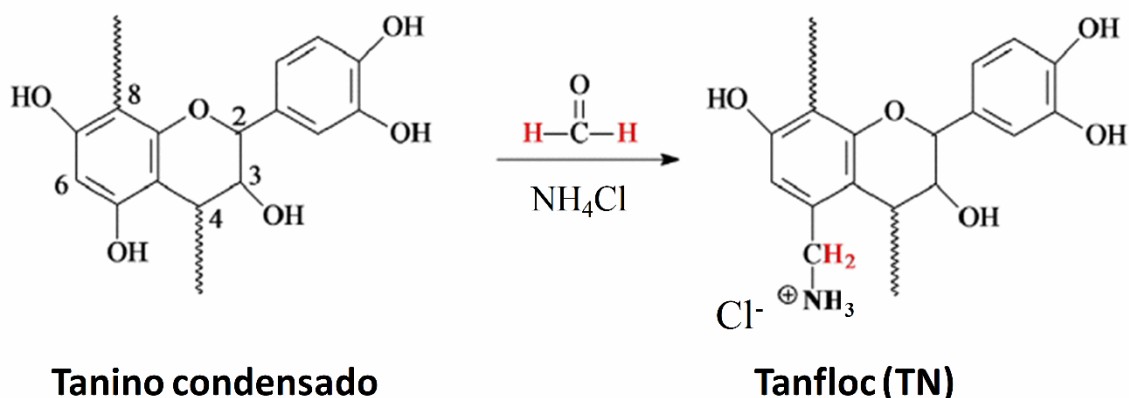
Os taninos são polifenóis solúveis em água que estão amplamente distribuídos nas plantas e nos alimentos. São extraídos da *Acacia mearnsii*; vegetal de origem australiana. No Brasil, esta espécie é popularmente chamada de Acácia negra, sendo é amplamente cultivada no Estado do Rio Grande do Sul. A empresa Tanac S.A. detém plantações de Acácia negra em uma área de 30 mil hectares (MANGRICH, 2013). Os taninos apresentam diferentes propriedades, podendo ser utilizados na produção de couro, plásticos, agentes anticorrosivos, cola, agentes flocculantes, dentre outros (SILVA, 1999). O procedimento de extração dos taninos da planta é realizado por meio de autoclaves, empregando altas temperaturas. O processo extrai os taninos da casca da Acácia negra. Os taninos têm a função de blindar caule e folhas,

protegendo-os de possíveis ataques de agentes biodeterioradores (fungos, bactérias e insetos). Os taninos são classificados em condensados e hidrolisáveis, sendo que, os taninos obtidos por meio da Acácia negra são em suma maioria composto polifenólicos condensados (EMBRAPA, 2012) e (SOMACAL, 2012).

### 3.4. TANFLOC (DERIVADO AMINO-FUNCIONALIZADO DE TANINOS CONDENSADOS)

O tanfloc (TN) é um polímero catiônico, pois possui um grupo amino (pKa, 6,0) por cada unidade repetitiva da estrutura polimérica, conferindo-lhe densidade de carga positiva majoritária em condições de pH inferiores a 6,0. A estrutura do TN é afetada por processos de hidrólise-hidratação, principalmente em circunstâncias alcalinas (pH > 10) (FACCHI et al., 2017). Atualmente, o TN é extensivamente empregado como agente de coagulação-floculação para tratamento de águas residuais e efluentes. O TN pode substituir os sais de alumínio ou de ferro utilizados como coagulantes inorgânicos convencionais, diminuindo o impacto ambiental do processo de tratamento. O uso dos sais inorgânicos pode contaminar os sistemas tratados com os metais ferro e alumínio.

Figura 2. Rota de síntese do TN.



Fonte: Adaptado de FACCHI et al., 2017.

A Figura 2 representa a rota de síntese de obtenção do TN, partindo-se da matéria prima tanino condensado em meio de cloreto de amônio e formaldeído (catálise ácida). Esta rota de síntese segue o mecanismo de reação descrita por Mannich (MANGRICH et al., 2013). Recentemente, o nosso grupo de pesquisa confirmou experimentalmente que TN possui atividade bactericida contra *E. coli* e *S. aureus* (FACCHI et al., 2017). Também, de acordo com Mangrich et al., (2013) o TN obtido pela empresa Tanac S.A. possui massa molar média de  $600000 \text{ g mol}^{-1}$  e apresenta solubilidade significativa em água. Com exceção do artigo publicado pelo nosso grupo de pesquisa, não há outros relatos na literatura relacionando o TN em aplicações na área biomédica (FACCHI et al., 2017). Por isso, este estudo sugeriu trabalhar com este material visando à obtenção de hidrogéis a base de GE/TN com potencial aplicação na área biomédica.

## 4. MATERIAS E METÓDOS

### 4.1. MATERIAIS

O Tanfloc SG utilizado neste estudo foi doado gentilmente pela empresa Tanac S.A. A membrana de celulose de peso molecular 12 kDa utilizada para diálise, foi adquirida da Sigma-Aldrich (Brasil). Gelatina do “tipo A” extraída da pele de porco, foi doada pela empresa (Amparo-SP, Brasil).

