

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ROBSON SCHIMANDEIRO NOVAK

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE QUITOSANA
INCORPORADO COM NANOPARTICULAS DE PRATA, PRODUZIDAS POR
SÍNTESE VERDE, A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DE GENGIBRE

PONTA GROSSA

2019

ROBSON SCHIMANDEIRO NOVAK

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE QUITOSANA
INCORPORADO COM NANOPARTICULAS DE PRATA, PRODUZIDAS POR
SÍNTESE VERDE, A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DE GENGIBRE

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de mestre no Programa de Pós-
graduação de Ciências Farmacêuticas da
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Dra. Josiane de Fátima Padilha de
Paula.

PONTA GROSSA

2019

N935 Novak, Robson Schimandei
Desenvolvimento e caracterização de filme de quitosana incorporado com nanopartículas de prata, produzidas por síntese verde, a partir do extrato aquoso de gengibre / Robson Schimandei Novak. . Ponta Grossa, 2019. 35 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Josiane de Fátima Padilha de Paula.

1. Agnps. 2. Nanotecnologia. 3. Gengibre. 4. Zingiber officinale. 5. Síntese verde. I. Paula, Josiane de Fátima Padilha de. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 615

Ponta Grossa, 28 de fevereiro de 2019.

ATA DE EXAME DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS-ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÁRMACOS, MEDICAMENTOS E BIOCÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA NÚMERO 07/2019 DO MESTRANDO **ROBSON SCHIMANDEIRO NOVAK** REALIZADA NO DIA 28 DE FEVEREIRO DE 2019, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Aos vinte e oito dias de fevereiro de dois mil e dezenove, às 14h00min, no auditório do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – sala 115 - Bloco M, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) em sessão pública sob a presidência do Professora Doutora Josiane de Fátima Padilha de Paula reuniu-se a Banca Examinadora de exame de defesa de dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do mestrando Robson Schimandei Novak na linha de pesquisa: Desenvolvimento e Controle de Fármacos, Medicamentos e Correlatos, constituída pelos Professora Doutora Josiane de Fátima Padilha de Paula (UEPG/PR), demais Doutores (membros titulares): Patrícia Mathias Döll Boscardin (UEPG/PR) e Vanessa Jasinski (CESCAGE/PR). Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem o exame de defesa de dissertação de Mestrado e definiu - se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição.

O título do trabalho foi: **“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM FILME DE QUITOSANA INCORPORADO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA E ZINGIBER OFFICINALE (ROSC.).”**

Encerrado a defesa, a banca pronunciou-se APROVADA a dissertação, considerado como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. O aluno deverá entregar, no prazo de até 30 dias, a versão definitiva da dissertação de Mestrado, com as modificações sugeridas pelos membros da banca examinadora. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Observações (se necessário): APROVAÇÃO ESTA CONDICIONADA ÀS CORREÇÕES SUGERIDAS

Alteração de título: sim ☒ não ☐

Novo título: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE QUITOSANA INCORPORADO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA, PRODUZIDAS POR SÍNTESE VERDE, A PARTIR DO EXTRATO AQUECIDO DE ZINGIBER.

Josiane de Fátima Padilha de Paula 1 - (DEFAR - UEPG) Presidente

Patrícia Mathias Döll Boscardin 2 - (DEFAR - UEPG) – Titular

Vanessa C. G. Jasinski
Vanessa Jasinski 3 - (FARMÁCIA - CESCAGE) – Titular

Dedico este trabalho ao meu pai Admar (*in memoriam*),
à minha mãe Sheila e à minha irmã Larissa,
pelo amor incondicional e apoio.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me manter saudável física e mentalmente, me amparando e abençoando a cada dia para vencer os desafios e cuidando das pessoas que eu amo, para eu me focar no trabalho.

Ao meu pai Admar sempre pelo apoio, ajuda e conselhos.

À minha mãe por sempre estar do meu lado me apoiando e incentivando na caminhada de cada dia.

À minha irmã, por sempre estar comigo, mesmo distante, me alegrando e dando disposição para enfrentar os desafios do dia a dia.

A minha família, por todos os esforços, incentivos, orações, paciência, compreensão e pelo amor incondicional.

À minha orientadora, Prof. Dra. Josiane Padilha de Paula, por me proporcionar a oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa, sempre me auxiliando e respondendo as dúvidas para que a realização deste trabalho fosse possível. Também pela amizade, companheirismo, conselhos, sempre alegre e demonstrando confiança.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pelos ensinamentos e exemplo profissional.

Aos meus amigos.

Aos colegas de laboratório, em especial, a Ana Cristina pelos conselhos, à Bárbara pela ajuda e oportunidade de realização de experimentos, ao Joel pela ajuda, atenção, amizade e companheirismo, à Natália pela amizade e ajuda e à Rosana pela amizade, conhecimento compartilhado, colaboração e confiança.

À Miriam, técnica do laboratório pela paciência e compreensão.

Ao Complexo de Laboratórios Multiusuários, da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

À CAPES, pelo suporte financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A perda de integridade da pele pode ser devida a fatores como traumas, intervenções cirúrgicas e feridas crônicas. A sua cicatrização é um processo dinâmico, interativo e difícil, que pode, ainda, ser comprometido ou até inibido por infecções bacterianas. A maioria das lesões cutâneas cicatriza naturalmente, entretanto, feridas graves necessitam de tratamento, no qual são utilizados os curativos. Um curativo ideal deve adaptar-se à superfície de aplicação, impedir a desidratação e a penetração de microrganismos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um filme polimérico incorporado com nanopartículas de prata produzidas por síntese verde através do extrato aquoso de gengibre (*Zingiber officinale*) com a finalidade de auxiliar no processo de reparo de feridas cutâneas. Foram produzidas nanopartículas de prata, a partir do extrato aquoso de gengibre, e exposição à luz artificial. O filme polimérico foi preparado pelo método de *casting*, ao qual foi incorporado as nanopartículas de prata. Os filmes poliméricos e as nanopartículas de prata foram caracterizados. A análise visual das amostras e a espectrometria de UV-vis mostraram que houve a formação de nanopartículas de prata no tempo de 42 minutos de exposição à luz artificial; as nanopartículas obtidas apresentaram tamanho médio de 92,6 nm; índice de polidispersão de 0,196; potencial zeta de 24,7 e pH 6. O filme produzido se apresentou flexível, com superfície lisa e espessura de 207 μm , com tensão média de deformação de 1.8180N/mm² e uma deformação média de 26.4621. Foi possível concluir que o filme polimérico incorporado com as AgNPs, se apresentou com características semi-oclusivas, com boa capacidade de absorção de exsudato e com propriedades mecânicas adequadas, sendo, portanto, adequados para aplicação como curativo no tratamento de feridas abertas, limpas.

Palavras chave: AgNPs, nanotecnologia, gengibre, *Zingiber officinale*, síntese verde.

ABSTRACT

Loss of skin integrity may be due to factors such as trauma, surgical interventions and chronic wounds. Its cicatrization is a dynamic, interactive and difficult process, that can still be compromised or even inhibited by bacterial infections. Most skin lesions heal naturally, however, serious wounds require treatment, in which dressings are used. An ideal dressing should adapt to the application surface, prevent dehydration and penetration of microorganisms. In this way, the objective of this work was to develop a polymeric film incorporated with silver nanoparticles produced by green synthesis with the purpose of assisting in the process of repair of cutaneous wounds. Silver nanoparticles were produced from the aqueous extract of ginger and exposure to artificial light. The polymer film was prepared by the casting method, to which the silver nanoparticles were incorporated. Polymer films and silver nanoparticles were characterized. Visual analysis of samples and UV-vis spectrometry showed that silver nanoparticles were formed within 42 minutes of exposure to artificial light; the nanoparticles obtained had an average size of 92.6 nm; polydispersity index of 0.196; The film produced was flexible, with a smooth surface and a thickness of 207 μm , with a mean strain strain of 1.8180 N/mm^2 and a mean strain of 26.4621. It was possible to conclude that the polymeric film incorporated with the AgNPs presented with semi-occlusive characteristics, good exsudate absorption capacity and with adequate mechanical properties and are therefore suitable for application as a dressing in the treatment of open, clean wounds.

