



Programa de Pós-Graduação em Química
Unioeste - Mestrado



Estado do Paraná

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - Unioeste
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA
PPGQUI

OBTENÇÃO DE FILMES DE PECTINA CONTENDO
QUERCETINA PARA POTENCIAL USO NO TRATAMENTO DE
FERIDAS CUTÂNEAS

Jean Colombari Neto

Toledo – Paraná – Brasil

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - Unioeste
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA
PPGQUI

OBTENÇÃO DE FILMES DE PECTINA CONTENDO
QUERCETINA PARA USO NO TRATAMENTO DE FERIDAS
CUTÂNEAS

Jean Colombari Neto

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/Campus Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

**Orientador: Prof. Dr. Douglas
Cardoso Dragunki**

AGOSTO/2021

Toledo - PR

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	13
2.1. <i>Pectina</i>	14
2.2. <i>Quercetina.....</i>	15
2.3. <i>Curativos e o processo de cicatrização</i>	17
3. OBJETIVOS.....	20
3.1. <i>Objetivo Geral</i>	20
3.2. <i>Objetivos Específicos.....</i>	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. <i>Materiais.....</i>	20
4.2. <i>Extração da Pectina de cascas de laranjas</i>	20
4.3. <i>Caracterização da pectina extraída</i>	21
4.3.1. <i>Grau de esterificação e propriedades viscosimétricas</i>	21
4.3.2. <i>Caracterização da pectina.....</i>	23
4.4. <i>Obtenção dos filmes</i>	24
4.4.1. <i>Planejamento do experimento</i>	24
4.4.2. <i>Obtenção dos filmes</i>	24
4.5. <i>Caracterização dos filmes.....</i>	25
4.5.1. <i>Propriedades visuais e morfológicas dos filmes</i>	25
4.5.2. <i>Espessura</i>	25
4.5.3. <i>Opacidade.....</i>	26
4.5.4. <i>Solubilidade</i>	26
4.5.5. <i>Taxa de transmissão de vapor de água.....</i>	26
4.5.6. <i>Análise mecânicas.....</i>	27
4.5.7. <i>Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier</i>	27
4.5.8. <i>Termogravimetria</i>	28
4.5.9. <i>Calorimetria exploratória diferencial.....</i>	28
4.5.10. <i>Difratometria de raio x</i>	28
4.5.11. <i>Atividade Antimicrobiana</i>	28
4.5.12. <i>Atividade Antioxidante</i>	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1. <i>Rendimento da extração e caracterização da pectina.....</i>	30
5.2. <i>Grau de esterificação e propriedades viscosimétricas</i>	30

5.3.	<i>Aspectos físicos dos filmes obtidos</i>	32
5.4.	<i>Espessura, opacidade, solubilidade e TVA</i>	35
5.5.	<i>Análises Mecânicas</i>	37
5.6.	<i>Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier</i>	42
5.7.	<i>Termogravimetria</i>	44
5.8.	<i>Calorimetria exploratória diferencial</i>	46
5.9.	<i>Difratometria de raio x</i>	48
5.10.	<i>Atividade antimicrobiana e antioxidante</i>	49
6.	CONCLUSÃO	52
7.	REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da pectina, cadeia linear de unidades α -D-ácido galacturônico. (Rasbak, 2004. Licenciado sob domínio público, via Wikimedia Commons).....	14
Figura 2: Estrutura geral de um flavonoide, que consiste em dois anéis fenil (A e B) e um anel heterocíclico (Nogueira, T. 2021. Infoescola).....	16
Figura 3: Estrutura química da quercetina (3,5,7,3'- 4'-pentahidroxi flavona) (Cristian Soto, 2013. Licenciado sob domínio público, via Moléculas Orgánicas)	16
Figura 4: Etapas principais do processo de cicatrização de feridas. (Adaptado de Rezvani Ghomi et al., 2019)	18
Figura 5: Estrutura das zonas de junção na estrutura polimérica de pectinas com alto teor de metoxilação (adaptada de Oakenfull & Scott, 1984).....	32
Figura 6: Imagem dos filmes obtidos a partir das condições produtivas propostas pelo planejamento experimental.....	33
Figura 7: Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos filmes obtidos. Aceleração de 10,00 kV e ampliação de 1000x.	34
Figura 8: Gráfico de tensão <i>versus</i> deformação (MPa/%) dos filmes obtidos a partir do planejamento experimental.	38
Figura 9: Gráfico de Pareto para a resposta Resistência à tração para os filmes de pectina obtidos.	40
Figura 10: Gráfico de superfície de resposta de resistência à tração <i>versus</i> pectina; glicerol dos filmes obtidos.....	41
Figura 11: Espectros de infravermelhos com transformada de Fourier: A) espectros dos filmes obtidos a partir das condições produtivas propostas pelo planejamento experimental; B) espectros da quercetina, pectina extraída e do filme sobreposto para fim comparativo.....	42
Figura 12: Infográfico comparativo da degradação térmica dos filmes obtidos e pectina extraída.....	45
Figura 13: Termogramas e derivadas primeiras dos filmes obtidos e pectina extraída. (imagem de autoria própria, 2021)	46
Figura 14: Termogramas de DSC dos filmes obtidos a partir das condições produtivas proposta pelo planejamento experimental, pectina extraída e quercetina (imagem de autoria própria, 2021).....	47

Figura 15: Difratoograma da pectina, quercetina e dos filmes obtidos a partir das condições experimentais (imagem de autoria própria, 2021).	49
Figura 16: Teste de suscetibilidade antimicrobiana de cepas do biotipo de <i>S. aureus</i> , usando teste de difusão em disco. a) filme F7; b) filme F3; c) filme F5. (imagem de autoria própria, 2021).	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores reais e codificados para cada nível.	24
Tabela 2: Condições experimentais para a produção dos filmes obtidos.	25
Tabela 3: Valores médios \pm desvio padrão da espessura (mm); opacidade (a 600 nm, Abs.nm), solubilidade (%), e TVA (g/d.m ²).	36
Tabela 4: Valores de módulo de elasticidade (MPa), resistência ao escoamento (MPa), resistência a tração (MPa) e tensão de ruptura (MPa) dos filmes.	39
Tabela 5: Temperatura Onset dos eventos de perda de massa inicial da amostra.	44
Tabela 6: Valores médios \pm desvio padrão das porcentagens de atividade antioxidante dos filmes obtidos.	50

RESUMO

COLOMBARI NETO, J.; Obtenção de filmes de pectina contendo quercetina para uso no tratamento de feridas cutâneas. 67 páginas. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Toledo, 27 de agosto de 2021.

O objetivo deste estudo foi realizar a obtenção de filmes de pectina extraída de resíduos industriais da laranja contendo a quercetina, e avaliar seu uso como filme curativo. A extração da pectina foi realizada em meio aquoso em pH 2,5, sobre aquecimento e agitação e, precipitada e purificada em meio alcóolico. Buscando otimizar os processos, na obtenção dos filmes, utilizou-se um design experimental fatorial 2^3 completo, com duplicata do ponto central. As variáveis estudadas foram: concentração de pectina (+1, 0, -1), quercetina (+1, 0, -1) e plastificante glicerol (+1, 0, -1). O rendimento para o processo de extração foi de 15% em relação à massa seca de cascas. A determinação dos grupamentos carboxil da pectina demonstrou os valores de $7,36\% \pm 0,027$ para grupamentos carboxil livres e $8,67\% \pm 0,062$ de grupamentos carboxil esterificados. O grau de esterificação ficou em média de $54,07\% \pm 0,088$, classificando o material como uma pectina de alto grau de metoxilação. Os dados viscosimétricos descreveram uma viscosidade intrínseca de Huggins de $76,64 \text{ mL.g}^{-1}$. A massa molar viscosimétrica medida foi de $\approx 333.000 \text{ g.mol}^{-1}$. Na produção dos filmes a adição do plastificante favoreceu a obtenção de um material mais flexível e resistente. A análise morfológica permitiu avaliar a uniformidade dos filmes, e possíveis descontinuidades. Os valores de espessura, variaram de $0,363 \pm 0,004 \text{ mm}$ a $0,170 \pm 0,015 \text{ mm}$ para os filmes F9 e F7, respectivamente. A opacidade apresentou uma variação de $6,856 \pm 0,274 \text{ Abs.mm}$ a $1,833 \pm 0,096 \text{ Abs.mm}$ F8 e F5 respectivamente. Para os dados de solubilidade, os valores variaram de $88,204 \pm 0,314$ a $94,711 \pm 0,565$ para os filmes F9 e F3, respectivamente. Os valores de TVA variam de $883,460 \text{ g/d.m}^2$ a $1208,22 \text{ g/d.m}^2$ para os filmes F1 e F7, respectivamente. Para as análises mecânicas, os valores encontrados para o módulo de Young, foram de $0,0605 \text{ MPa}$ a $0,0017 \text{ MPa}$ para os filmes F9 e F3, respectivamente. Os valores de resistência ao escoamento variaram de $0,0847 \text{ MPa}$ a $0,9783 \text{ MPa}$ para os filmes F8 e F7, respectivamente. A resistência à tração dos filmes variou na faixa de $0,6899 \text{ MPa}$ a $4,7024 \text{ MPa}$, para os filmes F3 e F6 respectivamente. As alterações observadas nos difratogramas descrevem uma alteração no comportamento cristalográfico dos precursores e dos filmes obtidos, assim também, para o comportamento térmico observado na análise de calorimetria exploratória diferencial e TGA. A análise de espectroscopia na região do infravermelho demonstrou as bandas características dos precursores pectina em 3421 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} , 1749 cm^{-1} e 1019 cm^{-1} ; e da quercetina, característicos de grupamentos fenólicos 1615 cm^{-1} , 710 cm^{-1} e 770 cm^{-1} ; os espectros dos filmes apresentaram bandas. A capacidade antioxidante dos filmes, apresentaram valores que variaram entre $40,32 \pm 0,67\%$ a $45,37 \pm 0,17\%$ para os filmes F3 e F5, respectivamente. O teste de atividade antimicrobiana não apresentou a formação de halos de inibição, porém, não se evidenciou o crescimento de microrganismos sobre ou sob os filmes. Sendo assim, corroborando os dados encontrados nesta pesquisa, constatou-se que o filme F7 apresenta grande

potencial para o uso como curativos para feridas, tomando-se devidos cuidado para suas aplicações.

PALAVRAS-CHAVE: antioxidante; curativos; hidrocoloide; polissacarídeo.

ABSTRACT

COLOMBARI NETO, J.; Obtaining pectin films containing quercetin for use in the treatment of skin wounds. 67 pages. Dissertation (Masters) - State University of West Paraná – UNIOESTE. Toledo, August 27, 2021.

The aim of this study was to obtain pectin films, extracted from industrial orange wastes, containing quercetin, and to evaluate its use as a wound healing film. The extraction was executed in an aqueous medium at pH 2.5, under heating and stirring, and precipitated and purified in an alcoholic medium. Looking to optimize the processes, in obtaining the films, an experimental 2^3 factorial design complete was used, with duplicate of the central point, in which the studied variables were: polymer concentration (pectin), concentration of the bioactive molecule (quercetin) and, concentration of the plasticizer (glycerol). The yield for the extraction process was 15%. The determination of pectin carboxyl groups showed values of $7.36\% \pm 0.027$ for free carboxyl groups and $8.67\% \pm 0.062$ for esterified carboxyl groups. The degree of esterification was on average $54.07\% \pm 0.088$, classifying the material as a pectin with a high degree of methoxylation. The viscosimetric data described a Huggins intrinsic viscosity of $76.64 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$. The measured viscosimetric molar mass was $\approx 333,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. In the production of films, the addition of plasticizer favored obtaining a more flexible and resistant material. The morphological analysis allowed evaluating the uniformity of the films, and possible discontinuities. Thickness values ranged from $0.363 \pm 0.004 \text{ mm}$ to $0.170 \pm 0.015 \text{ mm}$ for the F9 and F7 films, respectively. The opacity ranged from $6.856 \pm 0.274 \text{ Abs}\cdot\text{mm}$ to $1.833 \pm 0.096 \text{ Abs}\cdot\text{mm}$ F8 and F5 respectively. For the solubility data, the values ranged from 88.204 ± 0.314 to 94.711 ± 0.565 for the F9 and F3 films, respectively. TVA values range from $883.460 \text{ g/d}\cdot\text{m}^2$ to $1208.22 \text{ g/d}\cdot\text{m}^2$ for F1 and F7 films, respectively. For the mechanical analysis, the values found for the Young's modulus were from 0.0605 MPa to 0.0017 MPa for the F9 and F3 films, respectively. The yield strength values ranged from 0.0847 MPa to 0.9783 MPa for the F8 and F7 films, respectively. The tensile strength of the films ranged from 0.6899 MPa to 4.7024 MPa , for the F3 and F6 films, respectively. The changes observed in the diffractograms describe a change in the crystallographic behavior of the precursors and films obtained, as well as the thermal behavior observed in the differential scanning calorimetry and TGA analysis. Infrared spectroscopy analysis demonstrated the characteristic bands of pectin precursors at 3421 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} , 1749 cm^{-1} and 1019 cm^{-1} ; and quercetin, characteristic of phenolic groups 1615 cm^{-1} , 710 cm^{-1} and 770 cm^{-1} ; the spectra of the films showed bands. The antioxidant capacity of the films presented values ranging from $40.32 \pm 0.67\%$ to $45.37 \pm 0.17\%$ for the F3 and F5 films, respectively. The antimicrobial activity test did not show the formation of inhibition halos, however, there was no evidence of the growth of microorganisms on or under the films. Thus, corroborating the data found in this research, it was found that the F7 film has great potential for use as dressings for wounds, taking due care in its applications.

KEYWORDS: antioxidant; dressings; hydrocolloid; polysaccharide.

1. INTRODUÇÃO

A história por trás das técnicas de tratamento de feridas, é de certo modo, a história da humanidade. Na área da medicina, um dos mais antigos manuscritos conhecidos pelo homem, são anotações em uma tábua de argila que data de 2200 a.C., em que descreve talvez pela primeira vez, os três gestos de “cura” – lavar as feridas, fazer os emplastos e enfaixar a ferida (Shah, 2011). Já os antigos egípcios, aplicavam mel, graxas e tecidos nas feridas abertas para remoção de pele e secreções, afim de estimular o processo de cicatrização (Henry & Garner, 2003). Atualmente estas técnicas evoluíram significativamente, e damos maior visibilidade para a área de desenvolvimento de filmes curativos.

Diversos materiais vem sendo investigados para o uso como filmes curativos (Dhivya et al., 2015; Jantrawut et al., 2019). Fatores como, profundidade e localização da ferida, além do tamanho da área lesionada, quantidade de exsudato e presença de infecção, são pontos chaves na escolha do tipo de matriz útil para aplicação (Andriotis et al., 2020). Curativos alternativos, fabricados por polímeros na forma de filmes, espumas ou géis, já foram desenvolvidos e amplamente aplicados para o tratamento de feridas, pois fornecem as condições ideais para a cicatrização de feridas, mantendo a umidade e ao mesmo tempo proporcionando uma sensação de alívio para o paciente (Rezvani Ghomi et al., 2019).

A fim de contornar diversas problemáticas causadas por vias invasivas ou que causem eventos adversos, busca-se a otimizações de técnicas que apresentem melhores resultados. Para tal, busca-se desenvolver filmes curativos poliméricos, a partir de materiais que atendam todas as demandas exigidas para o processo de cicatrização.

Este sistema de administração apresenta diversas vantagens como ser um método indolor; a frequência de administração das doses é minimizada; dependendo da cinética de liberação da matriz, a permeação através da pele mantém o nível de medicamento desejado no sangue (Bhamare et al., 2018); e em caso de necessidade de administração medicamentosa, estes materiais evitam processos metabólitos e degradação por enzimas do trato gastrointestinal e a administração do medicamento é interrompida com a remoção do adesivo (Rastogi & Yadav, 2012).

Destaca-se a importância da matriz polimérica escolhida como material de obtenção dos filmes. Grande parte dos filmes poliméricos atuais possuem como matriz polímeros sintéticos, devido às suas excelentes propriedades físicas, químicas e mecânicas. Porém, polímeros sintéticos prejudicam a produção geralmente devido ao fato de não serem renováveis, difíceis de degradar e prejudiciais ao meio ambiental (Xu et al., 2015).

Atualmente os biomateriais biodegradáveis estão ganhando cada vez mais interesse científico, pois o uso dessas novas estratégias evita a ocorrência de problemas associados às formas farmacêuticas convencionais (Abbasi et al., 2019).

Filmes baseados em hidrocolóides naturais têm um grande potencial para substituir polímeros sintéticos em tecnologia biomédica e farmacêutica, devido às vantagens de sua bioatividade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Algumas aplicações desses materiais são em engenharia de tecidos, sistemas controlados de administração de medicamentos e cápsulas para ingestão oral (Lin & Metters, 2006).