### 4.2. PURIFICAÇÃO DO TANFLOC

Para o processo de diálise, 50 mL de solução aquosa de TN (10 % m/v) foi filtrada e, em seguida, colocada em uma membrana de celulose (12 kDa) para diálise. O sistema foi imerso em um béquer contendo 1,5 L de água deionizada. O processo foi realizado durante 5 dias, efetuando-se a troca da água duas vezes ao dia. Após este período, a solução ( $\approx 50$  mL) foi removida da diálise, congelada e liofilizada ( $-50$  °C, 24 h). Então, o material foi caracterizado e a perda de massa de oligômeros e impurezas durante a diálise (%) foi estimada. Para isso, foi considerado o volume total da solução de TN obtida após diálise ( $\approx 50$  mL), a massa de TN inicial usada no preparo da solução que foi dialisada (5,0 g) e a massa de TN presente na alíquota liofilizada (0,15 g e concentração final de  $3,0$  g L<sup>-1</sup>).

### 4.3. CARACTERIZAÇÃO DO TANFLOC PURIFICADO

#### 4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura acoplado com energia dispersiva de raios-X

A morfologia do Tanfloc foi estudada por análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), usando um equipamento Shimadzu, modelo SS 550.

Amostras de TN antes e depois da purificação foram revestidas por uma fina camada de ouro antes de processar as imagens. As imagens foram adquiridas por meio da aplicação de um feixe de elétrons acelerados com voltagem de 5 kV. Também, foram obtidos espectros de EDS do TN não purificado e purificado. Os ensaios foram realizados na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

#### 4.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Espectros de FTIR (processado a partir de pastilhas de KBr) do TN não purificado e purificado foram obtidos utilizando um espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier (Modelo Cary 630), na faixa de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Para a obtenção dos espectros do TN purificado, a amostra foi previamente liofilizada.

#### 4.4. PREPARO DOS HIDROGÉIS

Primeiramente, soluções de gelatina (GE) foram preparadas em água deionizada nas concentrações 2, 3 e 4% (m/v), sob agitação magnética à 50 °C, durante 15 minutos. Blendas de GE/TN (v/v) foram preparadas nas proporções 50/50, 70/30 e 90/10, respectivamente (Tabela 1). Para isso, alíquotas da solução de TN (3,0  $\text{g L}^{-1}$ ; a 50 °C) obtida após diálise foram lentamente gotejadas sobre a solução de GE, mantendo o sistema em agitação magnética a 50°C. Após, a blenda GE/TN foi mantida em agitação magnética por 15 minutos. Então, o sistema TN/GE (50 °C) foi alocado em banho maria a 4°C, durante 24 h, para que, ocorresse a formação dos hidrogéis termossensíveis a base de GE/TN, seguindo as condições experimentais descritas na Tabela 1.

**Tabela 1. Condições experimentais utilizadas no preparo dos hidrogéis GE/TN. O volume final da blenda GE/TN foi de 6,0 mL.**

| Experimento | GE % (m/v) | Razão GE/TN (v/v) |
|-------------|------------|-------------------|
| 1           | 2          | 50/50             |
| 2           | 4          | 50/50             |
| 3           | 2          | 90/10             |
| 4           | 4          | 90/10             |
| 5           | 3          | 70/30             |

Fonte: Autoria própria

#### 4.5. CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGÉIS

##### 4.5.1. Determinação da temperatura de gelificação dos hidrogéis

A temperatura de gelificação foi determinada por medidas de reologia. O parametro viscoelástico  $G'$  dos hidrogéis foi determinado em função da temperatura (faixa de 5 a 60 °C). O gráfico do módulo de armazenamento ( $G'$ ) em função da temperatura foi construído. A primeira derivada da curva de  $G'$  vs. T, possibilitou a obtenção da temperatura de gelificação, por meio da análise da temperatura no ponto de inflexão. Os ensaios de reologia foram realizados na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

#### 4.6. ENSAIOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DO TN A PARTIR DO HIDROGEL GE/TN

##### 4.6.1. Curva de calibração e eficiência de encapsulação

A metodologia de captura do radical livre DPPH• (2,2-Difenil-1-picrilidrazil) foi empregada para analisar a eficácia de encapsulação do TN na matriz do hidrogel, assim como, avaliar a cinética de liberação do TN a partir da

matriz do hidrogel a base de GE/TN (utilizando o hidrogel obtido da condição experimental 5, Tabela 1). Para isso foi seguido a metodologia descrita por BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, (1995), com algumas modificações (MA et al., 2011). Para a construção da curva de calibração, soluções de ácido gálico em diferentes concentrações foram utilizadas. Alíquotas de 30  $\mu\text{L}$  da solução padrão do ácido gálico com concentração de  $2.500 \mu\text{mol.L}^{-1}$  foram diluídas em água e, em seguida, foram adicionadas 3,00 mL de uma solução de metanol e DPPH• na concentração de  $62,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Os sistemas foram mantidos no escuro por 30 min e, logo após, a absorbância foi medida no comprimento de onda de 517 nm, usando um espectrofotômetro Cary 60. Portanto, a capacidade antioxidante do TN pode ser expressa em  $\mu\text{mol}$  de equivalente ácido gálico ( $\text{g}^{-1}$ ).

#### 4.6.2. Estudos de liberação controlada do TN

Hidrogel de GE/TN (obtido a partir de 1,5 mL da blenda GE/TN e preparado por meio da condição experimental 5 - Tabela 1) na condição de equilíbrio, foi acondicionado em 50 mL de solução aquosa de HCl/KCl (pH 1,2, meio SGF), em água (pH 6,5) e solução aquosa de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (pH 6,8, meio SIF) a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . A condição experimental 5 foi escolhida por apresentar, visualmente, a melhor condição mecânica entre as outras condições experimentais, visto que os ensaios de reologia foram realizados após este estudo de liberação. Porém, os estudos de liberação controlada serão, posteriormente a este trabalho, realizados para todas as condições. A análise foi feita em um Shaker, mantendo o sistema sob agitação de 20 rpm, com os frascos devidamente vedados para evitar alteração de volume. Foram coletadas alíquotas de 30  $\mu\text{L}$  do sobrenadante em função do tempo, durante um período de 24 h. As alíquotas eram retiradas em um intervalo de 60 minutos até as primeiras 10 horas e após isso no intervalo de 14 horas, quando a última alíquota foi retirada. Estas alíquotas foram adicionadas em 3,0 mL da solução de DPPH•. Após 30 min, a absorbância em 517 nm foi estimada e a concentração de TN em termos de equivalente de ácido gálico calculada.