Keywords: AgNPs, nanotechnology, ginger, *Zingiber officinale*, green synthesis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 REAGENTES	12
3.2 MÉTODOS	12
3.2.1 Desenvolvimento das Nanopartículas de Prata (AgNPs)	12
3.2.2 Caracterização	14
3.2.2.1 Avaliação da variação de cor na amostra	14
3.2.2.2 Análise por espectroscopia uv-vis	14
3.2.2.3 Medida do diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão, potencial zeta e pH	15
3.2.2.4 Análise morfológica de superfície	15
3.2.2.5 Desenvolvimento do filme polimérico de quitosana incorporado com AgNPs	15
3.2.2.6 Avaliação morfológica e de espessura	16
3.2.2.7 Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes obtidos	17
3.2.2.8 Determinação da porosidade, do grau de inchamento e da taxa de transmissão de vapor de água dos filmes obtidos	17
3.2.2.8.1 Porosidade	17
3.2.2.8.2 Grau de inchamento	18
3.2.2.8.3 Taxa de transmissão de vapor de água	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 OBTENÇÃO DAS AGNPS COM EXTRATO AQUOSO DE GENGIBRE	20
4.1.1 Análise Visual das Suspensões de Nanopartículas	20
4.1.2 Espectroscopia de Ultravioleta	20
4.1.3 Medida do Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersão, Potencial Zeta e pH	21

4.1.4 Análise Morfológica de Superfície	22
4.2 FILME POLIMÉRICO	23
4.2.1 Inspeção Visual e Tátil do Filme Polimérico	23
4.2.2 Avaliação da Morfologia e da Espessura dos Filmes	24
4.2.3 Avaliação das Propriedades Mecânicas dos Filmes	24
4.2.4 Porosidade, Grau de Inchamento e Taxa de Transmissão de Vapor de Água dos Filmes	27
5 CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo com capacidade de autorrenovação que, quando íntegra, atua como uma barreira, protegendo os órgãos internos da desidratação, de microrganismos patogênicos, de impactos mecânicos e de danos por agentes físicos e químicos. Ela ainda proporciona sustentação aos vasos sanguíneos e nervos, participa do controle da temperatura corporal, da vigilância imunológica e do processo de detecção sensorial (MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015; MUIZZUDDIN *et al.*, 2010; RADNER; FISCHER, 2014; SHAHZAD *et al.*, 2015).

A perda de sua integridade pode ser devida a traumas, intervenções cirúrgicas, feridas crônicas, doenças genéticas e envelhecimento (ANTUNES *et al.*, 2015; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015). A cicatrização da pele é um processo dinâmico, interativo e difícil, que envolve vários tipos de células, moléculas da matriz extracelular (MEC) e mediadores solúveis (CARDOSO *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2012). Infecções bacterianas podem comprometer e até inibir este processo (DE CICCIO *et al.*, 2014; KIM, J. *et al.*, 2015).

A maioria das lesões cutâneas cicatriza naturalmente. No entanto, feridas graves necessitam de tratamento, no qual são utilizados os curativos. Um curativo ideal deve ser biocompatível, biodegradável e não aderente; adaptar-se à superfície de aplicação; facilitar o desbridamento; absorver exsudatos; impedir a desidratação e a penetração de microrganismos; e, permitir o crescimento de células, trocas gasosas e isolamento térmico (ABDELRAHMAN; NEWTON, 2011; MOGOŞANU; GRUMEZESCU, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2013; SUNG *et al.*, 2010; VOWDEN, 2014).

A quitosana é um polímero natural amplamente utilizado na produção de curativos, devido, principalmente, às suas atividades cicatrizante e antimicrobiana (CALVO *et al.*, 1997; DELLERA *et al.*, 2014; GIOVINO *et al.*, 2012; HERMANS *et al.*, 2014; HOSSEINI *et al.*, 2013; KIM, K. *et al.*, 2011; LIN *et al.*, 2013; MENG *et al.*, 2010). Entretanto, macromoléculas naturais apresentam baixa resistência mecânica se comparadas aos polímeros sintéticos. A atividade antimicrobiana da quitosana pode ser melhorada com o aumento do número de grupos carregados positivamente em sua cadeia (ANTUNES *et al.*, 2015) e, sua atividade cicatrizante pode ser potencializada pela adição, em seus filmes, de ativos como os ácidos graxos insaturados (BONFERONI *et al.*, 2014; CARDOSO *et al.*, 2004 e 2011; TRAN; TRAN; LEE, 2013).

A nanoencapsulação protege os ativos da degradação e permite sua liberação controlada e direcionada, o que aumenta a eficácia do tratamento (GIOVINO *et al.*, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2013). Por meio deste processo, também é possível incorporar ativos lipofílicos em matrizes hidrofílicas (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; TRAN; TRAN; LEE, 2013).

Desta forma o objetivo deste foi desenvolver e caracterizar nanopartículas de prata, sintetizadas pelo extrato aquoso de *Zingiber officinale* (Roscoe) e incorporadas a um filme polimérico para o tratamento de lesões cutâneas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver e caracterizar nanopartículas de prata, sintetizadas pelo extrato aquoso de *Zingiber officinale* (Roscoe) para a incorporação em um filme polimérico com o intuito de tratar lesões cutâneas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver nanopartículas de prata utilizando o extrato aquoso de gengibre como agente redutor;
- Caracterizar as nanopartículas de prata obtidas;
- Desenvolver um filme polimérico de quitosana;
- Incorporar as nanopartículas de prata no filme polimérico;
- Caracterizar os filmes poliméricos obtidos;
- Avaliar as propriedades mecânicas dos filmes obtidos;
- Determinar a porosidade, o grau de inchamento e a taxa de transmissão de vapor dos filmes escolhidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 REAGENTES

- Ácido acético glacial (Biotec – São Paulo, Brasil);
- Ácido oleico (Dinâmica – Diadema, Brasil);
- Água destilada (Laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica, Universidade Estadual de Ponta Grossa – Ponta Grossa, Brasil);
- Álcool etílico 95% P.A. (Neon – São Paulo, Brasil);
- Cloreto de potássio P.A. (Vetec – Duque de Caxias, Brasil);
- Cloreto de sódio P.A. (Vetec – Duque de Caxias, Brasil);
- Fosfato de potássio monobásico anidro P.A. (Synth – Diadema, Brasil);
- Fosfato de sódio dibásico anidro P.A. (Synth – Diadema, Brasil).
- Gengibre fresco (Produzido por Fernandes & Fernandes Ltda/ Rod. BR116, 22881 km-110 CEASA-PR, Pav D 228/229 – Tutuquara
- Glicerina (Biotec – São Paulo, Brasil);
- Lâmpada JBL modelo TROPIC ULTRA T5 24W 55CM 4000K
- Nitrato de Prata 99,8% (BIOTEC, São Paulo, Brasil);
- Poli(álcool vinílico) (Sigma-Aldrich – São Paulo, Brasil);
- Polilisina (Zhengzhou Sigma Chemical – Zhengzhou, China);
- Quitosana (Sigma-Aldrich – São Paulo, Brasil);

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Desenvolvimento das Nanopartículas de Prata (AgNPs)

Foram produzidas nanopartículas de prata pela técnica de síntese verde utilizando o extrato aquoso de gengibre e fotoredução artificial, com o auxílio de uma lâmpada JBL modelo TROPIC ULTRA T5 24W 55CM 4000K.