São vários os tipos de biopolímeros naturais existentes derivados de fontes naturais, os quais são amplamente utilizados como matrizes funcionais para diversas aplicações. São predominantemente derivados de proteínas e polissacarídeos que incluem colágeno, gelatina, fibroína de seda, queratina, látex de borracha natural, quitina e quitosana, amido e seus derivados, alginato, celulose e seus derivados, albumina, caseína, ácido hialurônico, agar, dextranos, levano, goma de xantano e pectina. (S. S. D. Kumar et al., 2019)

Dentre os biopolímeros, pode-se utilizar a pectina, a qual é um polissacarídeo aniônico que é geralmente obtido a partir de paredes celulares de plantas (Thakur et al., 1997). Apresenta características mucoadesivas, biocompatível sendo quase totalmente degradado pela bactéria do cólon, não sendo suscetível à digestão por enzimas gástricas ou intestinais (Bigucci et al., 2008; Thirawong et al., 2007).

Quimicamente a pectina, Figura 1, (éster metilado do ácido poligalacturônico) contém principalmente resíduos de ácido α -D-galacturônico (Thakur et al., 1997). A pectina é composta por pelo menos 17 tipos diferentes de monossacarídeos com ácido D-galacturônico como componente principal, seguido pela D-galactose e L-arabinose, podem existir duas classes diferentes

de pectinas baseadas no seu grau de metoxilação, isto é, pectinas de alto grau de metoxilação (ATM) (mais de 50%) e pectina de baixo teor de metoxilação (BTM) (inferior a 50%) (Ridley et al., 2001).

Trabalhos recentes mostram que a pectina pode ser usada para preparar sistemas de liberação controlada para liberação de drogas, para transportadores de células implantáveis em engenharia de tecidos, e para prebióticos (L. S. Liu et al., 2007), e ainda promover a modificação ou diferentes técnicas de produção destes filmes reticulados a fim de se obter matrizes "inteligentes" capazes de "detectar" mudanças externas de temperatura, umidade, força iônica ou ainda pH (materiais *pH-reponsive*) (Jeong et al., 2012).

Nesse contexto, este trabalho objetiva formular um filme curativo transdérmico a partir de pectina e quercetina, estudar suas propriedades químicas e físicas e testar seu comportamento para uso no recobrimento de feridas.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

Atualmente busca-se conciliar avanços tecnológicos com menores impactos ambientais possíveis, dando-se destaque para os materiais eco-friendly, biomateriais. Estes materiais devem impactar o mínimo possível o meio ambiente seja na sua obtenção, ou posteriormente no seu descarte. Para isso, estes materiais podem ser obtidos de moléculas naturais que pode ser encontrada com abundância no meio ambiente, e que posteriormente possua biodegradabilidade (Moustafa et al., 2019).

O estudo com polímeros naturais vem ganhando destaque no mercado atual, uma vez que a demanda pela produção de polímeros no mundo é alta, seja para fabricação de embalagens plásticas, no setor automotivo, na construção civil, medicina e ainda na área da biotecnologia. Uma vantagem do uso de polímeros naturais na área da biotecnologia é sua biocompatibilidade no organismo, favorecendo seu uso como matriz principal em diversos sistemas (Jacob et al., 2018)

O uso de matrizes poliméricas carregadas, traz diversos benefícios frente o método convencional de uso, tais como: auxiliam no transporte e absorção de fármacos que apresentem características apolares; evitam a degradação em pH

ácido como no estomago (Chen & Wu, 2008; McClements, 2017); diminuem riscos de formação de úlceras gastrointestinais devido à ataques nas paredes dos órgãos; diminui o risco de intoxicação medicamentosa devido ao aumento da capacidade de absorção de fármacos no organismo.(Joseph Eichenseher, 2017)

Apesar da grande quantidade de material bibliográfico referente à filmes curativos, pouco se estuda sobre materiais a base de pectina para tal uso, devido principalmente a suas propriedades físicas, as quais podem ser contornadas realizando combinações deste material com outros biopolímeros e moléculas naturais, favorecendo o melhoramento das propriedades físicas.

2.1. Pectina

As pectinas (Figura 1) são heteropolissacarídeos estruturais que contém principalmente unidades de ácido galacturônico. Os grupamentos carboxílicos (COOH) presentes nos resíduos de ácidos urônico podem ser encontrados na forma livre, ou de sais com contra-íons de sódio, potássio, cálcio ou amônio ou, esterificado com metanol. Devido à presença de grupos carboxila livres, as soluções de pectina apresentam pH ácido; uma solução aquosa de pectina a 1% pode exibir um pH em torno de 2,7 a 3,0 (Stephen et al., 2016). O processo de extração e a natureza da fonte usados afetam o rendimento e as propriedades da pectina (A. Kumar & Chauhan, 2010a). As pectinas podem ser extraídas de materiais vegetais usando água, quelantes e ácidos e álcalis diluídos.

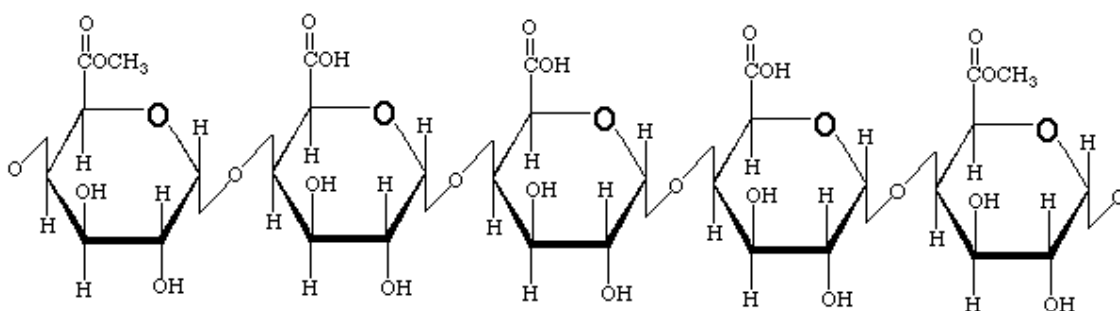


Figura 1: Estrutura química da pectina, cadeia linear de unidades α -D-ácido galacturônico. (Rasbak, 2004. Licenciado sob domínio público, via Wikimedia Commons)

A extração das pectinas da matéria-prima é geralmente realizada por tratamento ácido (pH 1,5 a 3) em alta temperatura (70 a 90°C), utilizando ácido

clorídrico, ácido nítrico ou, em alguns casos, ácido sulfúrico. Esta etapa permite a extração e solubilização de materiais de pectina de tecidos vegetais. Nessas condições, ocorrerão reações de degradação, como desesterificação e despolimerização (Stephen et al., 2016).

Geralmente, as pectinas são insolúveis em solventes orgânicos. Sua precipitação de soluções aquosas pela adição de solventes orgânicos miscíveis em água, como etanol, isopropanol ou metanol, ou pela adição de cátions polivalentes (por exemplo, cobre, amônio quaternário), é frequentemente utilizado para precipitação em processos de extração (Kravtchenko et al., 1992).

O número de grupos metoxilados de pectina (ácido poligalacturônico, PGA) é um dos principais parâmetros que determinam as propriedades de suas soluções aquosas e géis (Matta & Bertola, 2020). A solubilidade da pectina em água, seu poder de geleificação e propriedades de sorção em relação aos íons de metais pesados também dependem do número de grupos metoxi.

2.2. Quercetina

Os flavonoides são compostos bioativos encontrados em alimentos como chá, chocolate, vinho tinto, frutas e vegetais (Ivey et al., 2015), e estudos realizados relatam atividade antioxidantes e anti-inflamatórias destes compostos (Middleton, 1998; Nijveldt et al., 2001; Rice-Evans et al., 1996; Yoshino & Murakami, 1998). Os flavonoides (Figura 2) são compostos químicos que compartilham uma estrutura compostas por três estruturas cíclicas, sendo dois anéis aromáticos com grupamentos hidroxila anexados. A atividade antioxidante de um flavonoide está intrinsecamente associada à sua estrutura química.

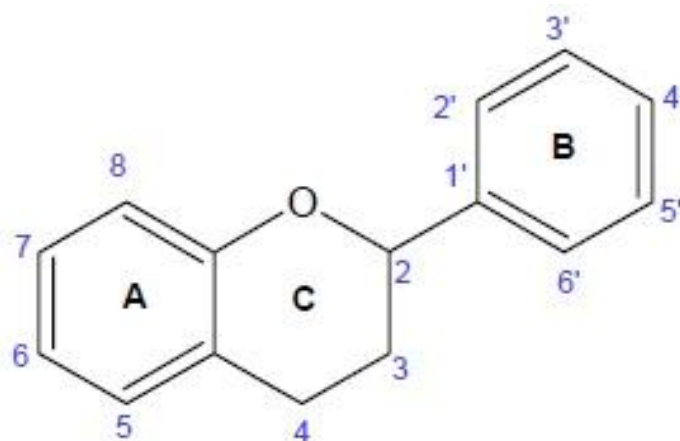


Figura 2: Estrutura geral de um flavonoide, que consiste em dois anéis fenil (A e B) e um anel heterocíclico (Nogueira, T. 2021. Infoescola).

A quercetina (Figura 3), flavonoide mais abundante em alimentos vegetais comestíveis (Atala et al., 2017), tem sido objeto de muitos estudos tanto como corante quanto como molécula biologicamente ativa por causa de sua estrutura química e propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, antiviral, anticarcinogênica e antidiabética (Mukhopadhyay & Prajapati, 2015). A quercetina é sintetizada pelas glândulas localizadas na superfície das folhas, flores ou frutos das plantas (Rice-evans et al., 1995). Apesar de possuir cinco grupamento hidroxilas, –OH, na estrutura, a quercetina tem derivados lipofílicos e lipo-hidrofílicos (Mukhopadhyay & Prajapati, 2015). Porém, apesar de apresentar diversas propriedades biológicas que as fazem ser de grande interesse, o uso terapêutico torna-se dificultado devido à sua baixa solubilidade.

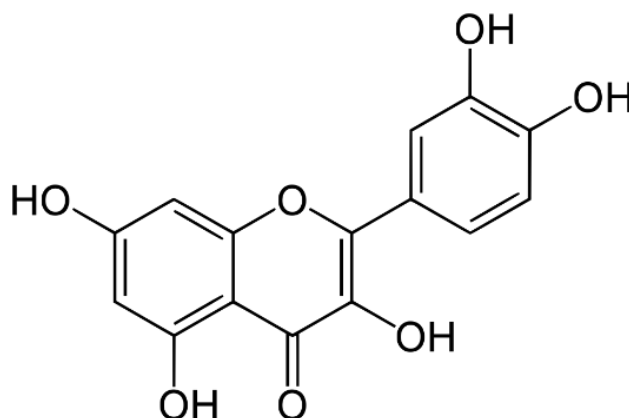


Figura 3: Estrutura química da quercetina (3,5,7,3'- 4'-pentahidroxi flavona) (Cristian Soto, 2013. Licenciado sob domínio público, via Moléculas Orgánicas)

A fim de contornar esta problemática da baixa solubilidade da quercetina, nos últimos anos, estudos foram realizados para correlacionar compostos fenólicos com polissacarídeos (J. Liu, Pu, et al., 2018). A funcionalização de polissacarídeos com compostos fenólicos pode melhorar muito a biodisponibilidade e as aplicações de polissacarídeos. Estudos realizados, obtiveram compostos fenólicos reticulados com sucesso em diferentes tipos de polissacarídeos, como quitosana (J. Liu et al., 2016), dextrana (Vittorio et al., 2012) e amido (Lv et al., 2016). Entre os diferentes conjugados fenólico-polissacarídeo, a quitosana enxertada com fenólicos tem sido mais amplamente estudada, provavelmente devido aos abundantes grupos amino na quitosana (J. Liu, Wang, et al., 2018).

2.3. Curativos e o processo de cicatrização

Uma ferida é definida como uma ruptura na continuidade do revestimento epitelial da pele ou mucosa resultante de alterações físicas ou dano térmico (Dhivya et al., 2015). Tais eventos podem variar desde uma pequena quebra na integridade da pele ou podendo apresentar maior profundidade, estendendo-se desde regiões externas como a derme até tecidos subcutâneos, podendo ocasionar dano a outras estruturas como tendões, músculos, vasos, nervos, órgãos e ossos (Abayomi Kayode, 2017).

Dependendo da causa e origem, as feridas podem ser classificadas em dois grupos principais: feridas abertas e fechadas. Em feridas abertas, ocorre o rompimento da pele e a exposição do tecido subjacente, permitindo que fluidos saiam do corpo. São lesões onde há perda de material superficial que cobre o tecido, como a pele. Estas feridas são abertas e expostas à invasão de microrganismos (Y.A. Barku, 2019).

Durante o processo de cicatrização, diversos organismos do corpo humano estão envolvidos em uma complexa interação a fim de reparar a integridade deste tecido lesionado. Para tal, a cicatrização de feridas inclui três estágios, a inflamação, a ploriferação e maturação, Figura 4, (Morgado et al., 2015). Para auxiliar todo este processo, busca-se desenvolver materiais que apresentem características que favoráveis ao processo de cicatrização, como, umidade elevada, flexibilidade e biocompatibilidade.

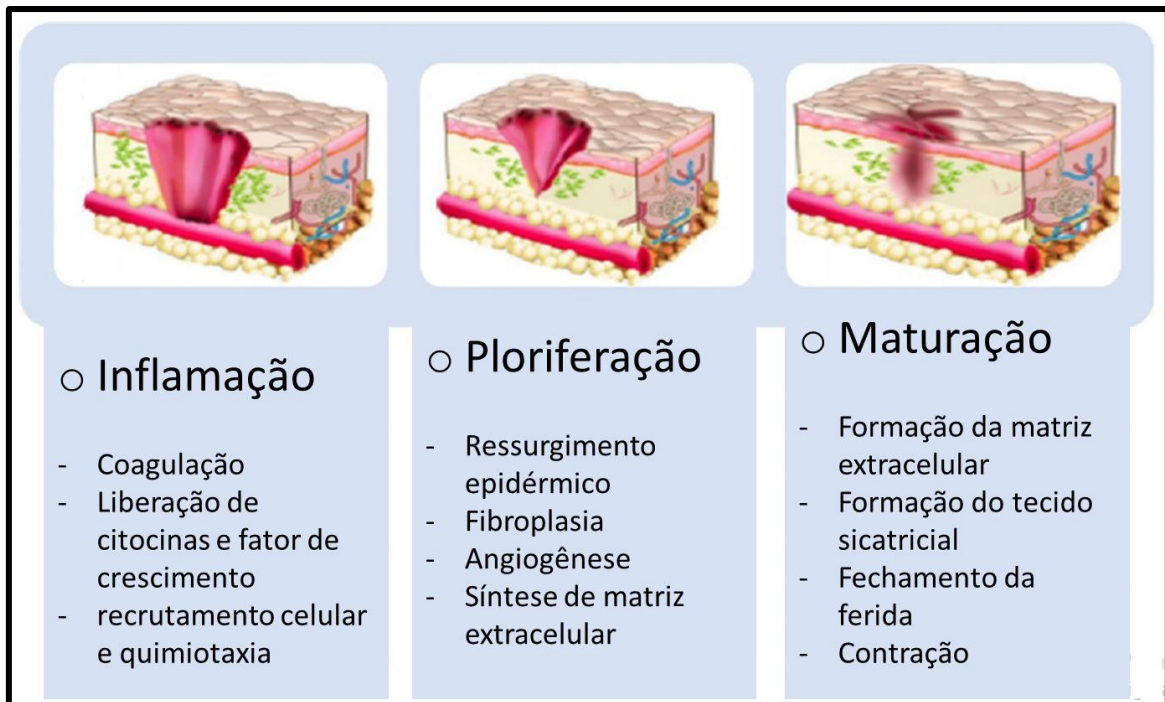


Figura 4: Etapas principais do processo de cicatrização de feridas. (Adaptado de Rezvani Ghomi et al., 2019)

Tradicionalmente, os curativos atuais, com algodões e gazes, absorvem a umidade contida pela ferida proveniente da exsudação, levando à desidratação da área lesionada e, conseqüentemente, diminuindo a taxa de cicatrização (Andriotis et al., 2020). Estes curativos atuam como uma barreira protetora seca, a qual preveniria a contaminação bacteriana e promoveria a absorção do exsudato. Porém, segundo J.Roggers, 1962, a cicatrização de feridas úmidas, com a inibição de crostas secas, aumenta muito as taxas de reepitelização.

Pesquisas anteriores, descrevem a obtenção de curativos alternativos, na formas de filmes, géis e espumas, amplamente aplicados para o tratamento de feridas, uma vez que fornecem condições ideais para as etapas de cicatrização, mantendo a umidade da ferida e ao mesmo tempo proporcionando uma sensação de alívio para o paciente (Dhivya et al., 2015; Rezvani Ghomi et al., 2019).

Segundo Rezvani Ghomi et al., 2019, um curativo ideal deve apresentar as seguintes características: (1) controlar a umidade ao redor da ferida, (2) apresentar grande taxa de transmissão de gases, (3) eliminar o excesso de exsudatos, (4) proteger a ferida de infecções e microrganismos, (5) diminuir a necrose superficial de feridas, (6) têm capacidade mecânica, (7) ser facilmente

trocadas e removidas, (8) apresentar biocompatibilidade e biodegradabilidade, e não tóxico, (9) alivia a dor da ferida, e (10) ser barato e acessível.