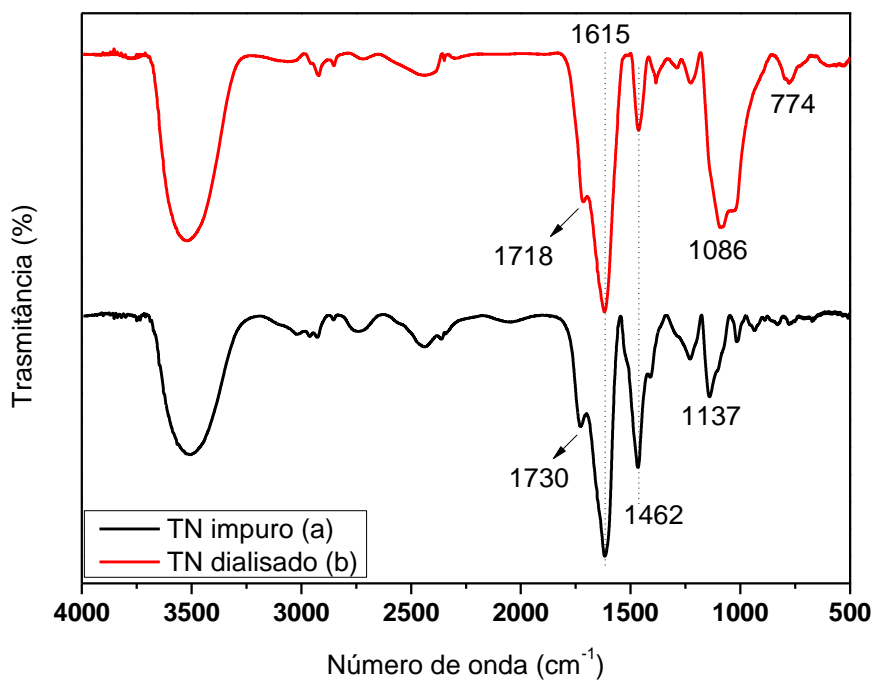
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. PURIFICAÇÃO DO TANFLOC VIA PROCESSO DE DIÁLISE

#### 4.1.1. Espectroscopia na região de infravermelho (FTIR)

A Figura 3 apresenta os espectros de FTIR do TN antes (TN impuro) e o após o processo de diálise (TN purificado). Os espectros de FTIR mostraram diferenças significativas, ratificando que a estrutura do TN deve mudar após o processo de diálise, devido à remoção de impurezas e, possivelmente oligômeros de TN. Inicialmente, uma solução de TN (5,0 g) foi submetida à diálise (volume de 50 mL e solução de TN a 10 % (m/v)). Após diálise, restaram apenas 0,15 g de TN. A perda de massa durante a diálise foi de  $\approx 97\%$ .

Figura 3. Espectros de FTIR do TN antes (a) e após (b) diálise.



Fonte: Autoria própria

Os espectros de FTIR do TN antes e depois da diálise identificaram bandas em 1730 e 1718  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento das ligações C=O respectivamente, que possivelmente estariam presentes nas ramificações dos monômeros. A ocorrência deste sinal está relacionada à presença de taninos hidrolisáveis, envolvendo conteúdos de ácido gálico (FACCHI et al., 2017). O deslocamento desta banda (de 1730 para 1718  $\text{cm}^{-1}$ ) se deve a mudança de pH do sistema. Uma solução de TN impura possui pH em torno de 2,1, devido a existência de impurezas de ácido fórmico (reagente utilizado na síntese do TN). Após diálise, o pH da solução de TN foi em torno de 6,0. Com a diálise o ácido fórmico é removido e a alteração do pH influenciou no deslocamento da banda referente ao estiramento C=O. Os sinais intensos em 1615 e 1462  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas aos estiramentos das ligações C=C e O-H, respectivamente, e se devem (principalmente) a presença dos grupos fenóis presentes na estrutura dos taninos condensados (FACCHI et al., 2017).

Entretanto, as diferenças mais significativas entre os espectros de FTIR foram observadas com relação ao estiramento das ligações C-O-H (em 1137  $\text{cm}^{-1}$  no espectro do TN não dialisado e 1086  $\text{cm}^{-1}$  no espectro do TN purificado). A maior intensidade e o alargamento da banda em 1086  $\text{cm}^{-1}$  em relação à banda em 1137  $\text{cm}^{-1}$  se devem ao aumento da efetividade das interações intermoleculares envolvendo as macromoléculas do TN após diálise. A remoção de impurezas e oligômeros durante a diálise favoreceu a ocorrência de interações entre as macromoléculas de TN. Este efeito explica a diferença entre os espectros de FTIR.

Por fim, a banda em 774  $\text{cm}^{-1}$ , observada apenas no espectro do TN purificado, pode ser atribuída às ligações C-H de anéis aromáticos. Este sinal se deve a deformação angular da ligação dupla entre carbonos. Mais uma vez, a remoção das impurezas e oligômeros de TN favorece a interação entre as macromoléculas, ocasionando mudanças significativas nos espectros de FTIR. A caracterização após diálise se mostrou eficiente para confirmar a purificação do TN, uma vez que os resultados obtidos por meio dos espectros de FTIR para o TN dialisado são condizentes com a estrutura do polímero.