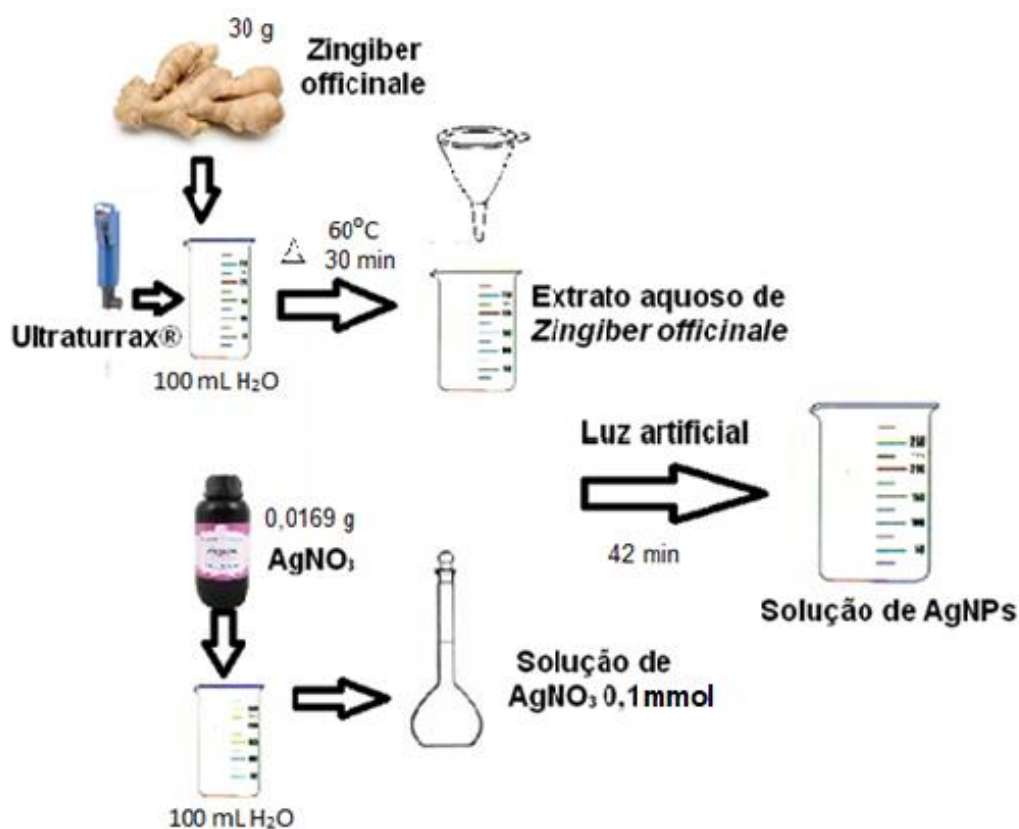
O extrato aquoso de gengibre foi preparado triturando-se 30g de gengibre fresco com casca, com 100 mL de água destilada em Ultra turrax® (IKA, modelo T18 Basic). O extrato obtido foi aquecido até 60 °C e mantido sob agitação para decocção, por um período de 30 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o extrato foi filtrado em papel filtro e acondicionado em frasco âmbar, à 4 °C.

Para a preparação da solução de nitrato de prata (AgNO_3) 1 mmol, foi pesado 0,0169g de AgNO_3 e transferido para um balão volumétrico de 100 mL, e completado com água destilada até volume final.

A produção das nanopartículas de prata foi conduzida por síntese verde, adicionando-se 10 mL da solução de AgNO_3 1 $\text{mmol}^{-\text{L}}$, em 40 mL do extrato aquoso de gengibre, seguida da exposição à luz de espectro integral produzida por lâmpada JBL.

O tempo de exposição da solução contendo AgNO_3 /extrato de gengibre à luz de espectro integral foi avaliado em duas etapas. Na primeira etapa foram avaliados nos intervalos (em minutos): 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60. A cada intervalo foi realizada a inspeção visual, para verificar a mudança de cor indicativa da formação de AgNPs. Após esta definição, foi realizada uma segunda etapa, nos tempos (minutos) 40, 41, 42, 43, 44 e 45, quando foi feita a leitura da absorbância em UV-Vis para determinação do melhor tempo de exposição para a redução da prata à AgNPs. O método está ilustrado na FIGURA 1.

Figura 1 - Método de síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de *Zingiber officinale* (Roscoe)



Fonte: O autor

3.2.2 Caracterização

3.2.2.1 Avaliação da variação de cor na amostra

Para verificar a formação das AgNPs, foi realizada uma inspeção visual nas amostras, para identificar a mudança de cor de amarelo para marrom.

3.2.2.2 Análise por espectroscopia uv-vis

A redução de íons de prata à AgNPs foi avaliada em um espectrofotômetro UV-VIS NIR VARIAN CARY 50. Após a exposição a cada intervalo de tempo, as amostras foram colocadas, sem diluições, nas cubetas de quartzo e as leituras foram realizadas na faixa de 200-800 nm. O branco foi calibrado com água destilada.

3.2.2.3 Medida do diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão, potencial zeta e pH

O diâmetro hidrodinâmico (DH) das suspensões de AgNPs e o índice de polidispersão (IPD) foram analisados em triplicata por espalhamento dinâmico de luz e o potencial zeta (PZ) foi analisado em triplicata por mobilidade eletroforética utilizando o aparelho Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments) 25 °C na concentração final de 1 mmol.L⁻¹. As amostras foram diluídas com água destilada para 0,1 mmol.L⁻¹ para a análise.

O pH foi determinado em phmetro digital (Hanna Instruments), previamente calibrado com tampão 4,0 e 7,0, diretamente na solução das nanopartículas (1 mg. mL⁻¹).

3.2.2.4 Análise morfológica de superfície

A avaliação morfológica e de superfície dos filmes com nanopartículas foi realizada em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo MIRA3, (Tescan). As amostras de AgNPs foram metalizadas com ouro no equipamento SC7620 Mini Sputter Coater. Foi adicionado 10 µL das suspensões no suporte de amostras (stubs) e secas em estufa a 36 °C por 24 h. As amostras de filmes foram cortadas em quadrados de aproximadamente 0,5 x 0,5 cm de filme para esta análise. As micrografias foram obtidas após a visualização das amostras empregando voltagens de aceleração de 15.000 ou 25.000 vezes. O registro das imagens ocorreu por meio do software Tescan. Para o acondicionamento das amostras a serem analisadas, os stubs sofreram um processo de limpeza e descontaminação, sendo colocados no ultrassom por 15 min com acetona e em seguida, mais 15 minutos com álcool 96°GL e secos na estufa a 36 °C.

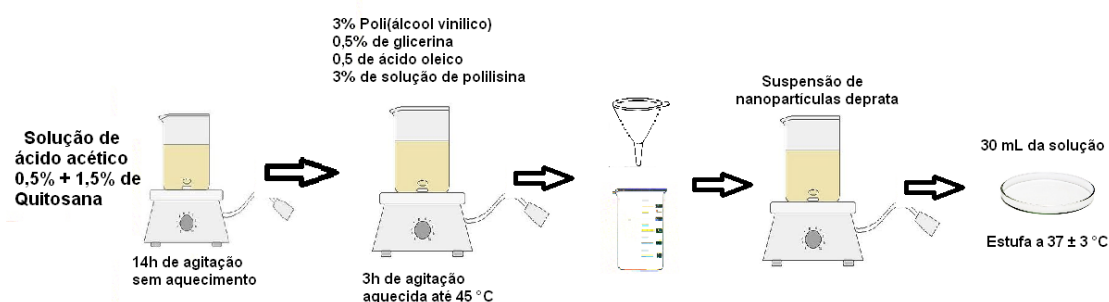
3.2.2.5 Desenvolvimento do filme polimérico de quitosana incorporado com AgNPs

O filme polimérico de quitosana incorporado com AgNPs foi produzido pelo método de evaporação do solvente (*casting*), com adição das AgNPs. Inicialmente foi pesado 1,5 g de quitosana a qual foi adicionada aos poucos a 100 mL de uma solução de

ácido acético a 0,5% (v/v), e mantida sob agitação magnética por 14 horas, sem aquecimento, para a formação de um gel.