O curativo desejável deve, portanto, servir entre vários propósitos, como fornecer umidade e oclusão, e proteger contra infecções e contaminação (Abdelrahman & Newton, 2011). Curativos úmidos são capazes de acelerar o processo de cicatrização de feridas quando comparados com curativos secos. Na verdade, a pele renovada sem inflamação e formação de escaras só pode ocorrer em ambiente úmido.

Com base em seu desempenho clínico, os curativos são classificados como antimicrobiano, absorvente, oclusivo, aderente e desbridado. De acordo com a forma física, os curativos estão disponíveis nos tipos de pomada, filme, espuma e gel. Devido à origem do material, eles são divididos em três grupos: origem animal, origem vegetal e origem sintética (Boateng et al., 2008; Kokabi et al., 2007).

Os hidrocolóides são descritos como interativos, pois usam fluido da ferida para formar um gel úmido na interface da ferida (Seaman, 2002). Esses curativos são indicados para feridas com exsudato baixo a moderado. Eles podem promover o desbridamento da ferida e a angiogênese, reduzir a dor mantendo as terminações nervosas úmidas e absorver o excesso de exsudado. Dependendo do nível de exsudato, o curativo pode permanecer no local por até 6 dias (Abdelrahman & Newton, 2011). Geralmente são biodegradáveis e biocompatíveis e também adequados para úlceras superficiais, como pequenas queimaduras, choques e hematomas. Semelhante aos hidrogéis, os hidrocolóides são capazes de absorver quantidade mínima a moderada de fluidos da ferida. Os curativos com hidrocolóides são oclusivos, evitando que água, bactérias e oxigênio entrem na ferida. Além disso, os hidrocolóides reduzem o pH da ferida e podem facilitar a inibição do crescimento de bactérias (Abdelrahman & Newton, 2011; Rezvani Ghomi et al., 2019).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Obter um filme de pectina contendo quercetina e avaliar as propriedades mecânicas, físico-químicas, antimicrobiana e antioxidantes, para potencial uso em recobrimento de feridas.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o método de extração da pectina de resíduos industriais de cascas de laranjas;
- Avaliar métodos melhores parâmetros de obtenção dos filmes de pectina e quercetina;
- Caracterizar os materiais obtidos e testar suas propriedades físico-químicas a fim de determinar qual responderia positivamente para uso final;
- Avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante;
- Realizar testes de liberação da quercetina e aplicar modelos matemáticos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Todos os reagentes químicos utilizados foram de qualidade analítica. Ácido clorídrico P.A. 37%, NEON; álcool etílico absoluto P.A. 99%, êxodo científica; álcool etílico P.A. 95%, êxodo científica; glicerina P.A (glicerol) 99,5%, BIOTEC; Quercetina P.A. >95%, Sigma-Aldrich. As soluções preparadas seguiram critérios de qualidade tais como, vidraria e equipamentos calibrados, água deionizada em purificador de osmose reversa.

4.2. Extração da Pectina de cascas de laranjas

As amostras de *Citrus sinensis* (laranja-lima) foram coletadas no município de Toledo – PR, provenientes de resíduos do comércio do ramo alimentício. Foram lavadas em água corrente para remoção de sujidades e as cascas foram então lavadas com água destilada, cortadas em pequenos

pedaços (1 cm x 1 cm) e secas em estufas de circulação a 40 °C por 48h. Em seguida, as cascas secas foram trituradas e peneiradas para obtenção de partículas de tamanho conhecidos, <60 mesh.

A extração foi realizada conforme descrita por Canteri-Schemin et al. (Canteri-Schemin et al., 2005) com modificações. As cascas secas foram pesadas na proporção 1:40 (m/v) e dispersas em água acidificada com ácido clorídrico em pH 2,5 a 90 °C. A pectina foi extraída em meio aquoso sobre refluxo 60 min. Ao final do período compreendido o material foi filtrado para remoção do precipitado (resíduos sólidos das cascas) e o sobrenadante foi resfriado até a temperatura de 25 °C. Para promover a precipitação da pectina, adicionou-se álcool etílico 95% na proporção 1:1 (v/v) e homogeneizou-se com o auxílio de um agitador magnético. Manteve-se a amostra em repouso por 30min a 30 °C, favorecendo a precipitação da pectina. O material então foi filtrado em peneiras de poliamida, e o material retido foi lavado 4 vezes com álcool etílico 99%. O material foi seco em estufa de circulação a 40° por 24h, resfriados em dessecador e posterior cálculo do rendimento de extração como descrito na equação abaixo.

$$\text{Rendimento da extração (\%)} = \frac{\text{Massa seca de pectina extraída}}{\text{Massa seca de casca de laranja}} \times 100$$

4.3. Caracterização da pectina extraída

4.3.1. Grau de esterificação e propriedades viscosimétricas

Após obtido o material, avaliou-se o teor de grupamentos carboxila, metoxila e o grau de esterificação da pectina pelo método titulométrico (Bochek et al., 2001)(Santos et al., 2013), conforme as equações a seguir.

Grupamentos carboxil livres:

$$K_f = \frac{N_{NaOH} V_{NaOH} \times 0.045}{a} \times 100$$

onde

a é a massa de pectina pesada (g), e

N_{NaOH} e V_{NaOH} são respectivamente a normalidade (N) e o volume (mL) da solução alcalina gasta para a titulação.

Grupamentos carboxil esterificados:

$$K_e = \frac{N_{NaOH} V_{NaOH} \times 0.045}{a} \times 100$$

onde

a é a massa de pectina pesada (g), e

N_{NaOH} e V_{NaOH} são respectivamente a normalidade (N) e o volume (mL) da solução alcalina gasta para a titulação do excesso de HCl adicionado após o processo de saponificação.

Grau de esterificação:

$$GE = \frac{K_e}{K_t} \times 100 = \left(\frac{K_t - K_f}{K_t} \right) \times 100 = \left(\frac{1 - K_f}{K_t} \right) \times 100$$

onde

K_e é o número de grupos carboxil esterificados;

K_f o número de grupos carboxil livres, e

K_t é o número total de grupos carboxil, $K_t = K_f + K_e$.

Avaliou-se também a viscosidade cinemática e intrínseca, a massa molar viscosimétrica e determinou-se o tamanho das cadeias poliméricas (Boчек et al., 2001; Do Nascimento Filho & De Melo Filho, 2016), conforme descrito a seguir

Viscosidade cinemática:

$$\eta_{cin} = K(t - u)$$

onde

η_{cin} é a viscosidade cinemática, $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$;

K é a constante do capilar n° 100;

t é a média do tempo de escoamento;

u é a correção da energia cinética.

Viscosidade específica e reduzida:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_{cin\ da\ solução} - \eta_{cin\ do\ solvente}}{\eta_{cin\ do\ solvente}}$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c} \times 100$$

onde

η_{sp} é a viscosidade específica;

η_{red} é a viscosidade reduzida, e

c é a concentração da solução.

A viscosidade intrínseca de Huggins é definida como o valor da viscosidade reduzida à diluição infinita. A viscosidade intrínseca da pectina foi determinada através do gráfico da viscosidade reduzida (η_{red}) versus concentração zero do polímero, conforme a equação abaixo

Viscosidade intrínseca de Huggins:

$$[\eta]_h = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red}$$

A massa molecular média viscosimétrica das amostras de pectina foi determinada pela aplicação da equação de Mark Houwink-Sakurada, a qual relaciona $[\eta]$ com M_v . A equação é descrita a seguir

$$[\eta] = K [M_v]^\alpha$$

onde

M_v é a massa média viscosimétrica;

K constante 0,30, e

α constante com valor de 0,613.

4.3.2. Caracterização da pectina

No intuito de obter informações referentes à estrutura e composição dos materiais, utilizaram-se técnicas para caracterização. Esta caracterização foi constituída por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), calorimetria exploratória diferencial e cristalografia de raio x.

4.4. Obtenção dos filmes

4.4.1. Planejamento do experimento

A pesquisa desenvolveu-se a partir do planejamento fatorial 2^3 para obter uma avaliação acurada da influência das variáveis (concentrações do polímero, concentração de quercetina e a concentração do plastificante) sobre os resultados analisados (propriedade mecânica, resistência a tração). Os dados serão avaliados com auxílio do software Minitab 19 e a Tabela 1 mostra as variáveis reais e seus valores codificados.

Tabela 1: Valores reais e codificados das variáveis. Valores apresentados em massa (g) de cada variável adicionada em mistura filmogênica de 50 mL

FATORES	NÍVEIS		
	-1	0	+1
Pectina	1,0000	1,2500	1,5000
Quercetina	0,0050	0,0075	0,0100
Glicerol	1,0000	1,2500	1,5000

4.4.2. Obtenção dos filmes

Os filmes foram produzidos pela técnica de casting, sendo preparados conforme Chaichi et al., 2017, com algumas modificações. Em 40 mL de água, adicionou-se o plastificante (glicerol) e homogeneizou-se por 30 min. Em seguida o polímero (pectina) foi adicionado, permanecendo sobre agitação constante por 24h. Após o período compreendido e quercetina foi solubilizado em 10 mL de água destilada. A solução de pectina/glicerol foi aquecida à 60 °C, e a solução de quercetina foi adicionada gota a gota. A solução resultante foi mantida em agitação a 60 °C por 4h em um aquecedor-agitador (Quimis, modelo Q261-22). As soluções ainda quentes foram vertidas em duas placas de Teflon de 8 cm de diâmetro e 1,5 cm de profundidade. As placas foram levadas para estufa de secagem e circulação (Ethiktechnology, modelo 400D) a 25 °C por 48h. As amostras foram produzidas de forma aleatórias e suas respectivas condições produtivas podem ser conferidas na Tabela 2.

Tabela 2: Condições experimentais para a produção dos filmes obtidos.

FILME	NÍVEIS		
	PECTINA	QUERCETINA	GLICEROL
F1	0	0	0
F2	-1	+1	+1
F3	-1	-1	+1
F4	0	0	0
F5	+1	+1	+1
F6	+1	+1	-1
F7	-1	+1	-1
F8	-1	-1	-1
F9	+1	-1	-1
F10	+1	-1	+1

4.5. Caracterização dos filmes

4.5.1. Propriedades visuais e morfológicas dos filmes

Inicialmente, os filmes foram avaliados visualmente para identificação dos exemplares que apresentassem maior uniformidade e aspecto úteis para a aplicação. A morfologia da superfície dos filmes foi examinada por um Microscópio eletrônico de varredura modelo Tescan® (Vega 3). Os filmes foram revestidos de ouro e fixados com o ajuda de uma fita adesiva dupla-face de carbono. Em seguida, as amostras foram observadas sob uma tensão de aceleração de 10,00 kV e ampliação máxima de 2Kx.

4.5.2. Espessura

A espessura dos filmes de foi determinada conforme a ASTM D5729-97, utilizando um micrômetro com contagem mínima de 0,001 mm antes de todos os testes. O filme é medido usando um micrômetro em cinco locais (centro e quatro cantos) por meio de uma leitura precisa e os valores expressos é a média das cinco leituras.

4.5.3. Opacidade

Cada amostra de filme foi cortada em uma peça retangular e posicionada no compartimento de leitura do espectrofotômetro, de forma que o feixe de luz transpassasse o material. A transmissão de luz dos filmes foi medida em comprimento de onda de 600 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis (Hach DR2700). A opacidade dos filmes foi calculada como a seguinte equação

$$\text{Opacidade (ABS.mm)} = \frac{ABS_{600}}{e \text{ (mm)}}$$

onde,

ABS_{600} é o valor da absorbância no comprimento de onda de 600 nm e, e é a espessura do filme em mm.

4.5.4. Solubilidade

Os filmes foram cortados em peças quadradas de 1 cm x 1 cm e secos até peso constante a 60 °C por 24 horas para obter a massa inicial do filme (F_i). Cada filme foi então colocado em uma célula contendo 20 ml de água destilada, e mantida pelo período de 24 horas sob agitação de 50 RPM e temperatura controlada de 25 °C. A solução resultante foi filtrada em filtros de fibra de vidro previamente preparados e secos em estufa a 60°C até massa constante para determinação da massa final do filme (F_f). Os testes foram realizados em triplicata. A solubilidade do filme foi calculada com a seguinte equação

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{F_i - F_f}{F_i} * 100$$

4.5.5. Taxa de transmissão de vapor de água

O estudo utilizado para avaliar a permeabilidade através de filmes poliméricos foi de acordo com ASTM (E96/E96M-16, 2016) com algumas adaptações. As amostras do filme com aproximadamente 20 mm de diâmetro foram fixadas na abertura superior de uma célula de vidro, contendo aproximadamente 1 g de agente secante (CaCl) em seu interior. As células seladas foram então pesadas e mantidas em dessecador contendo água

destilada em seu interior para a saturação de vapor de água dentro do sistema, mantendo temperatura constante de 35 °C. Monitorou-se a humidade dentro das células e no exterior (sistema dessecador). O ganho de peso das células cobertas com o os filmes foram avaliados inicialmente a cada 3 horas pelo período de 2 dias, e em seguida a cada 12 horas pelo período de 10 dias. As massas foram anotadas e os valores referentes a transmissão de vapor de água foram calculados com a seguinte equação

$$TVA (g/h.m^2) = \frac{G}{tA} = \frac{(G/t)}{A}$$

onde

G é a mudança da massa do agente secante, g,

t é o tempo, h,

G/t é o coeficiente angular da parte linear inicial da reta, g/h,

A é área de teste (área exposta do filme), m², e

TVA é a taxa de transmissão de vapor de água, g/h.m².

4.5.6. Análise mecânicas

Para a análise do comportamento mecânico, os filmes pré-condicionados foram cortados em moldes de 50 mm × 10 mm, cuja espessura foi medida em 4 pontos com um micrômetro. O teste de propriedades de tração foi realizado com um analisador montando as extremidades do filme na garra de extensão do analisador e esticando as amostras a uma taxa de 10 mm/min até a ruptura dos filmes. As propriedades mecânicas foram determinadas em termos de módulo de elasticidade (GPa), resistências ao escoamento (MPa), resistência a tração (MPa) e tensão de ruptura (MPa).

4.5.7. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

As membranas poliméricas foram analisadas por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), utilizando-se o módulo de Refletância Total Atenuada (ATR). As análises foram realizadas em temperatura ambiente, na região de 600 a 4000 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ em um Espectrômetro Perkin-Elmer FTIR.

4.5.8. Termogravimetria

Serão realizadas análises termogravimétricas dos filmes obtidos com o intuito de observar possíveis interações entre a quercetina e polímero, e possíveis alterações na estabilidade térmica dos componentes após o processo de síntese dos filmes. As medidas serão obtidas pelo aquecimento de aproximadamente 6 mg de amostra na faixa de temperatura de 30 - 300 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 0 mL.min⁻¹.

4.5.9. Calorimetria exploratória diferencial

Com o intuito de avaliar as possíveis alterações na formação dos filmes, foi realizada a análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) utilizando o calorímetro Shimadzu dsc 60 plus. Foram utilizados 6 mg de amostra com aquecimento a temperatura de 30 até 300 °C, em uma taxa de 10°C min⁻¹ e vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹. Foi utilizada um cadinho de alumínio fechado.

4.5.10. Difratometria de raio x

Para verificar a estrutura cristalina e determinar o grau de cristalinidade das amostras foi realizado o teste de difração de raios-X utilizando o difratômetro Difrátômetro Bruker®, com difração em ângulo de 2 Θ , variando de 5 a 80°, com resolução de 0,01°, usando radiação CuK α de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, com monocromador de grafite.

4.5.11. Atividade Antimicrobiana

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes foi utilizado a metodologia de disco difusão, baseado nos normas do CLSI com modificações (CLSI, 2019). Foi utilizada a espécie *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, colônias provenientes de culturas de 24 h a 35° C, foram adicionadas com alça bacteriológica em salina estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com a Escala 0,5 de Mac Farland (1x10⁸ UFC/mL). Para confirmação da concentração de microrganismos no inóculo foi realizada leitura em espectrofotômetro a 625 nm com absorvância variando entre 0,08 - 1,0. Após o

inóculo pronto embebeu-se swab estéril na suspensão bacteriana, comprimindo-o contra as paredes do tubo para tirar o excesso. Foi semeado de forma suave em pelo menos 5 direções em placa de Petri contendo Mueller Hinton Agar, abrangendo toda a superfície. Com auxílio de uma pinça flambada e resfriada, foi adicionado os discos dos filmes de pectina com 8 mm de diâmetro sobre a superfície do meio inoculado. Após, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 24h. Como controle positivo foram utilizados discos de Cloranfenicol (30 µg). Com o auxílio de uma régua mediu-se o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco. O experimento foi realizado em triplicata.