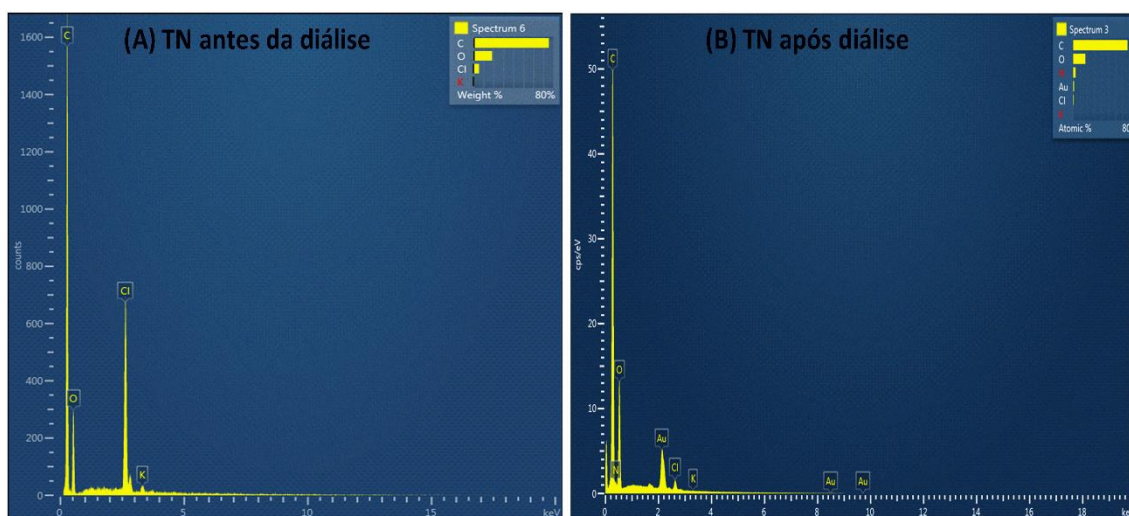
A remoção de oligômeros de TN deve acontecer durante o processo de purificação. A mesma se deve possivelmente a ocorrência da coloração marrom na água da diálise. Esta coloração é característica de taninos. A diálise foi

realizada com uma membrana de 12 kDa. O tamanho de poro desta membrana é consideravelmente grande. A mesma foi usada, uma vez que (MANGRICH et al., 2013) afirmou que a massa molar do TN é de aproximadamente  $600.000 \text{ g mol}^{-1}$ . No entanto, este fato não deve ser real, pois, após diálise, a perda de massa foi de 97%. Sem dúvida, também deve haver um conteúdo muito grande de impureza no TN comercializado pela empresa Tanac S.A. Porém, este fato será melhor investigado.

#### 4.1.2 Energia dispersiva de raio-X (EDS)

Os resultados do EDS do TN não dialisado identificou a presença de íons cloreto em quantidades acima do esperado (Figura 4A), principalmente quando comparado com o espectro do TN purificado (Fig. 4B). Observou-se também a presença de potássio no material não purificado. A presença de cloreto em excesso se deve, ao uso do reagente cloreto de amônio (excesso) na síntese do TN. A origem do potássio é desconhecida, porém o mesmo pode ocorrer como impureza no sal cloreto de amônio. A ausência do sinal de átomos nitrogênio no espectro, também se deve a presença de impurezas. A formação dos pares iônicos mascaram os resultados, impedindo a identificação do nitrogênio, que já tem se apresenta em pequena quantidade na superfície.

Figura 4. Espectros de EDS do TN antes da diálise (A) e do TN após diálise.



Fonte: Autoria própria

A formação de pares iônicos entre o cloreto de TN (sal) e os íons cloreto (excesso) e potássio deve explicar o comportamento do espectro EDS do TN não dialisado (Martins et al. 2015). Os pares iônicos na superfície prejudicou a detecção dos átomos de nitrogênio e oxigênio. Possivelmente a formação desses pares iônicos prejudica a formação do hidrogel, interferindo diretamente nas interações intermoleculares responsáveis pela obtenção do mesmo, uma vez que hidrogéis de TN e GE não foram obtidos quando o TN não foi dialisado. De notar que o sinal do átomo de nitrogênio é muito difícil de ser identificado no espectro de EDS. O mesmo pode ocorrer sobreposto ao pico do átomo de oxigênio (Fig. 4).

O espectro EDS do TN purificado (Fig. 4B) indicou diminuição considerável da concentração de cloreto no material. Esse efeito indicou a remoção do cloreto em excesso, restando apenas o contra íon responsável pela formação do sal cloreto de TN (Fig. 2). O potássio também foi removido do TN após diálise e, ainda observou-se a ocorrência do sinal referente aos átomos de nitrogênio. Estes resultados indicam que o TN disponibilizado pela empresa Tanac S.A. contém quantidades elevadas de impurezas, principalmente íons cloreto e potássio. O processo de diálise foi efetivo e promoveu remoção das impurezas. Estes resultados estão em acordo com os dados de FTIR apresentados anteriormente.