Em seguida, foram adicionados 3 mL de uma solução de polilisina a 3% (m/v), 3 mL de uma solução de poli(álcool vinílico) a 3% (m/v), 0,5 mL de glicerina e 0,5 mL de ácido oleico. Esta mistura foi aquecida até 45 °C e mantida sob agitação magnética por 3 horas. Após este período a mistura foi filtrada em papel filtro e resfriada a temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 10% (v/v) da suspensão de AgNPs produzidas e mantido sob agitação magnética por 1 hora, até total incorporação. Um volume de 30 mL desta preparação foi vertido em placas de Petri de polietileno (90x15 mm) e manteve-se as placas em estufa a 37 ± 3 °C para secagem. O tempo total de secagem foi determinado através de pesagem das placas até obter peso constante (aproximadamente 48 horas). Após a secagem, as placas foram deixadas 24h em temperatura ambiente até que ocorresse o desprendimento dos filmes da placa.

Figura 2 – Desenho esquemático do método de produção do filme polimérico de quitosana



Fonte: O autor

3.2.2.6 Avaliação morfológica e de espessura

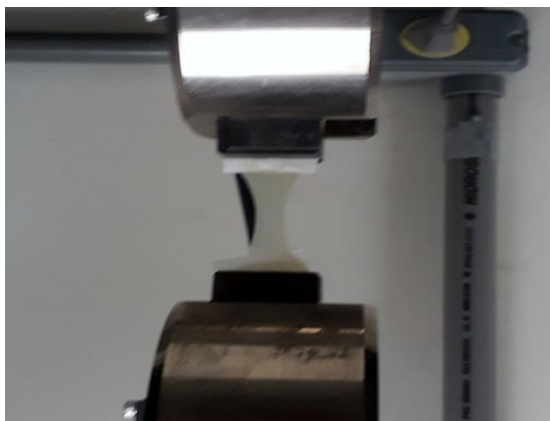
A avaliação morfológica da superfície dos filmes obtidos, bem como a determinação da espessura dos filmes foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura de Efeito de Campo (FEG) (Mira3, TESCAN®). As amostras foram fixadas em suporte metálico e submetidas à metalização à vácuo com ouro-paládio e avaliadas a uma voltagem de aceleração de 10-15 kV.

Para uma análise complementar, a espessura foi também medida por paquímetro (DIGIMESS-100003 de 8 polegadas).

3.2.2.7 Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes obtidos

As propriedades mecânicas dos filmes obtidos foram mensuradas através de ensaios de tração em Máquina Universal de Ensaio Mecânicos (MUEM) (AG-I 10kN, SHIMADZU®). Os filmes foram cortados (20 mm x 8,5 mm), colocados entre garras e tracionados a uma taxa de 5 mm/min. A tensão de ruptura (TR), a deformação até ruptura (DR) e o módulo de Young (MY) foram determinados. Os ensaios foram realizados em triplicata conforme metodologia (LIN et al., 2013). Houve uma preparação das amostras para que pudesse haver o encaixe correto nas garras da máquina. Para isso, os filmes foram cortados e preparados conforme a FIGURA 3.

Figura 3 – Preparação e método de análise de tração dos filmes



Amostra encaixada nas garras do aparelho pronta para a análise

Fonte: O Autor

3.2.2.8 Determinação da porosidade, do grau de inchamento e da taxa de transmissão de vapor de água dos filmes obtidos

3.2.2.8.1 Porosidade

A porosidade (P) dos filmes foi determinada a partir da quantidade de solvente absorvido pelos filmes (2 cm x 2 cm), após 1 h de imersão em etanol, utilizando a seguinte equação, onde, P_u e P_s representam os pesos das amostras úmidas e secas, respectivamente, d_{etanol} a densidade do etanol, e, V_{filme} o volume dos filmes úmidos.

$$(1) P\% = \frac{P_u - P_s}{d_{etanol} V_{filme}} \times 100$$

Os volumes dos filmes úmidos foram determinados através da medida da espessura dos mesmos com um paquímetro. Este teste foi realizado em triplicata (ANTUNES et al., 2015).

3.2.2.8.2 Grau de inchamento

A capacidade de absorção de água dos filmes foi determinada através de um método gravimétrico. Os filmes foram cortados (2 cm x 2 cm) e as suas massas foram medidas. Cada amostra foi imersa em um béquer contendo 20 ml de tampão fosfato salino (TFS) pH 7,4 a 37 °C por 24 h. Os pesos dos filmes úmidos foram medidos em períodos pré-determinados.

O grau de inchamento (GI) foi calculado pela seguinte equação, onde P_u e P_s representam os pesos das amostras úmidas e secas, respectivamente.

$$(2) GI\% = \frac{P_u - P_s}{P_s} \times 100$$

Este teste foi realizado em triplicata (HERMANS et al., 2014; SUNG et al., 2010).

3.2.2.8.3 Taxa de transmissão de vapor de água

A permeação do vapor de água através dos filmes foi avaliada por um método modificado descrito por Antunes e colaboradores (2015) e Lin e colaboradores (2013). Tubos de ensaio de vidro com 1,77 cm² de diâmetro de boca contendo 10 ml de água deionizada foram fechados com os filmes. Uma fita veda rosca foi utilizada para prender os mesmos na abertura dos tubos e assim, impedir a saída de água por qualquer espaço que não fossem os poros dos filmes. Em seguida, os tubos foram pesados e colocados em uma estufa a 37 °C. Tubos não vedados foram utilizados como controle. Em períodos pré-determinados os tubos foram pesados e assim, a

evaporação de água foi determinada. A taxa de transmissão de vapor de água (TTVA) foi calculada pela seguinte equação:

$$(3)TTVA = \frac{P_p}{A}$$

onde P_p é o peso de água perdido por dia e A a área da abertura do tubo. Este teste foi realizado em triplicata.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OBTENÇÃO DAS AGNPS COM EXTRATO AQUOSO DE GENGIBRE

4.1.1 Análise Visual das Suspensões de Nanopartículas

Na inspeção visual, as amostras apresentaram mudança de cor, passando de amarelo para marrom, o que é indicativo da formação de nanopartículas das AgNPs, o que demonstra que a associação do extrato de gengibre e exposição à luz produzida por lâmpada artificial, com espectro na faixa de 200 a 800 nm, foi eficaz.

Na síntese verde empregada para a produção das AgNPs, os constituintes químicos do extrato desempenham duas funções, atuam como agente redutor e como estabilizante. Os grupos funcionais como alcoóis, fenóis e cetônicos promovem a redução do íon metálico e adsorvem na superfície das nanopartículas ligando-se ao metal, proporcionando um recobrimento das mesmas, assim limitando o crescimento e evitando que se agreguem (INGALE et al., 2013).

Neste contexto, os componentes majoritários encontrados no extrato de gengibre, gengirós e gengiberóis, que possuem um alto poder reativo e a capacidade de reduzir nitrato de prata à AgNPs, que ajudam na formação e na estabilização das suspensões de AgNPs.

O tamanho das nanopartículas é afetado principalmente pelo tempo de exposição à luz artificial. (MORAHUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010).

A partir de 45 minutos de exposição, as nanopartículas tenderam a aumentar de tamanho, o que pode ser constatado, também, pelo deslocamento do pico, no ultravioleta, para absorbâncias maiores.

4.1.2 Espectroscopia de Ultravioleta

A Ressonância de superfície plasmática para a prata ocorre entre 400 e 500 nm (ASHRAF,2016), indicando a formação de nanopartículas de prata.

O maior comprimento de onda em que ocorreu a absorção foi em 466 nm, indicando a presença de nanopartículas de prata na suspensão.

A Ressonância de superfície plasmática para a prata ocorre entre 400 e 500 nm (ASHRAF,2016), indicando a formação de nanopartículas de prata.