4.5.12. Atividade Antioxidante

A metodologia seguiu conforme descrito por Blois, 1958, com algumas modificações. Os filmes foram cortados em peças de 2 cm x 2 cm e solubilizados em 30 mL de água destilada por 4h a 25 °C. Em seguida 3,9 mL de solução de extrato dos filmes foram misturados com 0,1 mL de solução metanólica 1 mM de DPPH. A mistura foi agitada em um agitador vórtice (Phoenix, AP 56) e incubada no escuro em temperatura ambiente por 30 min, em seguida mediu-se as absorvâncias em comprimento de onda de 517 nm utilizando um espectrofotômetro (HACH DR2700). O controle negativo foi composto por 3,9 mL de metanol e 0,1 mL da solução de DPPH. A atividade antioxidante foi calculada usando a equação a seguir

$$\text{Porcentagem de inibição (\%)} = \frac{ABS_{controle} - ABS_{amostra}}{ABS_{controle}} * 100$$

onde

$ABS_{controle}$ é a absorvância do controle negativo e,

$ABS_{amostra}$ é a absorvância das amostras.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Rendimento da extração e caracterização da pectina

A natureza do material de partida e o processo de extração utilizado afetam diretamente o rendimento e as propriedades da pectina extraída (Levigne et al., 2002; Pagán et al., 2001) . A extração matéria-prima é geralmente realizada por tratamento ácido (pH 1,5 a 3) em altas temperaturas (70 a 90°C), utilizando ácido clorídrico, ácido nítrico ou, em alguns casos, ácido sulfúrico. Esta etapa permite a extração e solubilização de materiais de pectina de tecidos vegetais. Nessas condições, ocorrerão reações de degradação, como desesterificação e despolimerização (Stephen et al., 2016) com posterior precipitação em solvente orgânico.

O rendimento médio para as extrações realizadas foi de 15%, em relação à massa seca das cascas de laranjas. Valores próximos aos encontrados por Aina et al., 2012 (15,92%) e encontrados por Khan et al., 2015 (17%) em condições próximas ao processo de extração utilizado em nosso estudo. Os resultados encontrados foram superiores aos relatados nos trabalhos de Yang et al., 2018 (8,38% a 9,83%) e Bagde et al., 2017 (<6%). Sendo assim, os valores médios obtidos das extrações foram equivalentes aos relatados na literatura.

5.2. Grau de esterificação e propriedades viscosimétricas

A metodologia proposta por Bocek et al., 2001 é uma retrotitulação dos grupamentos esterificados da amostra. Um total de dez replicatas foram realizadas, e os valores apresentados é referente à médias e seu respectivos desvios padrões. A titulação inicial com NaOH determina os grupamentos carboxil livres, $7,36\% \pm 0,027$. O titulante NaOH é adicionada a fim de neutralizar o meio, e a amostra é agitada para favorecer a saponificação dos grupamentos carboxil esterificados, a fim de promover a conversão dos grupamentos COONa em grupamentos COOH. Ácido clorídrico é adicionado ao meio e o excesso é titulado com NaOH para determinação dos grupamentos carboxil esterificados, $8,67\% \pm 0,062$. A partir desta informação, obteve-se um grau de esterificação de $54,07\% \pm 0,088$, classificando o material extraído como de alto grau de metoxilação (J. S. Yang et al., 2018; Yapo, 2011). Conforme Hua et al., 2018, os fatores pH, temperatura e tempo influenciam diretamente o grau de esterificação

e o tamanho da cadeia polimérica, uma vez que as ligações do polissacarídeo podem sofrer hidrólise. O grau de esterificação é um importante fator para determinação do comportamento de gelificação das pectinas, assim como, a distribuição dos grupamentos pela estrutura do polímero. Ambos os tipos de pectina, baixo e alto grau de esterificação, podem formar filmes finos, porém, filmes de pectinas de baixo grau de esterificação necessitam de um cátion multivalente para formação de um filme consistente e homogêneo, em comparação, pectina de alto grau de metoxilação não necessitam da adição de cátions para formação de filmes (Mellinas et al., 2020). Sendo assim, torna-se possível o uso da pectina extraída na confecção de filmes finos e avaliação da possíveis processos de reticulação com moléculas bifuncionais.

Os parâmetros viscosimétricos foram determinados a fim de avaliar as características reológicas da pectina. A viscosidade intrínseca de Huggins, $78,64 \text{ mL.g}^{-1}$, foi definida como o valor da viscosidade reduzida à diluição infinita (Do Nascimento Filho & De Melo Filho, 2016). Como idealidade, segundo Shivangi et al., 2021, uma solução formadora de filme deve apresentar uma viscosidade moderada. O valor médio encontrado, pode apresentar para o filme uma propriedade negativa, uma vez que altos valores de viscosidade pode dificultar a dispersão dos compostos no meio, eliminar bolhas de ar visíveis e causar descontinuidades em filmes sólidos (Peressini et al., 2003).

A massa molecular média viscosimétrica, $\approx 333.000 \text{ g.mol}^{-1}$, foi definida pela aplicação da equação de Mark Houwink-Sakurada, relacionado a viscosidade intrínseca com a massa molecular média viscosimétrica (Masuelli, 2011, 2014). Ter conhecimento dos valores aproximados da massa molecular viscosimétrica dos polímeros utilizados na confecção de filmes finos é de grande importância, uma vez que esta pode alterar significativamente as propriedades mecânicas dos filmes. No processo de confecção a estrutura depende de várias forças físicas que estão atreladas à massa molecular viscosimétrica do polímero, tal como as interações polímero-polímero, polímero-solvente e polímero-superfície, combinado com as restrições dos efeitos de difusão do polímero conforme o solvente evapora (Affrossman & Stamm, 2000). As variações de massa molar encontradas em pectinas podem estar atreladas com as diversas formas de extração, fonte vegetal e matéria prima. Segundo Canteri et al., 2012,

as massas molares encontradas na literatura variam entre 20.000 a 360.000 g.mol⁻¹ e as amostras comerciais entre 35.000 a 120.000 g.mol⁻¹.

5.3. Aspectos físicos dos filmes obtidos

Conforme observado por Oakenfull & Scott, 1984, em pectinas de alto grau de metoxilação, a alternância de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas embutidas no emaranhado do polímero favorece a formação de zonas de junção, Figura 5, esta estrutura seria estabilizada por ligações de hidrogênio, linhas pontilhadas, e também por interação hidrofóbica dos grupos metil éster, círculos preenchidos (Walkinshaw & Arnott, 1981). Principalmente ligações de hidrogênio, necessariamente em conjunto com interações hidrofóbicas, contribuem para a energia livre de gelificação ou formação de zonas de junção neste tipo de pectinas (Perez et al., 2009).

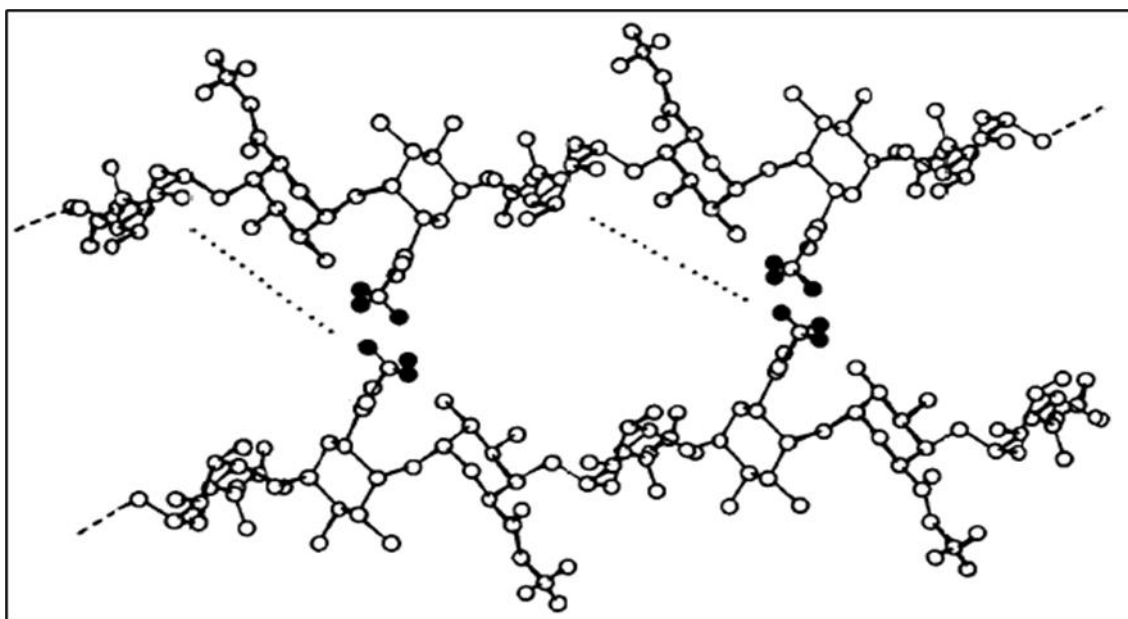


Figura 5: Estrutura das zonas de junção na estrutura polimérica de pectinas com alto teor de metoxilação (adaptada de Oakenfull & Scott, 1984).

A análise inicial, permitiu avaliar os filmes que apresentaram melhores aspectos para o uso pretendido. Os filmes obtidos, Figura 6, apresentaram propriedades visuais favoráveis para uso em recobrimento de feridas cutâneas. Em filmes com concentração maior de pectina (F5, F6, F9 e F10), aumenta-se as interações polímero-polímero significativamente, aumentando assim a viscosidade da solução, dificultando a eliminação de bolhas e diminuindo a

uniformidade dos filmes ocasionando regiões de falhas. Em testes preliminares sem a adição de glicerol, os filmes de pectinas eram frágeis e quebradiços. A inserção de um composto plastificante, o qual tem a função de reduzir as forças intermoleculares e aumentar a mobilidade das cadeias poliméricas (Gontard et al., 1993), implicam em mudanças nas características dos filmes produzidos, propiciando filmes não frágeis e mais flexíveis e apresentando alta resistência a dobra (300x).

O caráter catiônico da pectina em condições ácidas oferece a oportunidade de estabelecer interações eletrostáticas com outros compostos carregados negativamente. Os grupamentos de ácidos carboxílicos presentes na estrutura da pectina são passíveis de realizar reações de esterificação com as terminações OH da quercetina o que auxiliaria no processo de formação de filmes homogêneos.



Figura 6: Imagem dos filmes obtidos a partir das condições produtivas propostas pelo planejamento experimental.

A dispersividade e homogeneidade da quercetina nos filmes, pode ser avaliada pela análise morfológica superficial por microscopia eletrônica de varredura, Figura 7.

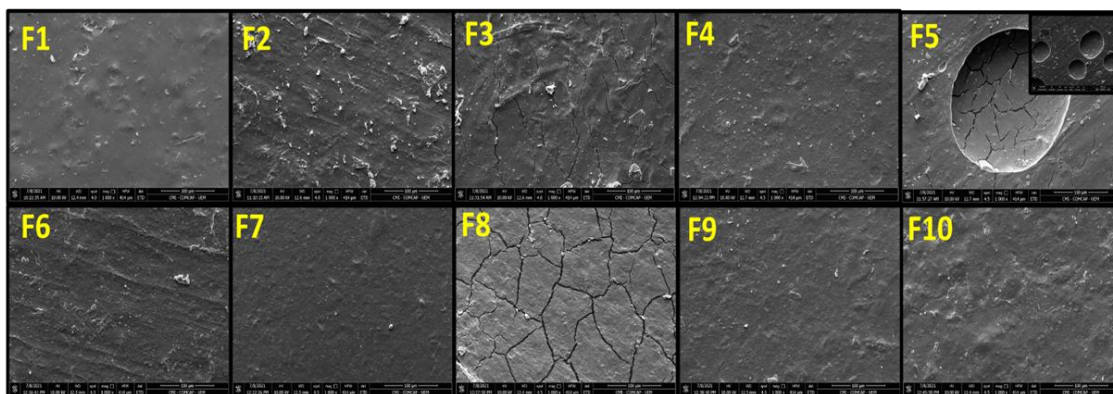


Figura 7: Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos filmes obtidos. Aceleração de 10,00 kV e ampliação de 1000x.

Algumas informações correlacionadas à microestrutura da matriz polimérica dos filmes pode ser avaliada e assim, fornecer possíveis explicações das causas de variação de algumas propriedades macroscópicas, como espessura, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água e assim por diante (Lei et al., 2019). Em geral, é possível evidenciar uma superfície lisa e uniforme, com pouca ou nenhuma evidência de partículas, caracterizando uma dispersão da quercetina pela matriz do filme. Pode-se observar que existem algumas diferenças na morfologia ao avaliar os filmes que possuem as condições produtivas mais distintas, F5 (fatores máximos) e F8 (fatores mínimos). Devido à alta viscosidade da solução, ocasionada pela interação polímero-polímero, o F8 apresenta zonas descontínuas com presença de cavidades devido a presença de bolhas na matriz do filme. Em contrapartida, o F5 apresenta zonas de descontinuidade com presença de rachaduras, deve-se ao fato de a solução apresentar baixa viscosidade devido a interações polímero-polímero em menor intensidade. O mesmo efeito observado no F5 pode ser identificado no F3, porém, em menor intensidade, uma vez que estes filmes se assemelham nas concentrações de pectina e quercetina.

5.4. Espessura, opacidade, solubilidade e TVA

Os resultados para espessura, opacidade, solubilidade e TVA são mostrados na Tabela 3. A espessura de filmes poliméricos influencia diretamente algumas propriedades, uma vez que estas estão diretamente ou inversamente relacionadas a este valor. Quando bem controlada, garante uniformidade superficial, permitindo a comparação das propriedades (Pellá et al., 2020). Porém, não é fácil controlar a espessura de filmes pelo método de casting devido ao fato de diferentes estruturas serem formadas em filmes de diferentes espessuras, pois a constituição da matriz ocorre mais rapidamente em filmes mais finos devido à menor quantidade de água para evaporar (Delgado et al., 2018). Usualmente, filmes mais finos propiciam melhores condições de uso para o recobrimento de feridas, uma vez que estes apresentam maior moldabilidade a superfícies irregulares. A espessura do filme variou de $(0,363 \pm 0,004)$ mm a $(0,170 \pm 0,015)$ mm para o F9 e F7, respectivamente. O modelo de regressão linear (R -quadrado = 95,78%), descreve que a variável pectina é a única que apresenta diferença significativa na espessura final dos filmes. Quão maior a concentração de pectina na solução formadora, maior a espessura dos filmes.

Outra propriedade que está ligada as espessuras dos filmes, é a opacidade, sendo um parâmetro importante em materiais que serão aplicados em recobrimento de feridas, devido ao fato de que a capacidade de um produto ser transparente permite a inspeção visual da ferida sem a necessidade de remoção do curativo (Brown-Etris et al., 2008; Mulder et al., 1993). Sendo assim, busca-se filmes que apresente índices de opacidade baixos. Os filmes apresentaram uma variação de $6,856 \pm 0,274$ Abs.mm a $1,833 \pm 0,096$ Abs.mm para F8 e F5 respectivamente. Estatisticamente, em um modelo de regressão múltipla, as variáveis pectina e quercetina apresentam interação significativa (R -quadrado = 93,59%). Opacidade tem correlação direta com o grau de cristalinidade do material. Polímeros com alto grau de cristalinidade geralmente apresentam caráter semitransparente ou opacos, diferentes de polímeros amorfos ou com baixo grau de cristalinidade que tendem a ser transparentes. A presença de inclusões muito pequenas ou de aditivos cristalitos, torna o material semitransparente, uma vez que estas inclusões atuam espalhando a luz. (Mano, 2000).

Tabela 3: Valores médios \pm desvio padrão da espessura (mm); opacidade (Abs_{600}/mm), solubilidade (%), e TTVA ($g/d.m^2$).

Filme	Espessura (mm)	Opacidade (Abs_{600}/mm)	Solubilidade (%)	Taxa de transmissão de vapor d'água ($g/d.m^2$)
F1	0,225 \pm 0,005	2,695 \pm 0,201	91,514 \pm 0,640	883,46
F2	0,180 \pm 0,001	4,046 \pm 0,219	89,418 \pm 1,002	895,17
F3	0,172 \pm 0,003	5,394 \pm 0,211	94,711 \pm 0,565	1079,01
F4	0,236 \pm 0,003	2,979 \pm 0,066	92,178 \pm 0,953	1010,21
F5	0,335 \pm 0,013	1,833 \pm 0,096	93,624 \pm 0,408	1021,91
F6	0,356 \pm 0,004	1,848 \pm 0,246	89,956 \pm 0,325	998,32
F7	0,170 \pm 0,015	4,248 \pm 0,369	93,551 \pm 0,454	1208,22
F8	0,190 \pm 0,007	6,856 \pm 0,274	93,350 \pm 0,662	1006,96
F9	0,363 \pm 0,004	2,889 \pm 0,132	88,204 \pm 0,314	1020,48
F10	0,356 \pm 0,003	3,247 \pm 0,120	91,887 \pm 0,262	901,57

Para os dados de solubilidade, os valores variaram de $88,204 \pm 0,314$ a $94,711 \pm 0,565$ para os filmes F9 e F3, respectivamente. O modelo de regressão múltipla descreve que todos os três fatores influenciam significativamente na resposta (R -quadrado = 80,15%), sendo a pectina e o glicerol os que mais contribuem com o modelo. A alta solubilidade dos filmes, deve-se principalmente à presença do plastificante, glicerol. O plastificante além de diminuir as forças coesivas afastando as cadeias poliméricas, apresentam caráter muito higroscópicos e altamente solúvel em água. Os valores altos de solubilidade dificultam o uso dos filmes em feridas com altos volumes de exudação, sendo indicados então para situações de e baixo ou médio exudato.