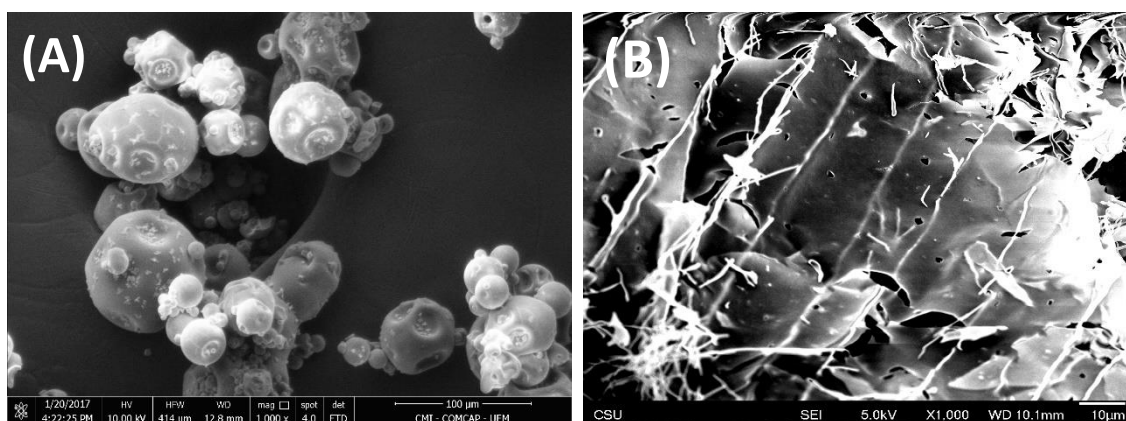
#### 4.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise por meio de MEV mostrou que o TN não purificado possui morfologia significativamente diferente em relação ao TN dialisado. O TN não purificado apresentou morfologia compacta, com ocorrência de partículas esféricas (Fig. 5A). Esta morfologia se deve a existência de impurezas, mais precisamente a formação de pares iônicos envolvendo o TN e os íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$  e possivelmente o íon  $\text{NH}_4^+$ . O TN é um sal, cujo contra íon do cátion orgânico é o íon cloreto (ânion). A ocorrência de pares iônicos entre o TN e espécies inorgânicas pode aumentar a cristalinidade do polímero e alterar significativamente as propriedades físico-químicas do mesmo (MARTINS et al., 2015). Martins et al. (2015), ressaltou a ocorrência de pares iônicos envolvendo

o polímero N,N,N-trimetilquitosana (TMC) e os íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ . A diálise de uma solução polimérica de TMC promoveu a remoção dos pares iônicos alterando significativamente a morfologia do polímero TMC.

A diálise removeu as impurezas do TN (os pares iônicos), tornando o TN com uma morfologia frágil e quebradiça (Fig. 5B). Esta morfologia é característica de polímeros com baixa resistência mecânica, tais como polissacarídeos (MARTINS et al., 2015). Este efeito, permite a redistribuição aleatória das cadeias de polímero, diminuindo a cristalinidade das amostras (FACCHI et al., 2017). como confirmado na Figura 5B. Desta forma, as análises de FTIR, ESD e SEM confirmaram que após diálise o TN se encontra purificado. Este material será utilizado na obtenção de hidrogéis físicos a base de GE/TN. Além disso, a remoção de oligômeros de TN durante a diálise, também deve ter favorecido a alteração de morfologia do material (Fig. 5).

**Figura 5. Imagens de SEM do TN: (A) antes da diálise, (B) após diálise.**



**Fonte: Autoria própria**

#### 4.2. HIDROGEIS GE/TN

Os hidrogéis GE/TN foram preparados com êxito em todas as proporções previstas na (Tabela 1). Porém, estudos prévios, mostraram que quando soluções de GE a 1,0% (m/v) foram utilizadas, hidrogéis não foram obtidos (segundo as mesmas razões GE/TN (v/v) estabelecidas na Tabela 1). Por outro lado, quando soluções de GE 5,0% (m/v) foram usadas, blendas de GE/TN não foram obtidas, ou seja, a mistura GE/TN não foi estável. Por isso, o estudo envolveu soluções

de GE na faixa de 2 a 4% (m/v). Utilizando estas concentrações de GE, os hidrogéis GE/TN também não foram obtidos, quando a razão v/v entre GE/TN foi de 30/70, ou seja, com excesso de TN na mistura. Por isso, a razão v/v da mistura GE/TN foi fixada em 50/50, 70/30 e 90/10. A solução de TN obtida após diálise apresentou concentração de  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ . Quando o TN não purificado foi utilizado, não houve formação de hidrogel em nenhuma condição estudada. A Figura 6 representa uma imagem do hidrogel de GE/TN obtidos com GE a 4% (m/v) na razão 50/50.