O gráfico indica que há poucas AgNPs formadas em 41 minutos de reação pela baixa absorbância. Com o passar do tempo de reação, há um aumento na quantidade de AgNPs formadas, até que se chega em um tempo ótimo, onde ocorre a formação total de AgNPs em 42 minutos.

Consta na literatura uma diversidade de espectros de ressonância plasmônica superficial (RPS) de nanopartículas de prata na região visível e as colorações das soluções vão de amarelo até azul (MARTINEZ; ZUÑIGA; SANCHEZ, 2013). Além disso, a cor das soluções das nanopartículas de metal nobre indica a sua forma e o tamanho, e ocorre devido à dependência morfológica da ressonância plasmônica de superfície localizada (TANG et al., 2013, 2014).

Assim, considerando os resultados do espectro obtido por UV-vis, pode-se concluir que o melhor tempo de exposição foi de 42 minutos. De posse deste resultado, os demais testes de caracterização foram realizados com as AgNPs produzidas neste tempo de exposição.

4.1.3 Medida do Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersão, Potencial Zeta e pH

As AgNPs apresentaram tamanho médio de 92,6 nm, correspondente a 99,9% da população total.

O índice de polidispersão foi de 0,196, nos mostrando que há uma homogeneidade no tamanho das AgNPs obtidas. (TRAN; TRAN; LEE, 2013; CALVO *et al.*, 1997). Suspensões de nanopartículas, em geral, são compostas por populações com tamanhos variados e, a sua distribuição é avaliada pelo índice de polidispersão (IPD), que varia de 0 (homogênea) a 1 (heterogênea) (BONFERONI *et al.*, 2014). Valores de IP $\leq 0,2$ indicam adequadas distribuições (TRAN; TRAN; LEE, 2013; CALVO *et al.*, 1997).

O potencial zeta obtido para as AgNPs produzidas foi de -24,7 mV, estes valores sugerem que as AgNPs obtidas tendem a ser estáveis. Matos *et al.* (2014), sugeriram que valores entre ± 25 e ± 30 mV garantem uma boa estabilidade elétrica. Já, Neves et al. (2013) relataram que partículas que apresentam valores de potencial

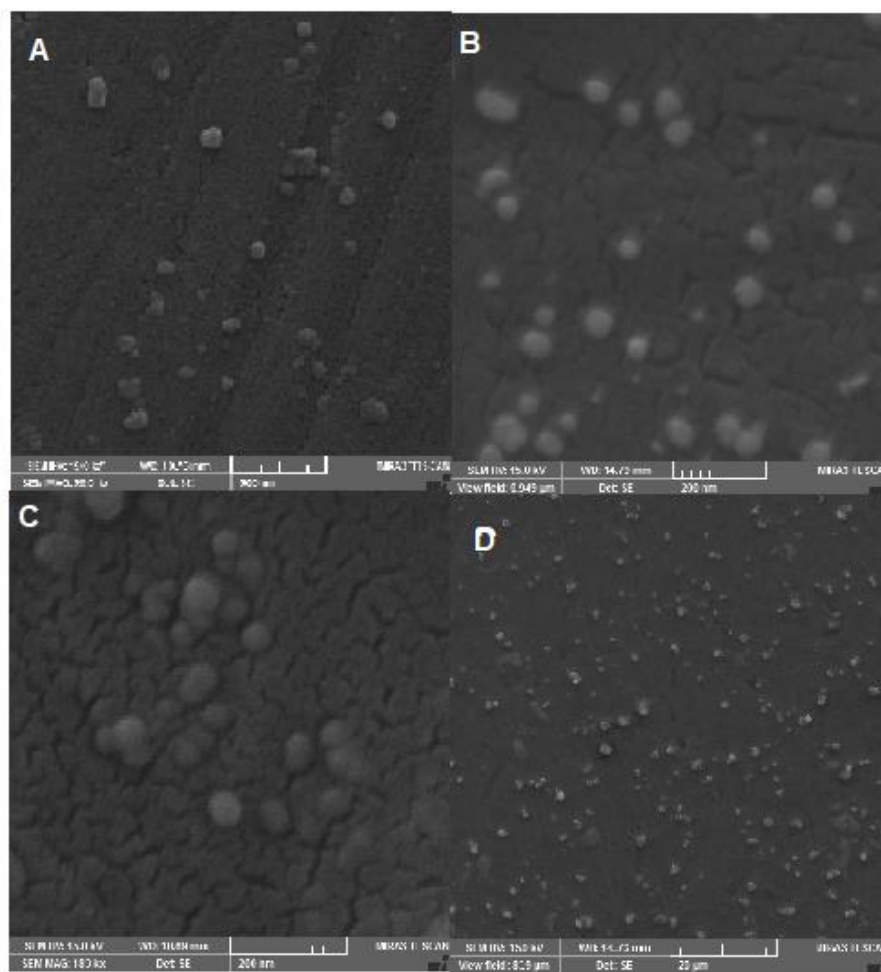
zeta absolutos próximos a $|\pm 30|$ mV podem ser consideradas estáveis, enquanto partículas com potencial zeta de 0 a 5 mV floculam facilmente, sendo, portanto, muito instáveis.

A suspensão de AgNPs apresentou um valor 6 de Ph com leitura em Phmetro. A leve acidez do pH explica o bom resultado obtido nas análises de potencial zeta, segundo SUNG, *et. al.*, 2010, suspensões de nanopartículas metálicas obtidas por síntese verde tendem a possuir maior estabilidade e bons resultados de potenciais zeta quando se mantém o pH entre 6,2 e 6,9.

4.1.4 Análise Morfológica de Superfície

Conforme pode ser observado na Figura 4, as AgNPs obtidas apresentaram formato esférico, com distribuição homogênea e sem formação de agregados, confirmando a tendência apresentada pelos valores de tamanho (diâmetro) e do índice de polidispersão.

Figura 4 – AgNPs obtidas por síntese verde com extrato aquoso de *Zingiber officinale* (Roscoe)



Aumento das imagens: A) 59k x; B) 45k x; C) 83k x e D) 165k x

Fonte: O autor

4.2 FILME POLIMÉRICO

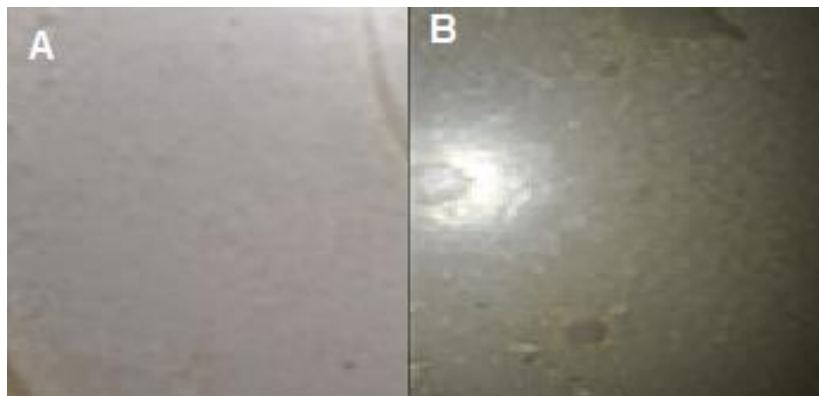
4.2.1 Inspeção Visual e Tátil do Filme Polimérico

O filme obtido se mostrou transparente com superfície lisa e flexível, o que sugere homogeneidade na mistura dos componentes. A este filme foram incorporadas as AgNPs produzidas anteriormente. Não se observou alterações no padrão visual do filme contendo as AgNPs, entretanto, pôde-se constatar que o filme contendo AgNPs apresentou-se ligeiramente menos rígido.

Segundo Sobral (1999), nos processos de produção do tipo *casting*, onde ocorre a secagem por evaporação de solvente, o controle de espessura dos filmes se

torna mais difícil quando se trabalha com solução filmogênica viscosa, devido à dificuldade de espalhar esse material.