Além do interações polímero-polímero, polímero-superfície e polímero-solvente, a espessura e solubilidade podem estar associados aos valores da taxa de transmissão de vapor de água (TTVA). A TTVA é uma propriedade importante a ser avaliada em filmes quando se procura utilizá-los como curativos, uma vez que este parâmetro pode propiciar condições favoráveis ao processo de cicatrização (umidade e permeação de oxigênio). A análise TTVA avalia, com

referência ao arranjo de cadeias poliméricas, a interação entre água e a matriz polimérica, dando informações sobre o coeficiente de difusividade (Bertuzzi et al., 2007). Para polímeros homogêneos, a lei de Fick exige que o fluxo de vapor d'água, sob um dado gradiente de pressão de vapor, deve variar inversamente com a espessura do filme (Hauser & McLaren, 1948).

Conforme demonstrado na Tabela 3, os valores de TVA variam de 883,460 g/d.m² a 1208,22 g/d.m² para os filmes F1 e F7, respectivamente. Em filmes poliméricos ideais, a permeabilidade ao vapor de água deve ser independente da espessura do filme (Othman et al., 2017), o que estatisticamente é observado no estudo realizado, não apresentando interação significativa para nenhum dos fatores estudados. Buscou-se encontrar condições experimentais que inferisse o valor final de TVA, porém, esta propriedade é dependente de vários fatores que incluem a massa molecular, o grau de esterificação da pectina, a concentração de plastificantes adicionado e as condições de preparação do filme que influenciam a estrutura. Esses resultados corroboram com os valores de solubilidade, uma vez que filmes com maior solubilidade tendem a apresentar menor resistência à difusividade em água (Pellá et al., 2020).

5.5. Análises Mecânicas

Os valores encontrados para o módulo de elasticidade (MPa), resistência ao escoamento (MPa), resistência a tração (MPa), tensão de ruptura (MPa) e elasticidade (%) descritos na Tabela 4, foram ajustados a partir do gráfico de tensão (MPa) *versus* deformação (%), Figura 8.

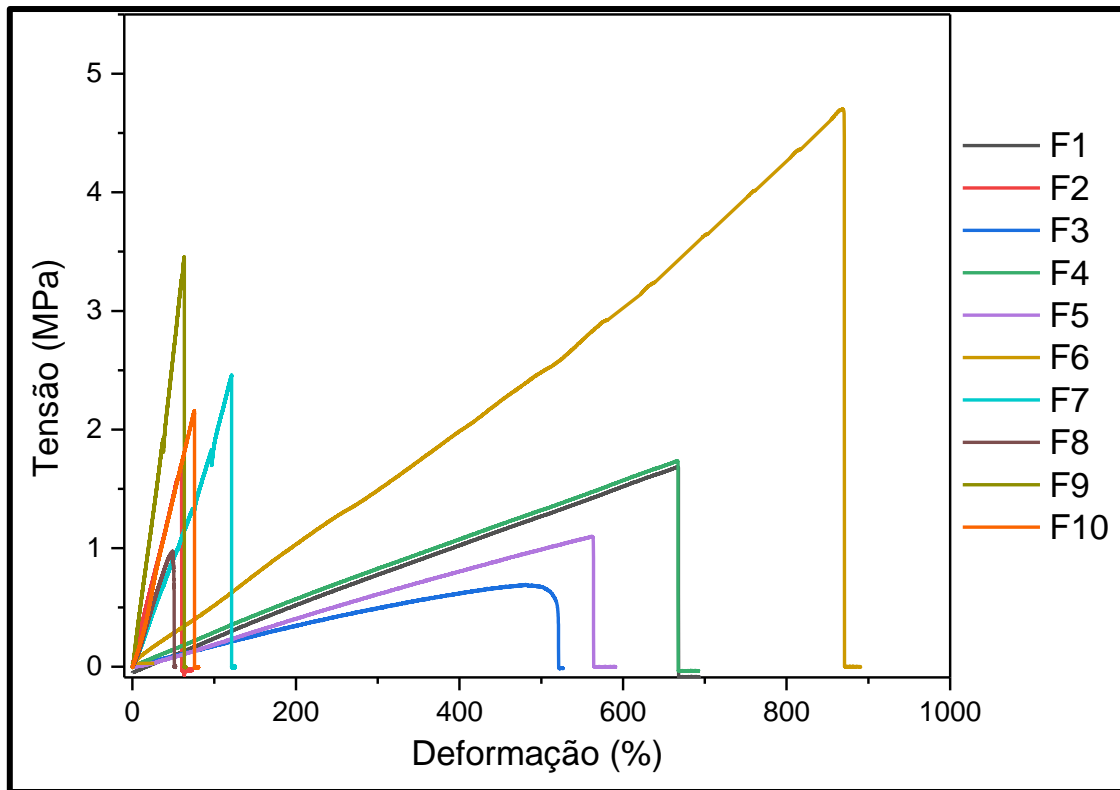


Figura 8: Gráfico de tensão *versus* deformação (MPa/%) dos filmes obtidos a partir do planejamento experimental.

O módulo de elasticidade e a resistência à tração compatíveis com o tecido danificado, são requisitos importantes dos materiais úteis na regeneração de tecidos (Bellini et al., 2015). Deve-se atentar às propriedades mecânicas mais significativas para o devido fim de uso. Segundo Hansmann, 2017, as principais propriedades mecânicas dos filmes biopoliméricos são resistência à tração e tensão de ruptura.

O módulo de elasticidade, módulo de Young, é a constante de proporcionalidade da tensão à deformação. Este parâmetro é uma medida da “rigidez” do filme, ou a capacidade do filme de suportar uma alta tensão enquanto sofre pouca deformação elástica (Banker, 1966). Os valores encontrados para o módulo de Young para os filmes produzidos, variaram de 0,0605 MPa a 0,0017 MPa para os filmes F9 e F3, respectivamente. Esperava-se uma relação entre as variáveis concentração de pectina e plastificante nos resultados do módulo de elasticidade, porém, estatisticamente com estas proporções utilizadas, não se pode concluir que estas variáveis tenham relação significativa ($p > 0,10$) com os valores de encontrado.

Tabela 4: Valores de módulo de elasticidade (MPa), resistência ao escoamento (MPa), resistência a tração (MPa) e tensão de ruptura (MPa) dos filmes.

Filme	Módulo de elasticidade (MPa)	Resistência ao escoamento (MPa)	Resistência à tração (MPa)	Tensão de ruptura (MPa)	Alongamento de ruptura (%)
F1	0,0032	0,5946	1,6884	1,3851	668
F2	0,0365	0,2970	1,7013	0,9192	60
F3	0,0017	0,4496	0,6899	0,3595	521
F4	0,0028	0,6646	1,7373	1,3764	666
F5	0,0022	0,5154	1,0989	0,9217	563
F6	0,0052	0,3251	4,7024	4,2070	872
F7	0,0156	0,9783	2,4590	2,2526	121
F8	0,0154	0,0847	0,9664	0,4570	51
F9	0,0605	0,8027	3,4515	3,2558	63
F10	0,0205	0,1184	2,1564	1,9465	76

O mesmo é observado para os valores de resistência ao escoamento. Esta propriedade está relacionada ao limite de tensão máxima que um material pode suportar sem que sofra deformação plástica (Oyekanmi et al., 2021), retornando a forma original inicial. Os valores variaram de 0,0847 MPa a 0,9783 MPa para os filmes F8 e F7, respectivamente. O modelo de regressão múltipla descreve que não há provas suficientes para concluir que algum dos fatores tenham relação estatisticamente relevante com os valores de escoamento encontrado. Os valores do módulo de elasticidade e resistência ao escoamento destoam do esperado, o qual seria uma normalização com o aumento ou diminuição do polímero e ou do plastificante. Isto pode ser explicado pela constituição do polímero, sua polidispersidade, e pelo fenômeno antiplastificante, no qual em baixas concentrações (abaixo do limiar de plastificação) o plastificante pode se distribuir no volume livre natural existente entre as cadeias do polímero, gerando uma restrição de movimento e conseqüentemente oscilações nos valores atribuídos à movimentação das cadeias (Moraru et al., 2002; Wypych, 2017).

A resistência à tração dos filmes variou na faixa de 0,6899 MPa a 4,7024 MPa, para os filmes F3 e F6 respectivamente. O modelo de regressão fatorial

descreve que há relação estatisticamente significativas entre as variáveis pectina e glicerol, podendo ser observado pelo gráfico de Pareto dos efeitos padronizados, Figura 9 , onde pode-se observar mais claramente os efeitos dos fatores na resposta, sendo que a linha vertical vermelha apresentada na figura representa o tamanho do efeito no nível de significância de 0,05.

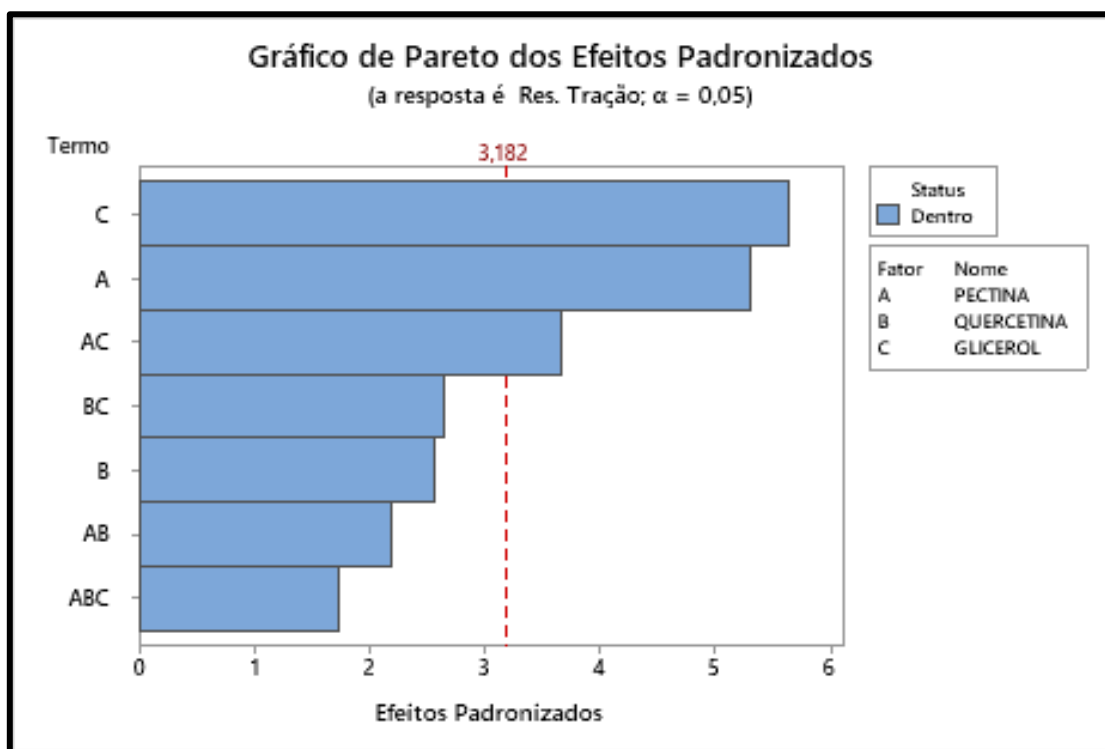


Figura 9: Gráfico de Pareto para a resposta Resistência à tração para os filmes de pectina obtidos.

Ao analisarmos a Figura 9, os termos com barras mais longas exercem maior influência sobre a resposta. É possível concluir que existe relação entre os fatores pectina e glicerol no modelo linear no nível de significância de 0,05. O modelo explica 74,91% da variação (R-quadrado). É possível observar ainda que a quercetina não apresenta interação estatisticamente significativa. Com intuito de avaliar a melhor condição experimental para maximizar a resposta da resistência à tração, a Figura 10 descreve a superfície de resposta onde é possível observar a interação entre os fatores pectina e glicerol. Para se obter filmes com maiores valores de resistência à tração, a condição experimental deve buscar valores máximo de pectina e valores mínimos de glicerol, o que corrobora com o princípio do efeito dos plastificantes, reduzindo as fortes interações intermoleculares entre as moléculas do polímero, diminuindo a

resistência mecânica dos mesmos (Aguirre et al., 2013; Razavi et al., 2015; Zhong & Li, 2014). O valores encontrados no filmes se encontram superiores aos descritos por Segura Ceniceros et al., 2006, com valores de variaram de 0,0441 MPa para filmes de pectina puro a 0,0196 MPa para filmes de pectina/glicerol.

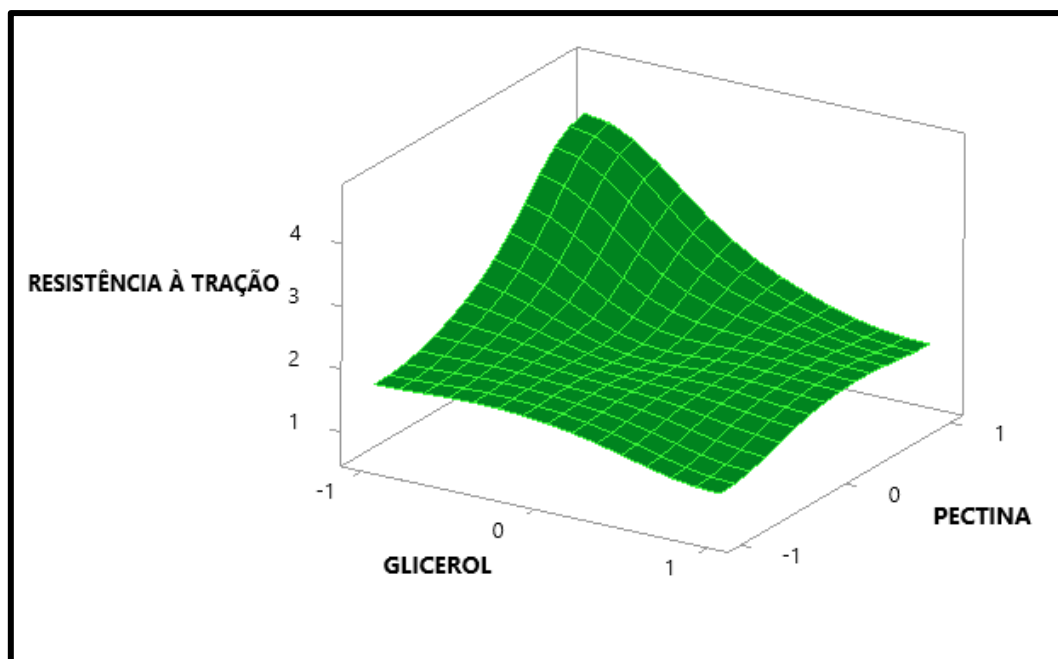


Figura 10: Gráfico de superfície de resposta de resistência à tração *versus* pectina; glicerol dos filmes obtidos.

As propriedades físicas descritas nos itens **5.4** e **5.5.**, são de grande importância na avaliação do uso destes filmes como novos materiais úteis em curativos para feridas. Caso os filmes sejam aplicados como substitutos dérmicos, faz-se necessário a realização além da comparação visual, a comparação das propriedades mecânicas com as da pele humana. Para os parâmetros descritos no item **5.4.**, os resultados de espessura e TVA apresentam maior importância para o uso pretendido, uma vez que filmes finos permitem maior moldabilidade a superfícies irregulares do corpo humano, e maiores valores de TVA representam maiores índices de umidade no local da ferida. O filme que apresentou melhores resposta para estes parâmetros foi o F7, com valores de espessura de $0,170 \pm 0,015$ mm e valores de TVA de $1208,22$ g/d.m².

Para os parâmetros, descrito nesta seção, **5.5.**, os valores referidos ao módulo de resistência a tração possuem grande importância ao uso pretendido,

uma vez que a resistência à tração dos filmes produzidas no presente trabalho, devem apresentar valor comparáveis ao da pele normal, que varia de 2,5 a 16 MPa (L. Wang et al., 2002), assim como os valores de alongamento na ruptura, os quais deve apresentar valores superiores aos da pele, que é cerca de 70% (Hansen & Jemec, 2002) . Corroborando com os dados da seção anterior, aos descritos nas análises mecânicas, o filme F7 pode ser classificado como um filme que atende aos requisitos descritos, apresentam um valor de resistência à tração de 2,4590 MPa e 121% de alongamento na ruptura. Apesar de outros filmes, isoladamente, apresentarem melhores resultados em comparação ao filme F7, a assimilação dos resultados apresentados, descrevem o filme F7 como o mais pretendido para o uso.

5.6. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

Com a finalidade de caracterizar quimicamente os precursores pectina e quercetina, avaliar as alterações no processo de formação do filme e possíveis reticulações entre os agentes, foi realizada a análise de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR). Como mostrado na Figura 11 A)., os espectros para os 10 filmes obtidos não apresentaram diferença observáveis, como surgimento, desaparecimento, ou até deslocamentos significativos de bandas.