**Figura 6. Hidrogel GE/TN (4% (m/v) de GE preparado na proporção 50/50 (25 °C).**



**Fonte: Autoria própria**

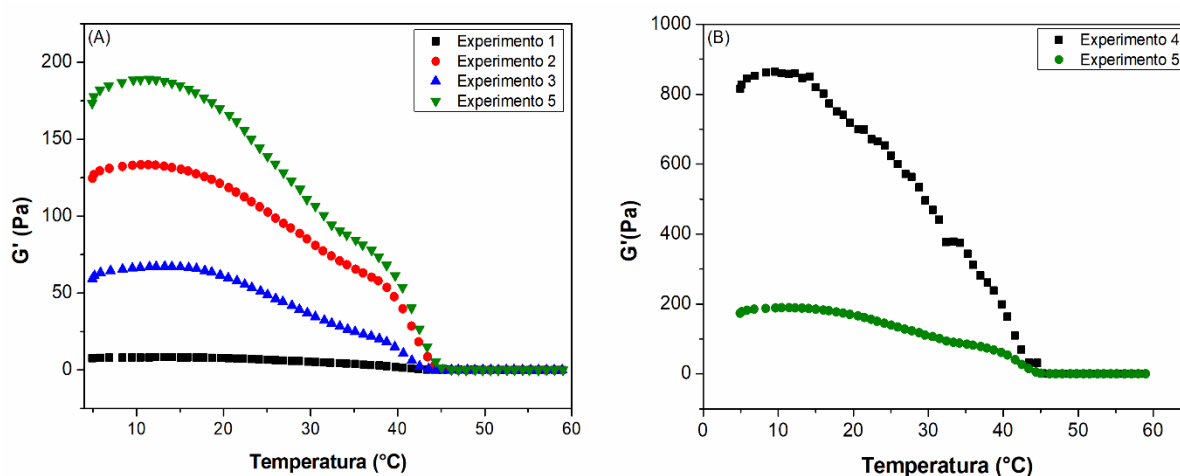
Os hidrogéis foram estáveis em temperatura ambiente (25°C) e mostraram característica termossensível, e hidrogéis com excesso de GE se mostraram mais estáveis. Vale a pena mencionar que solução de GE isenta de TN (na faixa de concentração estudada) não propiciaram a formação de hidrogéis. Por isso, conteúdos apropriados da solução de TN na blenda GE/TN favorecem a reticulação física para formar o hidrogel GE/TN. A diminuição da temperatura para 4° C, favorece a aproximação das cadeias poliméricas, induzindo a formação de interações de curto alcance (interações intermoleculares) entre os segmentos de cadeias dos polímeros. Estas interações promovem a formação de hidrogéis físicos com propriedade termorreversível.

### 4.3. CARACTERIZAÇÃO DO HIDROGEL

#### 4.3.1. Temperatura de gelificação

A Figura 7 ilustra o comportamento do módulo de armazenamento ( $G'$ ) em função da temperatura. A propriedade  $G'$  apresentou valores mais altos em temperaturas baixas ( $T < T_{gel}$ ), pois a característica elástica do sistema é dominante, indicando claramente que as blendas GE/TN estão compondo um gel. O aumento da concentração de GE favoreceu para o aumento de  $G'$  em baixas temperaturas. Este efeito foi melhor observado no hidrogel preparado com GE a 4% (m/v) na proporção 90/10. O módulo  $G'$  atingiu valores acima de 800 Pa em temperaturas abaixo de 10 °C (Fig. 7B). A GE é um polímero que apresenta elasticidade e possui excelentes propriedades mecânicas (SALAZAR, 2015). O aumento da temperatura possibilita o aumento da energia cinética, aumentando a mobilidade do sistema, até atingir uma temperatura na qual o sistema GE/TN volta a ser líquido. Essa temperatura é denominada de temperatura de gelificação (Tabela 2).

**Figura 7. Medidas de  $G'$  em função da temperatura para os hidrogéis GE/TN produzidos a partir das condições experimentais previstas na Tabela 1.**



Fonte: Autoria própria

Tabela 2. Temperaturas de gelificação dos hidrogéis GE/TN.

| Experimentos | GE % (m/v) | Razão GE/TN (v/v) | Temperatura de Gelificação (C°) |
|--------------|------------|-------------------|---------------------------------|
| 1            | 2          | 50/50             | 39,7                            |
| 2            | 4          | 50/50             | 41,6                            |
| 3            | 2          | 90/10             | 40,6                            |
| 4            | 4          | 90/10             | 41,5                            |
| 5            | 3          | 70/30             | 42,1                            |

Fonte: Autoria própria

A temperatura de gelificação é obtida por meio da primeira derivada das curvas de  $G'$  em função da temperatura. A temperatura do ponto de inflexão se refere à temperatura relacionada à transição sol-gel, ou seja, a temperatura de gelificação (temperatura na qual o sistema perde a característica elástica de gel e volta a ser uma solução líquida). A temperatura de gelificação não teve grande variação, mesmo modificando a concentração de GE e a razão GE/TN (v/v). Neste caso, o TN deve atuar como um agente de reticulação da GE. Em quantidades apropriadas da solução de TN ( $3,0 \text{ g L}^{-1}$ ) pode-se obter hidrogéis estáveis de GE/TN com temperaturas de gelificação acima da temperatura média do corpo humano ( $37 \text{ °C}$ ). Neste caso, em uma provável aplicação, os hidrogéis poderiam manter sua integridade física, fato que é requisitado em uma aplicação prática.