Figura 5 – Imagens dos filmes produzidos sem AgNPs (a) e com AgNPs incorporadas (b)



Fonte: O Autor

4.2.2 Avaliação da Morfologia e da Espessura dos Filmes

A avaliação morfológica da superfície dos filmes obtidos foi realizada por FEG. Devido aos filmes terem se mostrado sensíveis à alta tensão aplicada durante o teste, foi necessária a aplicação de baixa tensão para preservar o material polimérico. A espessura média dos filmes foi de 207 μm .

Os filmes poliméricos apresentam várias AgNPs em sua superfície, comprovando a incorporação das nanopartículas nos filmes poliméricos.

4.2.3 Avaliação das Propriedades Mecânicas dos Filmes

Um filme para o tratamento de feridas deve ser forte para resistir à tração, mas flexível para facilitar a aplicação. Para investigar as propriedades mecânicas dos filmes os valores de tensão, deformação e Módulo de Young foram determinados por testes de tração (KIM, J. *et al.*, 2015; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015) e estão mostrados na TABELA 1.

O pequeno tamanho das moléculas de um plastificante permite que ele ocupe os espaços entre as cadeias dos polímeros, formando com eles ligações de hidrogênio e assim, interrompendo as ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares entre suas cadeias. Portanto, a adição de glicerina às formulações levou a uma

redução das forças intermoleculares entre as cadeias da quitosana, o que confere flexibilidade aos filmes e aumenta sua espessura. Geralmente, a presença de plastificantes resulta em uma diminuição da tensão e em um aumento da deformação.

Tabela 1 – Propriedades mecânicas dos filmes incorporados com AgNPs obtidos

(continua)

Filme	Tensão (N/mm ² ± SD*)	Deformação	Módulo de Young (N/mm ² ± SD*)
FN1	2.265 ± 0.407	45.02 ± 14.082	5,32 ± 1,582
FN2	1.690 ± 0.528	25.105 ± 0.445	3,66 ± 0,162
FN3	0.943 ± 0.756	24.475 ± 11.479	7,24 ± 0,119
FN4	2.012 ± 0.588	40.71 ± 7.481	7,03 ± 1,901
FN5	1.181 ± 0.292	30.13 ± 17.315	2,44 ± 0,520
FN6	1.593 ± 0.139	54.617 ± 9.558	0,90 ± 0,167
FN7	1.396 ± 0.301	41.1 ± 8.743	1,52 ± 0,097
FN8	0.971 ± 1.160	28.735 ± 11.876	1,53 ± 0,268
FN9	2.612 ± 0.820	45.53 ± 5.073	5,32 ± 1,582
FN10	1.453 ± 0.283	52.705 ± 7.103	2,68 ± 0,558
FN11	1.053 ± 0.040	42.66 ± 9.238	2,67 ± 0,219
FN12	0.996 ± 1.602	29.595 ± 3.403	42,35 ± 14,520
FN13	3.262 ± 0.241	24.7825 ± 4.669	137,06 ± 37,152
FN14	3.603 ± 1.107	31.385 ± 15.220	106,14 ± 40,970
FN15	2.037 ± 0.407	9.86 ± 13.835	30,82 ± 12,002
FN16	2.612 ± 1.061	29.425 ± 1.340	73,70 ± 70,703
FN17	4.112 ± 0.031	27.53 ± 1.397	29,50 ± 86,392
FN18	4.068 ± 0.678	29.505 ± 2.341	1,70 ± 0,178
FN19	3.109 ± 0.849	26.195 ± 10.451	1,77 ± 0,174
FN20	1.909 ± 0.340	11.415 ± 1.292	2,95 ± 0,446
FN21	2.390 ± 0.343	9.587 ± 0.497	2,03 ± 0,233
FN22	1.906 ± 0.473	10.290 ± 2.988	30,82 ± 12,003
FN23	2.575 ± 0.086	14.515 ± 2.026	73,70 ± 70,704
FN24	2.4533 ± 0.757	11.650 ± 10.416	29,50 ± 86,393
FN25	1.3827 ± 0.052	26.380 ± 1.333	1,70 ± 0,179
FN26	1.456 ± 0.182	28.265 ± 2.832	1,77 ± 0,175
FN27	1.198 ± 0.093	24.260 ± 1.439	2,95 ± 0,447
FN28	1.329 ± 0.540	26.295 ± 9.281	2,03 ± 0,234
FN29	2.093 ± 0.371	39.420 ± 8.202	30,82 ± 12,004
FN30	1.568 ± 0.035	27.820 ± 7.814	73,70 ± 70,705
FN31	1.618 ± 0.021	38.870 ± 8.577	29,50 ± 86,394
FN32	1.589 ± 0.007	26.740 ± 0.537	1,70 ± 0,180
FN33	1.578 ± 0.036	25.980 ± 1.312	1,70 ± 0,180

Tabela 1 – Propriedades mecânicas dos filmes incorporados com AgNPs obtidos

(conclusão)

Filme	Tensão (N/mm ² ± SD*)	Deformação	Módulo de Young (N/mm ² ± SD*)
FN34	1.629 ± 0.079	27.835 ± 1.418	1,77 ± 0,176
FN35	1.518 ± 0.014	25.830 ± 0.488	2,95 ± 0,448
FN36	1.498 ± 0.086	25.140 ± 0.735	2,03 ± 0,235
FN37	1.619 ± 0.116	26.180 ± 0.997	30,82 ± 12,005
FN38	1.783 ± 0.167	27.590 ± 1.442	73,70 ± 70,706
FN39	1.548 ± 0.326	25.550 ± 2.620	29,50 ± 86,395
FN40	1.087 ± 0.280	21.845 ± 2.500	1,70 ± 0,181
FN41	1.482 ± 0.141	25.380 ± 0.537	1,70 ± 0,181
FN42	1.682 ± 0.035	26.140 ± 0.021	1,77 ± 0,177
FN43	1.732 ± 0.459	26.110 ± 0.099	2,95 ± 0,449
FN44	1.083 ± 0.448	25.970 ± 3.316	2,03 ± 0,236
FN45	1.717 ± 0.024	21.280 ± 2.708	30,82 ± 12,006
FN46	1.683 ± 0.074	25.110 ± 0.488	73,70 ± 70,707
FN47	1.787 ± 0.091	24.420 ± 1.273	29,50 ± 86,396
FN48	1.659 ± 0.021	26.220 ± 0.163	1,70 ± 0,182
FN49	1.689 ± 0.075	25.99 ± 1.715	1,70 ± 0,182
FN50	1.582 ± 0.100	28.415 ± 2.478	1,77 ± 0,178
FN51	1.724 ± 0.036	24.910 ± 1.471	2,95 ± 0,450
FN52	1.776 ± 0.132	26.990 ± 0.339	2,03 ± 0,237
FN53	1.589 ± 0.346	26.510 ± 0.354	30,82 ± 12,007
FN54	1.099 ± 0.296	26.010 ± 1.039	73,70 ± 70,708
FN55	1.518 ± 0.226	27.480 ± 1.167	29,50 ± 86,397
FN56	1.837 ± 0.060	25.830 ± 0.442	1,70 ± 0,183
FN57	1.752 ± 0.002	26.455 ± 0.152	1,70 ± 0,183
FN58	1.749 ± 0.031	26.670 ± 0.460	1,77 ± 0,179
FN59	1.793 ± 0.071	26.020 ± 1.312	2,95 ± 0,451
FN60	1.692 ± 0.030	24.165 ± 1.595	2,03 ± 0,238
FN61	1.649 ± 0.047	26.420 ± 0.311	30,82 ± 12,008
FN62	1.716 ± 0.669	25.980 ± 8.771	73,70 ± 70,709

*Desvio padrão dos valores calculados para 3 diferentes amostras de cada filme

Fonte: O autor

No entanto, altas concentrações de plastificantes higroscópicos, como a GLI, aumentam a umidade nos filmes e o efeito do plastificante não é adequado (GIOVINO *et al.*, 2012; HERMANS *et al.*, 2014; VIEIRA *et al.*, 2011). Além dos plastificantes, a adição de polímeros sintéticos, como o PVA, aumenta a resistência dos filmes, melhorando assim suas propriedades mecânicas (MOGOŞANU; GRUMEZESCU, 2014).