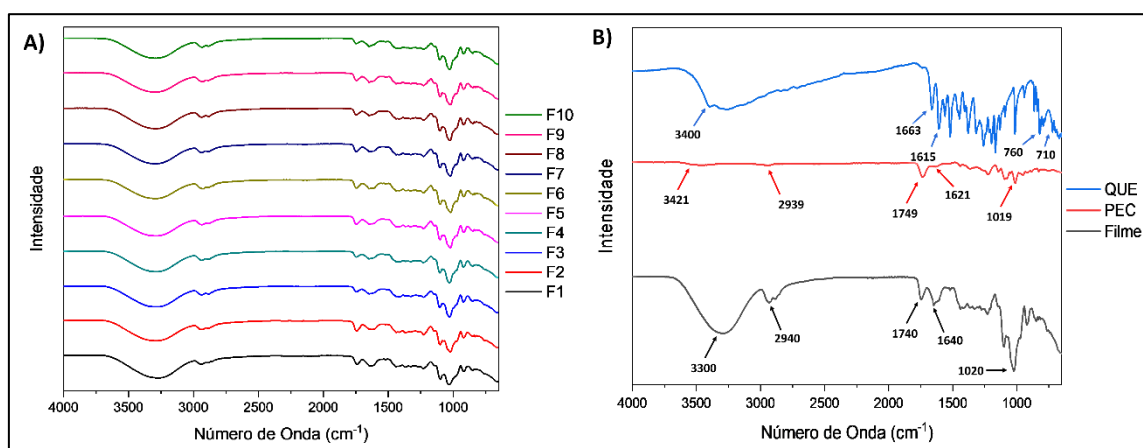


Figura 11: Espectros de infravermelhos com transformada de Fourier: A) espectros dos filmes obtidos a partir das condições produtivas propostas pelo planejamento experimental; B) espectros da quercetina, pectina extraída e do filme sobreposto para fim comparativo.

Para o espectro da pectina, Figura 11 B)., as bandas de absorção em 3421 cm^{-1} são atribuídas à vibração de alongamento O-H, em 2939 cm^{-1} ao

alongamento dos grupos CH e CH₂, o pico característico em 1621 cm⁻¹ e 1749 cm⁻¹ caracteriza a vibração de alongamento C=O de grupos éster metílico e carboxila (Wu et al., 2020). A banda em 1019 cm⁻¹, na região de impressão digital, são características de polissacarídeos (Santos et al., 2013). O espectro de infravermelho da quercetina exibiu várias bandas características de compostos fenólicos, as bandas em 3408 e 1663 cm⁻¹ foram atribuídas ao alongamento O-H e C=O, respectivamente, o alongamento C=C dos anéis e deformações O-H em 1615 cm⁻¹, as bandas referentes às meta-dissubstituição (710 cm⁻¹) e orto-dissubstituição (770 cm⁻¹) (Dinesh Kumar et al., 2015; J. Liu, Wang, et al., 2018; Mendoza-Wilson et al., 2011). As mudanças observadas no espectro dos filmes, em comparativo com os precursores prediz uma possível interação entre as cadeias poliméricas e a quercetina, atribuindo uma homogeneização na superfície do filme. Tal interação pode ser atribuída á processos de reticulação de baixa intensidade, podendo ser verificada pelas bandas em 1700 cm⁻¹ e 1740 cm⁻¹ características de ésteres formados pela reação de esterificação entre os ácidos carboxílicos da estrutura da pectina e as hidroxilas da quercetina (Pavia et al., 2001). As bandas em 1020 cm⁻¹ características de polissacarídeos ainda se encontra evidente.

5.7. Termogravimetria

As curvas termogravimétricas e derivadas primeira referentes aos filmes obtidos e da pectina extraída, estão apresentadas na Figura 13. A Tabela 5 descreve as temperaturas Onset relacionadas aos eventos de perda de massas.

Tabela 5: Temperatura Onset dos eventos de perda de massa inicial da amostra.

Amostra	Estágio de Decomposição					
	Primeiro estágio ($T_{\text{onset}}/^{\circ}\text{C}$)	Perda primeiro estágio (%)	Segundo estágio ($T_{\text{onset}}/^{\circ}\text{C}$)	Perda segundo estágio (%)	Terceiro estágio ($T_{\text{onset}}/^{\circ}\text{C}$)	Perda terceiro estágio (%)
PEC	50	16	228	84	-	-
F1	80	11	174	20	224	29
F2	82	10	145	37	213	24
F3	78	12	176	69	-	-
F4	72	11	180	65	-	-
F5	67	13	191	67	-	-
F6	57	13	168	65	-	-
F7	61	17	181	66	-	-
F8	57	12	185	73	-	-
F9	53	13	158	41	221	19
F10	45	12	172	69	-	-

A termogravimetria baseia-se nas mediações da variação de massa de uma amostra, como função da temperatura ou do tempo. Polímeros submetidos às condições térmicas, podem apresentar alterações estruturais características de rupturas de ligações químicas nas cadeias principais e laterais (Rodolfo Jr. & Mei, 2007). Desse modo, ter conhecimento do comportamento térmico de um polímero em estudo é de suma importância para determinar suas aplicações, uma vez que temperatura determina seu comportamento termodinâmico.

A literatura reporta que a incorporação de substâncias a um polímero pode alterar o perfil de degradação térmico (Banker, 1966; Coffin & Fishman, 1994; Rocha Plácido Moore et al., 2006). Essas alterações podem ser percebidas pelo aumento ou diminuição da resistência térmica dos materiais. Para observar este comportamento, avalia-se a mudança de temperatura dos eventos de degradação dos filmes em comparação ao polímero puro.

A análise de TGA descreve que a pectina apresentou dois eventos, o primeiro referente à uma perda de massa de até 16% na T_{onset} de 50 °C, que

está relacionada à evaporação da água presente na amostra. O segundo evento na T°_{onset} 228 °C e está relacionado à despolimerização das cadeias de pectina, degradação térmica (Ghaffari et al., 2007; Kodoth et al., 2019; Tripathi et al., 2010). Observa-se uma alteração no comportamento térmico da pectina na matriz dos filmes, sendo possível identificar a diminuição das temperaturas Onset referentes ao evento de degradação da pectina (Tabela 5), com T°_{onset} que variam de 145 – 191 °C.

O infográfico da Figura 12 apresenta o comparativo do comportamento termogravimétrico dos filmes obtidos e da pectina extraída.

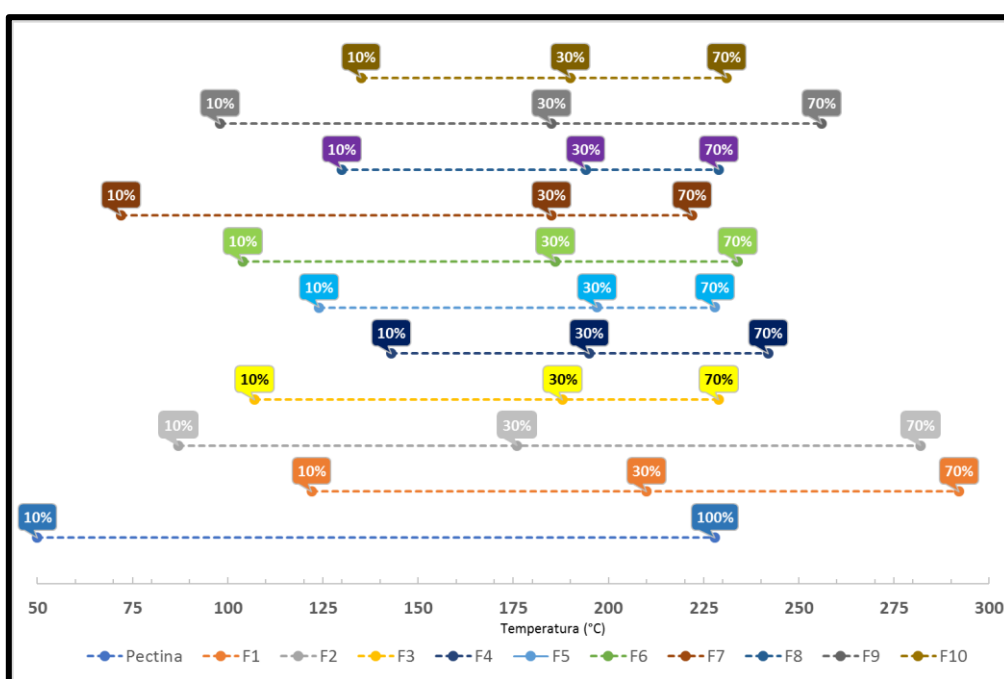


Figura 12: Infográfico comparativo da degradação térmica dos filmes obtidos e pectina extraída.

Correlacionando as informações descritas na Figura 12 com os dados de temperaturas Onset de perda de massa na Tabela 5, pode-se concluir que, a inserção dos compostos glicerol e quercetina na estrutura formadora do filme, são capazes de não somente em interferir na temperatura de degradação, como alterar todo o perfil termogravimétrico dos filmes.

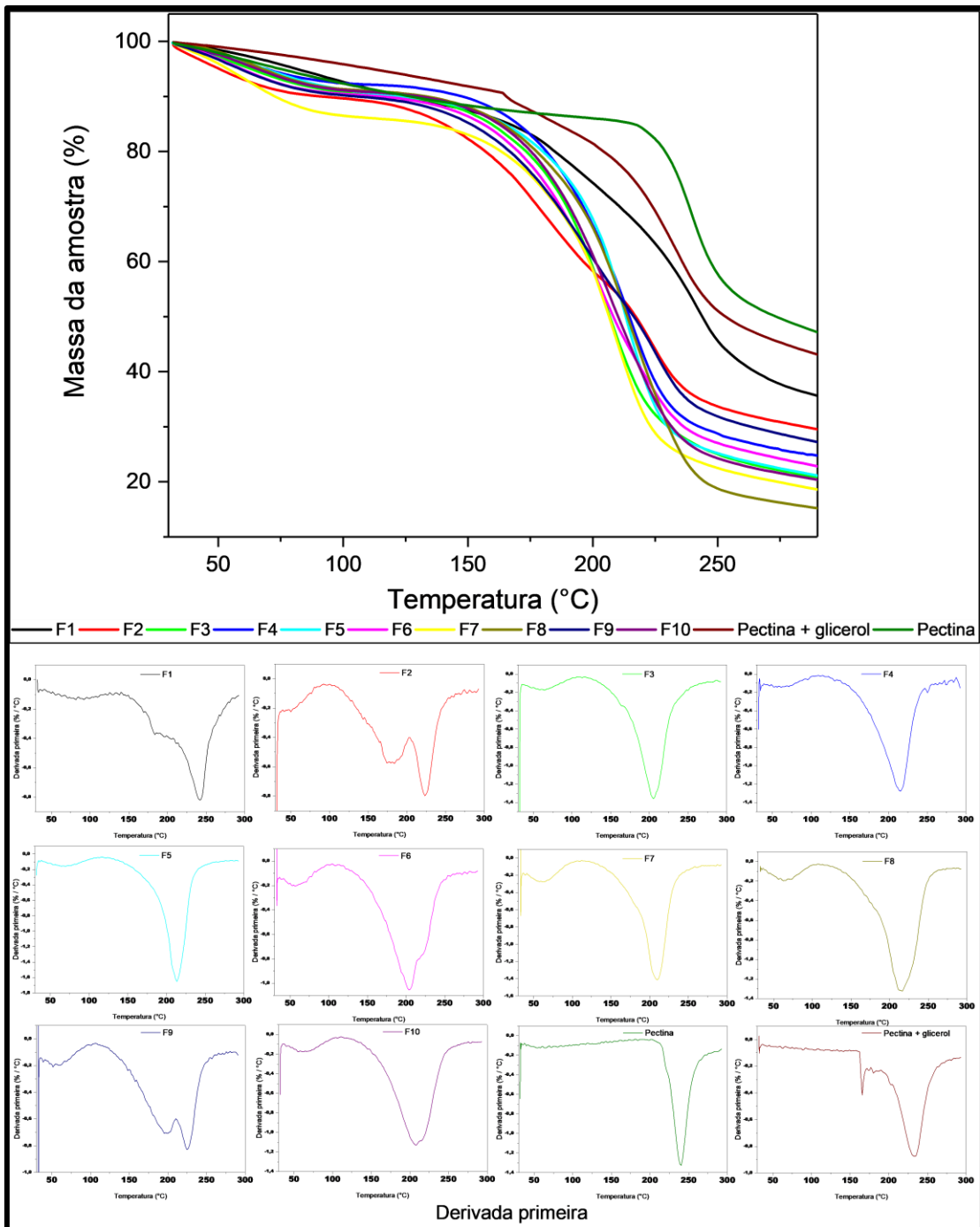


Figura 13: Termogramas e derivadas primeiras dos filmes obtidos e pectina extraída. (imagem de autoria própria, 2021)

5.8. Calorimetria exploratória diferencial

As análises de calorimetria exploratória diferencial, DSC, estão representadas na Figura 14. Observa-se que para o termograma da pectina, na faixa de temperatura analisada é possível identificar apenas um evento, um amplo pico endotérmico na faixa de 70 – 110 ° C, atribuído à evaporação das

moléculas de água, , indicando a natureza amorfa dessas moléculas (Feng et al., 2020; Roy & Rhim, 2021; Saravanan & Rao, 2010).

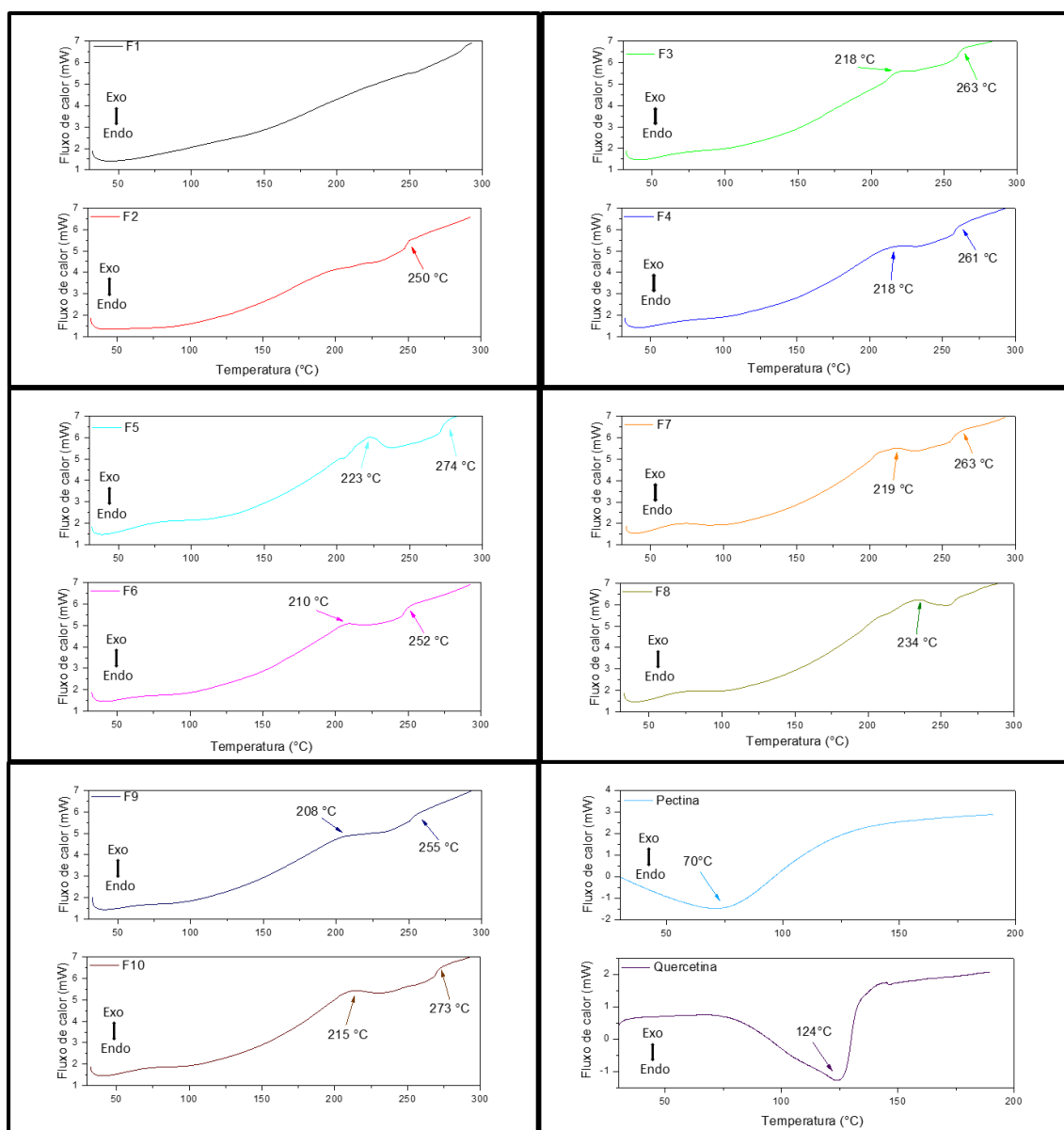


Figura 14: Termogramas de DSC dos filmes obtidos a partir das condições produtivas proposta pelo planejamento experimental, pectina extraída e quercetina (imagem de autoria própria, 2021).