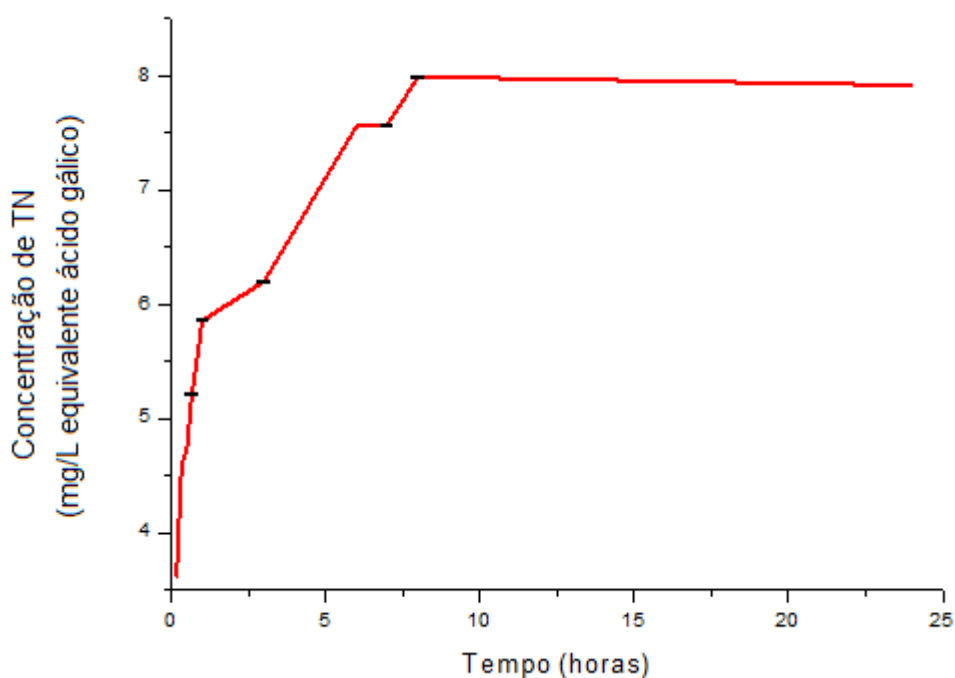
#### 4.4. ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA E ESTABILIDADE DO HIDROGEL GE/TN

Dentre os hidrogéis preparados (Tabela 1), o material com a composição GE 3% (m/v) proporção GE/TN 70/30 (v/v) foi escolhido para realizar os ensaios de liberação controlada, via método do DPPH•. Esta amostra foi escolhida para este trabalho, porem os testes serão feitos com todas as condições experimentais, uma vez que todos os hidrogéis apresentaram temperatura de gelificação acima da temperatura de equilíbrio do corpo. A Figura 8 ilustra a



liberação de TN, utilizando o hidrogel GE/TN como matriz carreadora no meio SGF (pH 1,2). Vale a pena mencionar, que o hidrogel utilizado neste ensaio não foi seco; o mesmo foi utilizado no estado de equilíbrio nos estudos de liberação.

**Figura 8. Curva de liberação controlada para pH 1,2.**



**Fonte: Autoria própria**

Foi possível observar que o hidrogel promoveu a liberação do TN (figura 8), sendo a condição de equilíbrio alcançada após 8 h. Em pH 1,2, o TN encontra-se protonado (sistema com grupos  $-\text{NH}_3^+$ ); fato que aumenta efetividade de repulsão no hidrogel. Por isso, o gel degradou nesta condição de pH, devido a maior solvatação do TN. Os grupos básicos da GE também devem estar protonados na condição de pH 1,2, aumentando a instabilidade do sistema. Assim, a dissolução é acompanhada da liberação do TN. Ensaio de liberação realizados em pH 6,8 (SIF) e água deionizada (pH 6,5), mostrou que o TN não foi liberado, isto é, não ocorreu dissolução do hidrogel nestas condições. Este efeito é importante, uma vez que próximo da condição de pH 7,4 (pH do meio biológico), o hidrogel apresentou estabilidade, mantendo a sua integridade estrutural. Este efeito é importante para obtenção de scaffolds com aplicação na área de regeneração de tecidos e cicatrização de feridas. Estudos de

estabilidade e liberação controlada de TN, partindo-se de hidrogéis GE/TN secos (obtidos via processo de liofilização) ainda serão realizados. Estudos de crescimento celular, e atividade bactericida ainda serão avaliados. Devido as propriedades individuais de cada polímero precursor (GE e TN), bem como as propriedades dos hidrogéis (estabilidade térmica e estabilidade em soluções cujo pH é próximo do valor de pH de sistemas biológicos), espera-se que os hidrogéis tenha grande potencial para propiciar adesão e proliferação de células de tecido adiposo humano (ADSC cells).

## 5 CONCLUSÕES

O hidrogéis GE/TN foram obtidos em todas as proporções estudadas, sendo estes formados com êxito pela primeira vez. Para isso, o TN deve ser previamente purificado para remover impurezas, principalmente íons cloreto e potássio. Possivelmente, a diálise propiciou também a remoção de oligômeros de TN. Este fato ainda será melhor investigado. O TN obtido na indústria TANAC S.A. possui quantidades elevadas de impurezas que interferem na formação do hidrogel GE/TN. As impurezas (pares iônicos) devem ser removidas para que se possa obter os hidrogéis. Após ser dialisado o TN apresentou propriedades completamente diferentes.

Assim, foi possível obter hidrogéis físicos a base de GE/TN com estabilidade térmica considerável. De notar que todas as formulações apresentaram temperatura de gelificação acima de 39 C°. Esta propriedade é muito importante, uma vez que, hidrogéis termos sensíveis devem ter estabilidade suficiente para serem aplicados na área médica, pois estarão em contato com o corpo humano que possui temperatura de equilíbrio próxima de 37 C°. Outro fator importante foi que os hidrogéis apresentaram estabilidade em meio aquoso, cujo pH é próximo do pH biológico (pH 7,4). Portanto, estes hidrogéis apresentam potencial para serem aplicados como scaffolds na área de regeneração e cicatrização de feridas, principalmente para uso tópico. Ensaios de adesão e proliferação celular ainda serão investigados, utilizando as células ADSC.

## 7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. F. Análise da qualidade de gelatina obtida de tarsos de frango e aspectos envolvidos no processo produtivo. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção). **Universidade Nove de Julho**, 2012.

BELTRAN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTIN, J.; GÓMEZ-MUÑOZ, M. C. New coagulant agents from tannin extracts: Preliminary optimization studies. **Chemical Engineering Journal** p.162, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BUENO, C. M.; ALVIM, I. D.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; PORTELLA, M. C.; GROSSO, C. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 65-73, 2011.