O Módulo de Young é a medida da rigidez dos materiais e representa a máxima tensão que o material suporta sem sofrer deformação permanente. É uma propriedade intrínseca dependente da composição química, da microestrutura e de defeitos. O Módulo de Young da pele varia entre 4,6 e 20 MPa, para ensaios de tração, e, varia de acordo com a idade, a cor da pele, lesões e genética (GIOVINO *et al.*, 2012; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015).

Portanto, segundo Antunes *et al.*, 2015, que obteve filmes semelhantes com tensão média de 1.711 N/mm² e deformação média de 27.5644 e os considerou como ideias para aplicações cutâneas, podemos considerar os filmes produzidos como ideais para as aplicações propostas, por se mostrarem resistentes com uma média de tensão de 1.8180 N/mm² e uma deformação média de 26.4621.

4.2.4 Porosidade, Grau de Inchamento e Taxa de Transmissão de Vapor de Água dos Filmes

A presença de poros em filmes é importante porque permite a infiltração e a proliferação celular e, trocas gasosas, de nutrientes e fluidos, que são parâmetros essenciais para uma cicatrização tecidual adequada. Taxas de Porosidade entre 60 – 90% são recomendadas (ANTUNES *et al.*, 2015; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015). Os filmes obtidos apresentaram uma taxa de porosidade média de 63,1%.

A TTVA de filmes depende das suas propriedades estruturais (espessura e porosidade), bem como das propriedades químicas dos materiais de que eles são feitos. A TTVA também pode ser influenciada por condições externas, como temperatura e umidade relativa do ambiente. A pele intacta funciona como uma barreira à perda de água e, uma vez danificada, esta e outras funções são perdidas.

A TTVA da pele normal é de 2040 ml/m²/dia e da pele lesada varia bastante, desde 2790 ml/m²/dia em uma queimadura de primeiro grau a 5138 ml/m²/dia em feridas de granulação (LIN *et al.*, 2013; MENG *et al.*, 2010; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015; VOWDEN, 2014).

Uma TTVA de 2000-2500 ml/m²/dia proporciona um nível adequado de umidade na lesão. Uma TTVA superior leva à desidratação e a uma possível fixação do curativo à ferida, produzindo cicatrizes. Uma TTVA inferior acumula exsudado, o

que leva à maceração do tecido saudável circundante e à indução de dor, retardando o processo de cicatrização (ANTUNES et al., 2015; SUNG et al., 2010).

Os filmes apresentaram TTVA média igual a 2084,2 ml/m²/dia.

Além disso, este mesmo perfil foi observado por Zhang (2012) e esta diferença na TTVA também pode ser explicada pelos diferentes efeitos que cada tempo de secagem em estufa provoca na estrutura dos filmes.

O grau de inchamento depende da resistência da estrutura da matriz ao movimento das moléculas de água. Um elevado número de ligações de hidrogênio entre as moléculas da matriz resulta na formação de uma estrutura fortemente reticulada, que resiste à penetração da água. A capacidade de inchamento da quitosana é atribuída à sua natureza hidrofílica. Seus grupos hidroxila e amino têm a capacidade de interagir com as moléculas de água (HERMANS et al., 2014; KIM, J. et al., 2015).

Um curativo ideal deve absorver o excesso de exsudado da ferida, mas manter um ambiente úmido para favorecer o processo de cicatrização. Ele deve apresentar um grau de inchamento de 100-900% (LIN et al., 2013; MORGADO; AGUIAR-RICARDO; CORREIA, 2015). Os filmes obtidos apresentaram um grau de inchamento de 149%.

Os filmes apresentaram baixa P e TTVA o que os classifica como filmes semi-permeáveis ou semi-oclusivos. Filmes semi-oclusivos transmitem pouco vapor de água (300-800 ml/m²/dia) e não absorvem grande quantidade de exsudato. Eles fornecem um ambiente protetor à lesão, que é impermeável a bactérias e líquidos. São indicados como curativos primários para feridas superficiais e secos e como curativos secundários, sobre curativos que absorvem exsudatos, em lesões exudativas. Como retêm a umidade, eles permitem que o desbridamento autolítico de feridas necróticas e criam um ambiente propício para a cicatrização de feridas de granulação. Eles também podem ser usados para a redução do atrito da pele intacta em áreas vulneráveis (ABDELRAHMAN; NEWTON, 2011; VOWDEN; VOWDEN, 2014).

A dúvida levantada por clássicos trabalhos sobre o uso de curativos oclusivos, que poderiam tanto favorecer infecções quanto aumentar a velocidade da cicatrização (WINTER, 1962), levou Hutchinson et al., (1991) a realizar um estudo avaliando os

resultados de mais de 100 estudos que comparavam o uso de curativos oclusivos e não oclusivos. Ele constatou que os curativos oclusivos não só são capazes de proporcionar um ambiente ideal para a reepitelização, mas também de criar um ambiente que permite um mecanismo de defesa eficiente contra microrganismos. Neste contexto, é melhor impedir a entrada de bactérias na ferida do que tentar controlar o crescimento das mesmas depois de instaladas na lesão. Curativos oclusivos também produzem um ambiente ácido que é desfavorável às bactérias.

Portanto curativos oclusivos apresentam vantagens no tratamento de lesões em que infecções são potencialmente perigosas.

5 CONCLUSÕES

As AgNPs obtidas por síntese verde, com extrato aquoso de gengibre na presença de luz artificial, apresentaram características apropriadas para a incorporação no filme polimérico. A estabilidade foi definida e o processo de incorporação foi realizado com sucesso, demonstrando compatibilidade.

O filme polimérico de quitosana e polilisina incorporado com as AgNPs foi produzido com sucesso e apresentou -se semi-oclusivo, com boa capacidade de absorção de exsudato e com propriedades mecânicas adequadas para a aplicação como curativo.

REFERÊNCIAS

- ABDELGAWAD, A. M.; HUDSON, S. M.; ROJAS, O. J. Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 100, p. 166-178, 2014.
- ABDELRAHMAN, T.; NEWTON, H. Wound dressings: principles and practice. **Surgery (Oxford)**, v. 29, p. 491-495, 2011.
- AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 100, p. 5-28, 2004.
- ANTUNES, B. P. *et al.* Chitosan/arginine–chitosan polymer blends for assembly of nanofibrous membranes for wound regeneration. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 104-112, 2015.
- ASHRAF, J. M. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles and characterization of their inhibitory effects on AGEs formation using biophysical techniques. **Scientific Reports**, v. 6, p. 204-214, 2016.
- AZEREDO, H. M. C. *et al.* Nanocellulose Reinforced Chitosan Composite Films as Affected by Nanofiller Loading and Plasticizer Content. **Journal of Food Science**, v. 75, p. N1-N7, 2010.
- BONFERONI, M. C. *et al.* Ionic polymeric micelles based on chitosan and fatty acids and intended for wound healing. Comparison of linoleic and oleic acid. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 87, p. 101-106, 2014.
- BOTTCHER-HABERZETH, S., BIEDERMANN, T, & REICHMANN, E. Tissue engineering of skin. **Burns**, v. 36, p. 450-460, 2010.
- CALVO *et al.* Novel hydrophilic chitosan–polyethylene oxide nanoparticles as protein carrier. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, p. 125-132, 1997.
- CHANG, S-S. *et al.* Control of foodborne pathogens on ready-to-eat roast beef slurry by ϵ -polylysine. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 236-241, 2010.
- CARDOSO, C. R. *et al.* Oleic acid modulation of the immune response in wound healing: A new approach for skin repair. **Immunobiology**, v. 216, p. 409-415, 2011.
- CARDOSO, C. R. *et al.* Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. **Wound Repair and Regeneration**, v. 12, p. 235-243, 2004.
- COOMBES *et al.* Biocomposites of non-crosslinked natural and synthetic polymers. **Biomaterials**, v. 23, p. 2113-2118, 2002.