A curva DSC para quercetina apresentou um pico endotérmico máximo em aproximadamente 124 °C, referente à perda de água (Pool et al., 2012; Valencia et al., 2021; Wisudyaningsih et al., 2019). Este evento térmico tem início em aproximadamente O ombro deste pico com início da temperatura a 73 °C, sugerindo que a molécula sofre um rearranjo, correspondendo a uma transformação das moléculas hidratadas na forma anidra (Da Costa et al., 2002).

Para os filmes obtidos por meio de diferentes concentrações de pectina, quercetina e glicerol, observa-se alterações nas temperaturas de degradação da pectina em cada filme. Estudos evidenciam picos exotérmicos na faixa de 230 °C referentes a decomposição térmica desses polissacarídeos (Aguilera et al., 1998; Einhorn-Stoll et al., 2007; Nisar et al., 2018). O que se observa é que o pico referente à decomposição da pectina é deslocado, variando de ≈ 208 a 234 °C, corroborando com os valores apresentados pela derivada primeira das análises de TGA. Tal efeito pode ser explicado pela presença do plastificante, que atua modificando a interação entre o polímero, aumentando o volume livre do sistema e, conseqüentemente, o aumento da motilidade da cadeia e redução das temperaturas dos eventos (Valdés et al., 2015; W. Wang et al., 2016).

5.9. Difratomia de raio x

Foram investigados os padrões de raios X dos materiais de partida separadamente (pectina e quercetina) assim como dos filmes, a fim de investigar as morfologias, uniformidade e determinar as tendências cristalinas produzida. Os difratogramas de raio x apresentados na Figura 15 descrevem o comportamento cristalográfico das amostras.

O espectro para a pectina corrobora com os resultados de DSC, apresentando uma alta amorficidade dessas moléculas, a literatura descreve que a pectina não apresenta nenhum valor máximo no padrão de difração devido ao seu caráter amorfo (Khodzhaeva et al., 2003; A. Kumar & Chauhan, 2010b). Comparando os resultados obtidos com a literatura, observa-se grande similaridade nos resultados encontrados por Chaichi et al., 2017 e Nisar et al., 2019. No difratograma de raios-X da quercetina, é possível observar picos nítidos no ângulo de $2\theta = 10.59^\circ$, 12.13° , 15.54° , 23.65° e 26.73° , comportamento também observado por Pralhad & Rajendrakumar, 2004 e Z. Yang et al., 2010. Ao analisar os difratogramas dos filmes obtidos, observa-se uma alteração no comportamento cristalográfico dos filmes em comparação aos seus precursores. Tal comportamento indica interação efetiva entre a pectina, o glicerol e a quercetina a ponto de interferir na cristalinidade, corroborando com o observado nas análises de DSC e FTIR. Observa-se também a predominância do comportamento amorfo nos filmes, indicando que a quercetina não está presente no material na sua forma cristalina após o processo de confecção, existindo no

estado amorfo (Latos-brozio et al., 2020; Pralhad & Rajendrakumar, 2004; Z. Yang et al., 2010).

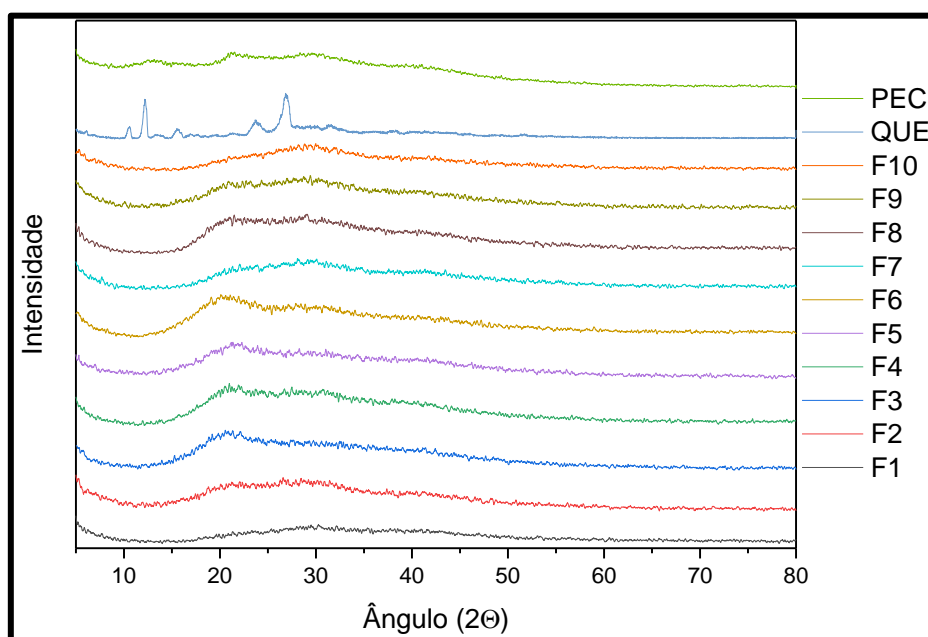


Figura 15: Difratoograma da pectina, quercetina e dos filmes obtidos a partir das condições experimentais (imagem de autoria própria, 2021).

5.10. Atividade antimicrobiana e antioxidante

A fisiologia normal da cicatrização de feridas depende de baixos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e estresse oxidativo (Dunnill et al., 2017). Uma superexposição ao estresse oxidativo leva à dificuldade de cicatrização de feridas (Nita & Grzybowski, 2016). As moléculas antioxidantes são substâncias que inibem o processo de oxidação, oferecendo resistência ao estresse oxidativo, auxiliando no processo de eliminação de radicais livres e inibição de processos de peroxidação lipídica (Y.A. Barku, 2019). Diversos flavonóides são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante, em destaque a quercetina.

Para determinação da atividade antioxidante dos filmes, utilizou-se o método de eliminação do radical DPPH. O DPPH possui um radical livre de hidrogênio e apresenta absorção característica a 517 nm. Ao encontrar os sequestradores de radicais, a cor roxa da solução de DPPH desaparece rapidamente (Zhang et al., 2008). Os valores referentes as porcentagens de atividade antioxidante dos filmes obtidos, estão descritos nas Tabela 6.

Tabela 6: Valores médios \pm desvio padrão das porcentagens de atividade antioxidante dos filmes obtidos.

Amostra	Atividade antioxidante (%)
F1	41,78 \pm 0,34
F2	44,44 \pm 0,82
F3	40,32 \pm 0,67
F4	42,17 \pm 0,47
F5	45,37 \pm 0,17
F6	43,84 \pm 0,91
F7	44,44 \pm 0,82
F8	40,43 \pm 0,57
F9	40,49 \pm 0,62
F10	40,84 \pm 0,50

Os valores obtidos dos filmes, variaram entre 40,32 \pm 0,67% a 45,37 \pm 0,17% para os filmes F3 e F5, respectivamente. A análise de regressão simples, descreve que a variável quercetina é única que apresente diferença significativa (R-quadrado = 94,27). Diversos autores descrevem a atividade antioxidante da quercetina e sua usabilidade em sistemas de cicatrização de feridas (Cominosanz et al., 2021; Ghiselli et al., 1998; Zhang et al., 2008). Os valores encontrados foram superiores ao descritos por Rubini et al., 2020, em estudo equivalente (aproximadamente 35%).

As propriedades antibacterianas dos filmes de pectina contendo quercetina foram avaliadas por meio de um teste de difusão em disco, baseadas nas normas de CLSI com modificações (CLSI, 2019). Apesar da atividade antimicrobiana da quercetina contra diferentes cepas bacterianas ter sido demonstrada anteriormente (Bonvicini et al., 2017; Rubini et al., 2020), os filmes obtidos não apresentaram formação de halos de inibição para o microrganismo *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). Todas as amostras testadas se liquefizeram, após o período de 24h a 35 °C, Figura 16, porém, foi possível observar que não houve nenhum crescimento sobre ou sob os discos, assim como, não se evidenciou contaminação externa. Este resultado não desqualifica os filmes para o uso pretendido, apenas deve-se atentar ao uso em sistemas de baixo a médios exsudatos, como já descrito.

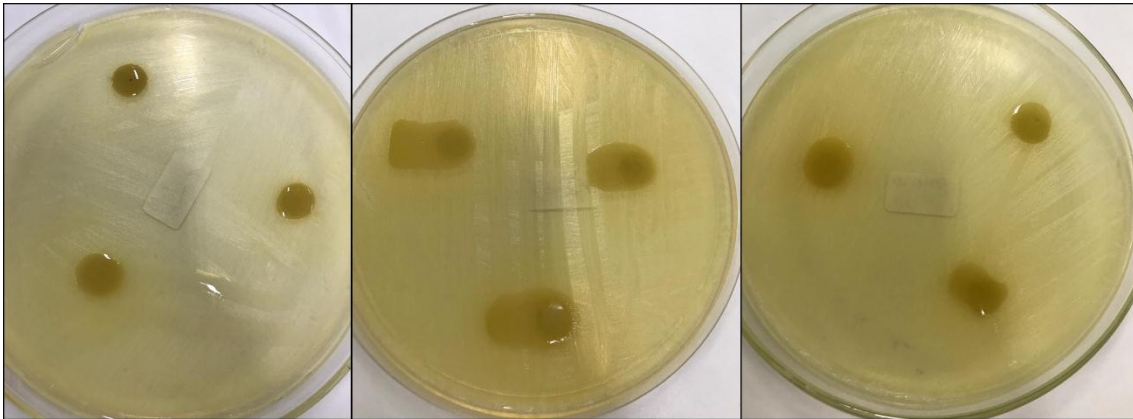


Figura 16: Teste de suscetibilidade antimicrobiana de cepas do biotipo de *S. aureus*, usando teste de difusão em disco. a) filme F7; b) filme F3; c) filme F5. (imagem de autoria própria, 2021).

Os resultados encontrados para o filme F7, para os testes de atividade antioxidante e antimicrobiana, complementam os resultados apresentados nas seções **5.4.** e **5.5.** O filme F7 apresentou valores médios de atividade antioxidante de $44,44 \pm 0,82\%$, valores mais altos que outros filmes experimentados nesta pesquisa, assim como, não se evidenciou a formação de colônias de microrganismos sobre ou sob os filmes.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível encontrar parâmetros que permitissem a produção de um filme de pectina contendo quercetina com aspectos visuais, adequados para o uso no tratamento de feridas.

Os resultados das análises mecânicas e de caracterização, por meio dos tratamentos estáticos, permitiram avaliar as melhores condições experimentais para obtenção dos filmes de acordo com o uso pretendido.

As técnicas espectroscópicas e termogravimétricas auxiliaram no processo de entendimento não somente da caracterização dos filmes obtidos, mas também das possíveis interação entre os materiais de partida. Evidenciou-se a reação de esterificação, observadas pela mudança do perfil cristalográfico do material e das bandas de absorção no espectro de infravermelho, caracterizado pelas bandas características de ésteres entre a pectina e a quercetina;

A análise da atividade antioxidante descreve um material que apresentam grande potencial, característica que potencializa seu uso processos de cicatrização. A atividade antimicrobiana descreve que, apesar de não haver formação de halos de inibição, não se evidenciou o crescimento de microrganismos sobre ou sob os filmes.

Devido a fatores como, a região do corpo a ser tratada, o estágio do tratamento e a intensidade do ferimento, não se é possível estabelecer um consenso geral a respeito dos valores ideais que os filmes curativos precisam apresentar. Porém, para a pesquisa realizada e para os parâmetros avaliados, o filme F7 apresenta grande potencial para o uso como curativos para feridas, tomando-se devidos cuidado para suas aplicações.

7. REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

- Abayomi Kayode, O. (2017). Epidemiological Study on Wound Distribution Pattern in Horses Presented at Two Veterinary Clinics in South West, Nigeria between 2007- 2010. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 5(4), 127–129. <https://doi.org/10.15406/jdvar.2017.05.00148>
- Abbasi, M., Sohail, M., Minhas, M. U., Khan, S., Hussain, Z., Mahmood, A., Shah, S. A., & Kousar, M. (2019). Novel biodegradable pH-sensitive hydrogels: An efficient controlled release system to manage ulcerative colitis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 83–96. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.046>
- Abdelrahman, T., & Newton, H. (2011). Wound dressings: Principles and practice. *Surgery*, 29(10), 491–495. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2011.06.007>
- Affrossman, S., & Stamm, M. (2000). The effect of molecular weight on the topography of thin films of blends of poly (4-bromostyrene) and polystyrene. *Colloid and Polymer Science*, 278, 888–893. <https://doi.org/10.1007/s003960000359>
- Aguilera, J. M., Cuadros, T. R., & Del Valle, J. M. (1998). Differential scanning calorimetry of low-moisture apple products. *Carbohydrate Polymers*, 37(1), 79–86. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00030-7](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00030-7)
- Aguirre, A., Borneo, R., & León, A. E. (2013). Properties of triticale protein films and their relation to plasticizing-antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol. *Industrial Crops and Products*, 50, 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.043>
- Aina, V. O., Barau, M. M., Mamman, O. A., Zakari, A., Haruna, H., Hauwa Umar, M. S., & Abba, Y. B. (2012). Extraction and Characterization of Pectin from Peels of Lemon (*Citrus limon*), Grape Fruit (*Citrus paradisi*) and Sweet Orange (*Citrus sinensis*). *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(6), 259–262.
- Andriotis, E. G., Eleftheriadis, G. K., Karavasili, C., & Fatouros, D. G. (2020). Development of bio-active patches based on Pectin for the treatment of Ulcers and wounds using 3D-bioprinting technology. *Pharmaceutics*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010056>

- Atala, E., Fuentes, J., Wehrhahn, M. J., & Speisky, H. (2017). Quercetin and related flavonoids conserve their antioxidant properties despite undergoing chemical or enzymatic oxidation. *Food Chemistry*, *234*, 479–485. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.023>
- Bagde, P. P., Dhenge, S., & Bhivgade, S. (2017). Extraction of Pectin from Orange Peel and Lemon Peel. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*, *4*(3), 1–7.
- Banker, G. S. (1966). Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *55*(1), 81–89. <https://doi.org/10.1002/jps.2600550118>
- Bellini, M. Z., De Oliva-Neto, P., & Moraes, A. M. (2015). Properties of Films Obtained from Biopolymers of Different Origins for Skin Lesions Therapy. *Arch. Biol. Technol. V*, *5858*(22), 289–299. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-8913201500305>
- Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, *80*(3), 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016>
- Bhamare, A., Surawase, R., Shinkar, D., & More, Y. (2018). Transdermal drug delivery system an overview. In *Indo American Journal of Pharmaceutical Research* (Vol. 8, Issue 05).
- Bigucci, F., Luppi, B., Monaco, L., Cerchiara, T., & Zecchi, V. (2008). Pectin-based microspheres for colon-specific delivery of vancomycin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *61*(1), 41–46. <https://doi.org/10.1211/jpp/61.01.0006>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. *Nature*, *181*(4617), 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., & Eccleston, G. M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *97*(8), 2892–2923. <https://doi.org/10.1002/jps.21210>
- Bochek, A. M., Zabivalova, N. M., & Petropavlovskii, G. A. (2001). Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. *Russian Journal of Applied Chemistry*, *74*(5), 796–799. <https://doi.org/10.1023/A:1012701219447>
- Bonvicini, F., Antognoni, F., Mandrone, M., Protti, M., Mercolini, L., Lianza, M.,

- Gentilomi, G. A., & Poli, F. (2017). Phytochemical analysis and antibacterial activity towards methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of leaf extracts from *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Plant Biosystems*, *151*(4), 649–656. <https://doi.org/10.1080/11263504.2016.1190418>
- Brown-Etris, M., Milne, C., Orsted, H., Gates, J. L., Netsch, D., Punchello, M., Couture, N., Albert, M., Attrell, E., & Freyberg, J. (2008). A prospective, randomized, multisite clinical evaluation of a transparent absorbent acrylic dressing and a hydrocolloid dressing in the management of Stage II and shallow Stage III pressure ulcers. *Advances in Skin & Wound Care*, *21*(4), 169–174. <https://doi.org/10.1097/01.asw.0000305429.01413.f8>
- Canteri-Schemin, M. H., Fertoni, H. C. R., Waszczyński, N., & Wosiacki, G. (2005). Extraction of pectin from apple pomace. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *48*(2), 259–266. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000200013>
- Canteri, M. H. G., Moreno, L., Wosiacki, G., & De Scheer, A. P. (2012). Pectin: From raw material to the final product. *Polímeros*, *22*(2), 149–157. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282012005000024>
- Chaichi, M., Hashemi, M., Badii, F., & Mohammadi, A. (2017). Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, *157*, 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.062>
- Coffin, D. R., & Fishman, M. L. (1994). Physical and mechanical properties of highly plasticized pectin/starch films. *Journal of Applied Polymer Science*, *54*(9), 1311–1320. <https://doi.org/10.1002/app.1994.070540913>
- Comino-sanz, I. M., López-franco, M. D., Castro, B., & Pancorbo-hidalgo, P. L. (2021). The role of antioxidants on wound healing: a review of the current evidence. *Preprints*, July. <https://doi.org/10.20944/preprints202107.0361.v1>
- Da Costa, E. M., Barbosa Filho, J. M., Do Nascimento, T. G., & Macêdo, R. O. (2002). Thermal characterization of the quercetin and rutin flavonoids. *Thermochimica Acta*, *392–393*, 79–84. [https://doi.org/10.1016/s0040-6031\(02\)00087-4](https://doi.org/10.1016/s0040-6031(02)00087-4)
- Delgado, J. F., Peltzer, M. A., Wagner, J. R., & Salvay, A. G. (2018). Hydration and water vapour transport properties in yeast biomass based films: A study of plasticizer content and thickness effects. *European Polymer Journal*,