D'AYALA, Giovanna Gomez; MALINCONICO, Mario; LAURIENZO, Paola. Marine derived polysaccharides for biomedical applications: chemical modification approaches. **Molecules**, v. 13, n. 9, p. 2069-2106, 2008.

DROGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev.** v 82: p 47-95 2002.

EMBRAPA. Embrapa Florestas. **Sistemas de Produção**. Janeiro de 2003. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/#acacia\\_negra](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/#acacia_negra)>. Acesso em: mar. 2017.

FACCHI, D. P.; LIMA, A. C.; DE OLIVEIRA, J. H.; LAZARIN-BIDÓIA, D.; NAKAMURA, C. V.; CANESIN, E. A.; BONAFÉ, E. G.; MONTEIRO, J. P.; VISENTAINER, J.V.; MUNIZ, E. C.; MARTINS, A. F. Polyelectrolyte complexes based on alginate/tanfloc: Optimization, characterization and medical application. **International journal of biological macromolecules**, v. 103, p. 129-138, 2017.

FAJARDO, A. R., SILVA, M. B., LOPES, L. C., PIAI, J. F., RUBIRA, A. F., & MUNIZ, E. C. Hydrogel based on an alginate–Ca<sup>2+</sup>/chondroitin sulfate matrix as

a potential colon-specific drug delivery system. **Rsc Advances**, v2(29), p.11095-11103, 2012.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

GUILHERME, M. R., AOUADA, F. A., FAJARDO, A. R., MARTINS, A. F., PAULINO, A. T., DAVI, M. F., ... & MUNIZ, E. C.. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. **European Polymer Journal**, 72, 365-385, 2015.

HALLIWELL B.. Free radicals and other reactive species in disease. In: Encyclopedia of Life sciences. **Nature Publishing Group**, p. 1-7. 2001.

HANANI, ZA Nur; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International journal of biological macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014.

HENNINK, W. E.; VAN NOSTRUM, C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 223-236, 2012.

KHAN, S. A.; SCHNEIDER, M. Improvement of Nanoprecipitation Technique for Preparation of Gelatin Nanoparticles and Potential Macromolecular Drug Loading. **Macromolecular Bioscience**, v. 13, p. 455-463, 2013.

LAI, J. Y. Influence of solvent composition on the performance of carbodiimide cross-linked gelatin carriers for retinal sheet delivery. **J Mater Sci: Mater Med**, New York, v. 24, p. 2201- 2210, Mai. 2013.

MA, X.; WU, H.; LIU, L.; YAO, Q.; WANG, S.; ZHAN, R.; XING, S.; ZHOU, Y. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 1, p. 102-107, 2011.

MANGRICH, Antonio S. et al. Química verde no tratamento de águas: uso de coagulante derivado de tanino de *Acacia mearnsii*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 1, p. 2-15, 2013.

MARTINS, A. F., FACCHI, S. P., FOLLMANN, H. D., GEROLA, A. P., RUBIRA, A. F., & MUNIZ, E. C. Shielding effect of 'surface ion pairs' on physicochemical

and bactericidal properties of N, N, N-trimethyl chitosan salts. **Carbohydrate research**, v.402, p.252-260, 2015.

MARTINS, A. F.; FACCHI, S. P. ; FOLLMANN, H. ; PEREIRA, A. G. B. ; Rubira, F. A ; Muniz, C. E . Antimicrobial Activity of Chitosan Derivatives Containing N-Quaternized Moieties in Its Backbone: A Review. **International Journal of Molecular Sciences (Online)**, v. 15, p. 20800-20832, 2014.

MATTOSO, L. H. C.; AOUADA, F. A.; MUNIZ, E. C.; VAZ, C. M. P. Correlação entre parâmetros da cinética de intumescimento com características estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de poli(acrilamida) e metilcelulose. **Química Nova**, vol. 32, n. 6, p. 1482-1990, 2009.

OLIVEIRA, Ana Paula Ramos de. Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo do processo de reticulação. 2013. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**.

SALAZAR, M. J. C. Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana-gelatina e quitosana-colágeno visando a liberação de fármacos. **Doctoral dissertation**, 117 páginas, Universidade de São Paulo, 2015.

SANTOS, T. M. Influência de nanocristais de celulose sobre as propriedades de filmes de gelatina de resíduos de tilápia. **Dissertação de Mestrado** - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, 2012.

SILVA, T. S. SANTANA. Estudo de Tratabilidade Físico-Química com Uso de Taninos Vegetais em Água de Abastecimento e de Esgoto. 1999. 87 f. **Dissertação (Mestrado)** – Programa de Pós-graduação de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 1999.

SILVA, R. S. G.; BANDEIRA, S. F.; PETRY, F. C.; PINTO, L. A. A. Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, p. 904-909, 2011.

SOMACAL. **Plantas e Flores**. Disponível em: <<http://www.somacalplantas.com.br/pdf/acacianegra.pdf>>. Acesso em: mar. 2017.

SOUSA C.M., SILVA H.R.E., VIEIRA-JR G.M, AYRES M.C.C., COSTA C.L.S., ARAÚJO D.S., CAVALCANTE L.C.D., BARROS E.D.S., ARAÚJO P.B.M., BRANDÃO M.S., CHAVES M.H.. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim Nova** 30: 351-355, 2007.

ZIEGLER, Fabiane La Flor; SGARBIERI, Valdemiro Carlos. Chemical-nutritional characterization of a whey protein isolate, a bovine collagen hydrolysate and mixtures of the two products. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 61-70, 2009.