COZZOLINO, C. A. *et al.* Dye release behavior from polyvinyl alcohol films in a hydro-alcoholic medium: Influence of physicochemical heterogeneity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 403, p. 45-53, 2012.

DE CICCIO, F. *et al.* Nanospray technology for an in situ gelling nanoparticulate powder as a wound dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, p. 30-37, 2014.

DELLERA, E. *et al.* Development of chitosan oleate ionic micelles loaded with silver sulfadiazine to be associated with platelet lysate for application in wound healing. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** v. 88, p. 643-650, 2014.

GIOVINO, C. *et al.* Development and characterisation of chitosan films impregnated with insulin loaded PEG-b-PLA nanoparticles (NPs): A potential approach for buccal delivery of macromolecules. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 428, p. 143-151, 2012.

HERMANS, K. *et al.* Development and characterization of mucoadhesive chitosan films for ophthalmic delivery of cyclosporine A. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 472, p. 10-19, 2014.

HIRAKI, J. *et al.* Use of ADME studies to confirm the safety of γ -polylysine as a preservative in food. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 37, p. 328-340, 2003.

HOSSEINI *et al.* Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 50-56, 2013.

HUANG, S; FU, X. Naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration. **Journal of Controlled Release**, v. 142, p. 149-159, 2010.

HUTCHINSON, J. J.; LAWRENCE, J. C. Wound infection under occlusive dressings. **Journal of Hospital Infection**, v. 17, p. 83-94, 1991.

JELLED, A. *et al.* Chemical and antioxidant parameters of dried forms of ginger rhizomes. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 30-35, 2015.

INGALE, A.G.; CHAUDHARI, A.N. Biogenic synthesis of nanoparticles and potential applications: an eco-friendly approach. **J NanomedNanotechnol**, v. 4, p. 7-4165, 2013.

KANOKPANONT, S. *et al.* An innovative bi-layered wound dressing made of silk and gelatin for accelerated wound healing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p. 141-153, 2012.

KIM, J. O. *et al.* Nitric oxide-releasing chitosan film for enhanced antibacterial and in vivo wound-healing efficacy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 217-225, 2015.

KAVOOSI, G. *et al.* Antioxidant, Antifungal, Water Binding, and Mechanical Properties of Poly(vinyl alcohol) Film Incorporated with Essential Oil as a Potential Wound Dressing Material. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, p. 1-8, 2014.

KUMAR, P. T. S. *et al.* Preparation and characterization of novel b-chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 761-767, 2010.

LALANI, R.; LIU, L. Electrospun Zwitterionic Poly(Sulfobetaine Methacrylate) for Nonadherent, Superabsorbent, and Antimicrobial Wound Dressing Applications. **Biomacromolecules**, v. 13, p. 1853-1863, 2012.

LAVORGNA *et al.* Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 291-298, 2010.

LIN *et al.* Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 603-611, 2013.

LOPEZ-PENA, C. L.; McCLEMENTS, D. J. Optimizing delivery systems for cationic biopolymers: Competitive interactions of cationic polylysine with anionic - carrageenan and pectin. **Food Chemistry**, v. 153, p. 9-14, 2014.

MATOS, B. N.; Desenvolvimento de uma formulação tópica contendo nanopartículas de quitosana como estratégia para aumentar a penetração folicular do minoxidil sulfato no tratamento da alopecia androgênica. ix, 56 f., il. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)** - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

MARTINEZ, F.; ZUÑIGA, E.; SANCHEZ, A. K. Método de síntesis de nanopartículas de plata adaptable a laboratorios de docencia relacionado con la nanotecnología. **Mundo Nano**, v. 6, n. 10, p. 101-108, 2013.

MAZZARINO *et al.* Elaboration of chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 370, p. 58-66, 2012.

MENG, Q.; HEUZEY, M-C.; CARREAU, P. J. Hierarchical Structure and Physicochemical Properties of Plasticized Chitosan. **Biomacromolecules**, v. 15, p. 1216-1224, 2014.

MENG, X. *et al.* Chitosan and alginate polyelectrolyte complex membranes and their properties for wound dressing application. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, p. 1751-1759, 2010.

MITTAL, A.; KUMAR, N. Drug-Loaded Polymeric Composite Skin Graft for Infection - Free Wound Healing: Fabrication, Characterization, Cell Proliferation, Migration, and Antimicrobial Activity. **Pharmaceutical Research**, v. 29, p. 3110-3121, 2012.

MOGOȘANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for

wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, p. 127-136, 2014.

MOHANTY, C.; DAS, M.; SAHOO, S. K. Sustained Wound Healing Activity of Curcumin Loaded Oleic Acid Based Polymeric Bandage in a Rat Model. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, p. 2801-2811, 2012.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 385, p. 113-142, 2010.

MORGADO, P. I.; AGUIAR-RICARDO, A.; CORREIA, I. J. Asymmetric membranes as ideal wound dressings: An overview on production methods, structure, properties and performance relationship. **Journal of Membrane Science**, v. 490, p. 139-151, 2015.

MUIZZUDDIN, N. *et al.* Structural and functional differences in barrier properties of African, American, Caucasian and East Asian skin. **Journal of Dermatological Science**, v. 59, p. 123-128, 2010.

NEVES, A. L. P. *et al.* Factorial design as tool in chitosan nanoparticles development by ionic gelation technique. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 45, p. 34-39, 2014.

RADNER, F. P. W.; FISCHER, J. The important role of epidermal triacylglycerol metabolism for maintenance of the skin permeability barrier function. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1841, p. 409-415, 2014.

RIBEIRO, M. P. *et al.* Dextran-based hydrogel containing chitosan microparticles loaded with growth factors to be used in wound healing. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, p. 2958-2966, 2013.

RODRIGUES, H. G. *et al.* Oral Administration of Oleic or Linoleic Acid Accelerates the Inflammatory Phase of Wound Healing. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, p. 208-215, 2012.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciencia & Engenharia**. Uberlandia, v. 8, n.1, p.60-67, 1999.

SHAHZAD, Y. *et al.* Breaching the skin barrier through temperature modulations. **Journal of Controlled Release**, v. 202, p. 1-13, 2015.

SUNG, J. H. *et al.* Gel characterisation and in vivo evaluation of minocycline-loaded wounddressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 392, p. 232-240, 2010.

SUDHAKAR, Y.; KUOTSU, K.; BANDYPADHYAY, A. K. Buccal bioadhesive drug delivery — A promising option for orally less efficient drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 15-40, 2006.

TANG, B. *et al.* Colorful and antibacterial silk fiber from anisotropic silver nanoparticles. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 12, p. 4556-4563, 2013.

TANG, B. et al. Sunlight-driven synthesis of anisotropic silver nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, v. 260, p. 99-106, 2014.

TRAN, P. H-L.; TRAN, T. T-D.; LEE, B-J. Enhanced solubility and modified release of poorly water-soluble drugs via self-assembled gelatin–oleic acid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 455, p. 235-240, 2013.

VIEIRA, M. G. A. et al. Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review. **European Polymer Journal**, v. 47, p. 254-263, 2011.

VOWDEN, K.; VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. **Surgery (Oxford)**, v. 32, p. 462-467, 2014.

WINTER, G.D.; Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. **Nature**, v. 193, p. 293, 1962.

YAHYA, M. Z. A.; AROF, A. K. Effect of oleic acid plasticizer on chitosan–lithium acetate solid polymer electrolytes. **European Polymer Journal**, v. 39, p. 897-902, 2003.

ZHANG, Y. et al. A novel agar diffusion assay for qualitative and quantitative estimation of ϵ -polylysine in fermentation broths and foods. **Food Research International**, v. 48, p. 49-56, 2012.

ZHONG, S. et al. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 2, p. 510-525, 2010.