- 99(July 2017), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.11.051>
- Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings - A review. *BioMedicine (Netherlands)*, 5(4), 24–28. <https://doi.org/10.7603/s40681-015-0022-9>
- Dinesh Kumar, V., Verma, P. R. P., & Singh, S. K. (2015). Development and evaluation of biodegradable polymeric nanoparticles for the effective delivery of quercetin using a quality by design approach. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.020>
- Do Nascimento Filho, W. B., & De Melo Filho, A. A. (2016). Rheological study of pectin extracted from the passion fruit bark. *Revista Virtual de Quimica*, 8(3), 838–855. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160061>
- Dunnill, C., Patton, T., Brennan, J., Barrett, J., Dryden, M., Cooke, J., Leaper, D., & Georgopoulos, N. T. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. *International Wound Journal*, 14(1), 89–96. <https://doi.org/10.1111/iwj.12557>
- E96/E96M-16. (2016). *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Shipping Containers* (Patent No. E96M). https://doi.org/10.1520/E0096_E0096M-16
- Einhorn-Stoll, U., Kunzek, H., & Dongowski, G. (2007). Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1101–1112. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.08.004>
- Feng, S., Wang, D., Gan, L., Shao, P., Jiang, L., & Sun, P. (2020). Preparation and characterization of zein/pectin-based phytosterol nanodispersions and kinetic study of phytosterol release during simulated digestion in vitro. *Lwt*, 128(January), 109446. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109446>
- Ghaffari, A., Navaee, K., Oskoui, M., Bayati, K., & Rafiee-Tehrani, M. (2007). Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit® RS intended for sigmoidal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(1), 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.01.013>
- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., & Scaccini, C. (1998). Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated from an Italian Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2). <https://doi.org/10.1021/jf970486b>

- Gontard, N., Guibert, S., & Cuq, J.-L.-L. (1993). Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. *Journal of Food Science*, *58*(1), 206–211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x>
- Hansen, B., & Jemec, G. B. E. (2002). The mechanical properties of skin in osteogenesis imperfecta. *Archives of Dermatology*, *138*(7), 909–911. <https://doi.org/10.1001/archderm.138.7.909>
- Hansmann, P. E. (2017). *Propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água de filmes de quitosana secos em condições de ar controladas utilizando bomba de calor*. Universidade Feredal do Rio Grande.
- Hauser, P. M., & McLaren, A. D. (1948). Permeation through and Sorption of Water Vapor by High Polymers. *Industrial & Engineering Chemistry*, *40*(1), 112–117. <https://doi.org/10.1021/ie50457a032>
- Henry, G., & Garner, W. L. (2003). Inflammatory mediators in wound healing. *Surgical Clinics of North America*, *83*(3), 483–507. [https://doi.org/10.1016/S0039-6109\(02\)00200-1](https://doi.org/10.1016/S0039-6109(02)00200-1)
- Hua, X., Yang, H., Din, P., Chi, K., & Yang, R. (2018). Rheological properties of deesterified pectin with different methoxylation degree. *Food Bioscience*, *23*(March), 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.03.011>
- Ivey, K. L., Hodgson, J. M., Croft, K. D., Lewis, J. R., & Prince, R. L. (2015). Flavonoid intake and all-cause mortality. *American Journal of Clinical Nutrition*, *101*(5), 1012–1020. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.073106>
- J.Rogers, R. P. S. (1962). © 1962 Nature Publishing Group. *Nature International Journal of Science*, *196*, 1048–1050.
- Jantrawut, P., Bunrueangtha, J., Suerthong, J., & Kantrong, N. (2019). Fabrication and characterization of low methoxyl pectin/gelatin/carboxymethyl cellulose absorbent hydrogel film for wound dressing applications. *Materials*, *12*(10). <https://doi.org/10.3390/ma12101628>
- Jeong, B., Kim, S. W., & Bae, Y. H. (2012). Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *64*(SUPPL.), 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.012>
- Khan, M., Bibi, N., & Zeb, A. (2015). Optimization of Process Conditions for Pectin Extraction from Citrus Peel. *Science, Technology and Development*, *34*(1),

- 9–15. <https://doi.org/10.3923/std.2015.9.15>
- Khodzhaeva, M. A., Turakhozhaev, M. T., Khachaturova, R. V., Burkhanova, N. D., Yugai, S. M., Yunusov, M. Y., & Nikonovich, G. V. (2003). Properties of the polycomplex of apple pectin with benzimidazolyl-2- methylcarbamate hydrochloride after micronization. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(1), 41–45. <https://doi.org/10.1023/A:1024180529639>
- Kodoth, A. K., Ghate, V. M., Lewis, S. A., Prakash, B., & Badalamoole, V. (2019). Pectin-based silver nanocomposite film for transdermal delivery of Donepezil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.191>
- Kokabi, M., Sirousazar, M., & Hassan, Z. M. (2007). PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European Polymer Journal*, 43(3), 773–781. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.11.030>
- Kravtchenko, T. P., Arnould, I., Voragen, A. G. J., & Pilnik, W. (1992). Improvement of the selective depolymerization of pectic substances by chemical β -elimination in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 19(4), 237–242. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(92\)90075-2](https://doi.org/10.1016/0144-8617(92)90075-2)
- Kumar, A., & Chauhan, G. S. (2010a). Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 454–459. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.001>
- Kumar, A., & Chauhan, G. S. (2010b). Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 454–459. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.001>
- Kumar, S. S. D., Houreld, N. N., & Abrahamse, H. (2019). Biopolymer-Based Composites for Medical Applications. In *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.10557-0>
- Latos-brozio, M., Masek, A., & Technology, D. (2020). *Polymeric Flavonoids Obtained by Cross-Linking*.
- Lei, Y., Wu, H., Jiao, C., Jiang, Y., Liu, R., Xiao, D., Lu, J., Zhang, Z., Shen, G., & Li, S. (2019). Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan

- composite edible films incorporated with tea polyphenol. *Food Hydrocolloids*, 94(December 2018), 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.011>
- Levigne, S., Ralet, M. C., & Thibault, J. F. (2002). Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymers*, 49(2), 145–153. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(01\)00314-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(01)00314-9)
- Lin, C. C., & Metters, A. T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12–13), 1379–1408. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.004>
- Liu, J., Meng, C.-G., Yan, Y.-H., Shan, Y.-N., Kan, J., & Jin, C.-H. (2016). Protocatechuic acid grafted onto chitosan: Characterization and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 518–526. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.089>
- Liu, J., Pu, H., Chen, C., Liu, Y., Bai, R., Kan, J., & Jin, C. (2018). Reaction Mechanisms and Structural and Physicochemical Properties of Caffeic Acid Grafted Chitosan Synthesized in Ascorbic Acid and Hydroxyl Peroxide Redox System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(1), 279–289. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05135>
- Liu, J., Wang, X., Yong, H., Kan, J., Zhang, N., & Jin, C. (2018). Preparation, characterization, digestibility and antioxidant activity of quercetin grafted Cynanchum auriculatum starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.101>
- Liu, L. S., Liu, C. K., Fishman, M. L., & Hicks, K. B. (2007). Composite films from pectin and fish skin gelatin or soybean flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2349–2355. <https://doi.org/10.1021/jf062612u>
- Lv, X., Ye, F., Li, J., Ming, J., & Zhao, G. (2016). Synthesis and characterization of a novel antioxidant RS4 by esterifying carboxymethyl sweetpotato starch with quercetin. *Carbohydrate Polymers*, 152, 317–326. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.023>
- Mano, E. B. (2000). Polímeros como Materiais de Engenharia. *Editora Edgard Blucher LTDA*, 1947, 197.
- Masuelli, M. A. (2011). Viscometric study of pectin. Effect of temperature on the

- hydrodynamic properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(2), 286–291. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.11.014>
- Masuelli, M. A. (2014). Mark-Houwink Parameters for Aqueous-Soluble Polymers and Biopolymers at Various Temperatures. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*, 2(2), 37–43. <https://doi.org/10.12691/jpbpc-2-2-2>
- Matta, E., & Bertola, N. (2020). Development and characterization of high methoxyl pectin film by using isomalt as plasticizer. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(8), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14568>
- Mellinas, C., Ramos, M., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2020). Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. *Materials*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/ma13030673>
- Mendoza-Wilson, A. M., Santacruz-Ortega, H., & Balandrán-Quintana, R. R. (2011). Spectroscopic and computational study of the major oxidation products formed during the reaction of two quercetin conformers with a free radical. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 81(1), 481–488. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.06.041>
- Middleton, E. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 439, 175–182. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5335-9_13
- Moraru, C. I., Lee, T. C., Karwe, M. V., & Kokini, J. L. (2002). Plasticizing and antiplasticizing effects of water and polyols on a meat-starch extruded matrix. *Journal of Food Science*, 67(9), 3396–3401. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09596.x>
- Morgado, P. I., Aguiar-Ricardo, A., & Correia, I. J. (2015). Asymmetric membranes as ideal wound dressings: An overview on production methods, structure, properties and performance relationship. *Journal of Membrane Science*, 490, 139–151. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.04.064>
- Mukhopadhyay, P., & Prajapati, A. K. (2015). Quercetin in anti-diabetic research and strategies for improved quercetin bioavailability using polymer-based carriers-a review. *RSC Advances*, 5(118), 97547–97562.

<https://doi.org/10.1039/c5ra18896b>

- Mulder, G. D., Altman, M., Seeley, J. E., & Tintle, T. (1993). Prospective randomized study of the efficacy of hydrogel, hydrocolloid, and saline solution—moistened dressings on the management of pressure ulcers. *Wound Repair and Regeneration*, 1(4), 213–218. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1993.10406.x>
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. M. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418–425. <https://doi.org/10.1093/ajcn/74.4.418>
- Nisar, T., Wang, Z. C., Alim, A., Iqbal, M., Yang, X., Sun, L., & Guo, Y. (2019). Citrus pectin films enriched with thinned young apple polyphenols for potential use as bio-based active packaging. *CYTA - Journal of Food*, 17(1), 695–705. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1640798>
- Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., & Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670–680. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068>
- Nita, M., & Grzybowski, A. (2016). The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3164734>
- Oakenfull, D., & Scott, A. (1984). Hydrophobic Interaction in the Gelation of High Methoxyl Pectins. *Journal of Food Science*, 49(4), 1093–1098. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb10401.x>
- Othman, S. H., Edwal, S. A. M., Risyon, N. P., Basha, R. K., & Talib, R. A. (2017). Water sorption and water permeability properties of edible film made from potato peel waste. *Food Science and Technology*, 37, 63–70. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.30216>
- Oyekanmi, A. A., Saharudin, N. I., Hazwan, C. M., Abdul Khalil, H. P. S., Olaiya, N. G., Abdullah, C. K., Alfatah, T., Gopakumar, D. A., & Pasquini, D. (2021). Improved hydrophobicity of macroalgae biopolymer film incorporated with

- kenaf derived cnf using silane coupling agent. *Molecules*, 26(8).
<https://doi.org/10.3390/molecules26082254>
- Pagán, J., Ibarz, A., Llorca, M., Pagán, A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2001). Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International*, 34(7), 605–612. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00078-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00078-3)
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., & George, K. S. (2001). *Introduction to Spectroscopy* (J. Vondeling & S. Kiselica (eds.); Third Edit). Thomson Learning.
- Pellá, M. C. G., Silva, O. A., Pellá, M. G., Beneton, A. G., Caetano, J., Simões, M. R., & Dragunski, D. C. (2020). Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. *Food Chemistry*, 309(October 2019), 125764. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125764>
- Peressini, D., Bravin, B., Lapasin, R., Rizzotti, C., & Sensidoni, A. (2003). Starch-methylcellulose based edible films: Rheological properties of film-forming dispersions. *Journal of Food Engineering*, 59(1), 25–32. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00426-0](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00426-0)
- Perez, C. D., Flores, S. K., Marangoni, A. G., Gerschenson, L. N., & Rojas, A. M. (2009). Development of a high methoxyl pectin edible film for retention of L-(+)-ascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6844–6855. <https://doi.org/10.1021/jf804019x>
- Pool, H., Quintanar, D., Figueroa, J. D. D., Marinho Mano, C., Bechara, J. E. H., Godínez, L. A., & Mendoza, S. (2012). Antioxidant effects of quercetin and catechin encapsulated into PLGA nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/145380>
- Pralhad, T., & Rajendrakumar, K. (2004). Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34(2), 333–339. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00529-6](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00529-6)
- Rastogi, V., & Yadav, P. (2012). Transdermal drug delivery system: An overview. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 6(3), 161–170. <https://doi.org/10.4103/0973-8398.104828>
- Razavi, S. M. A., Mohammad Amini, A., & Zahedi, Y. (2015). Characterisation of

- a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration. *Food Hydrocolloids*, 43, 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.028>
- Rezvani Ghomi, E., Khalili, S., Nouri Khorasani, S., Esmaeely Neisiany, R., & Ramakrishna, S. (2019). Wound dressings: Current advances and future directions. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(27), 1–12. <https://doi.org/10.1002/app.47738>
- Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic Flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4), 375–383. <https://doi.org/10.3109/10715769509145649>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Ridley, B. L., Neill, M. A. O., & Mohnen, D. (2001). *Phytochemistry* 57 (2001) 929–967.pdf (Vol. 57). [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00113-3)
- Rocha Plácido Moore, G., Maria Martelli, S., Gandolfo, C., José do Amaral Sobral, P., & Borges Laurindo, J. (2006). Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films. *Food Hydrocolloids*, 20(7), 975–982. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.11.001>
- Rodolfo Jr., A., & Mei, L. H. I. (2007). Mecanismos de degradação e estabilização térmica do PVC: a review. *Polímeros*, 17(3), 263–275. <https://doi.org/10.1590/s0104-14282007000300018>
- Roy, S., & Rhim, J. W. (2021). Fabrication of pectin/agar blended functional film: Effect of reinforcement of melanin nanoparticles and grapefruit seed extract. *Food Hydrocolloids*, 118(February), 106823. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106823>
- Rubini, K., Boanini, E., Menichetti, A., Bonvicini, F., Gentilomi, G. A., Montalti, M., & Bigi, A. (2020). Quercetin loaded gelatin films with modulated release and tailored anti-oxidant, mechanical and swelling properties. *Food Hydrocolloids*, 109(March), 106089. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106089>

- Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A., & De Assis, S. A. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1997–2001. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.089>
- Saravanan, M., & Rao, K. P. (2010). Pectin-gelatin and alginate-gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 808–816. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.12.036>
- Seaman, S. (2002). Dressing selection in chronic wound management. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 92(1), 24–33. <https://doi.org/10.7547/87507315-92-1-24>
- Segura Ceniceros, E. P., Ilyina, A., Montalvo Arredondo, J. I., Zaragoza Contreras, A., Flores Gallardo, S. G., & Vargas Dominguez, C. I. (2006). Evaluation of the effect of pectin-papain interactions on the enzyme stability and mechanical properties of maracuya's pectin films for the treatment of skin wounds. *Moscow University Chemistry Bulletin*, 61(1), 59–65.
- Shah, J. B. (2011). The history of wound care. *Journal of the American College of Certified Wound Specialists*, 3(3), 65–66. <https://doi.org/10.1016/j.jcws.2012.04.002>
- Shivangi, S., Dorairaj, D., Negi, P. S., & Shetty, N. P. (2021). Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. *Food Hydrocolloids*, 121(July), 107046. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107046>
- Stephen, A. M., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2016). Food Polysaccharides and Their Applications: Second Edition. In *Food Polysaccharides and Their Applications: Second Edition*.
- Thakur, B. R., Singh, R. K., & Handa, A. K. (1997). Chemistry and Uses of Pectin - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(1), 47–73. <https://doi.org/10.1080/10408399709527767>
- Thirawong, N., Nunthanid, J., Puttipipatkachorn, S., & Sriamornsak, P. (2007). Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: An in vitro evaluation using texture analyzer. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(1), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.01.010>

- Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, P. K. (2010). Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly(vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. *Carbohydrate Polymers*, *79*(3), 711–716. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.09.029>
- Valdés, A., Burgos, N., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2015). Natural pectin polysaccharides as edible coatings. *Coatings*, *5*(4), 865–886. <https://doi.org/10.3390/coatings5040865>
- Valencia, M. S., Franco da Silva Júnior, M., Xavier Júnior, F. H., de Oliveira Veras, B., Fernanda de Oliveira Borba, E., Gonçalves da Silva, T., Xavier, V. L., Pessoa de Souza, M., & Carneiro-da-Cunha, M. das G. (2021). Bioactivity and cytotoxicity of quercetin-loaded, lecithin-chitosan nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *31*(October 2020), 101879. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101879>
- Vittorio, O., Cirillo, G., Iemma, F., Di Turi, G., Jacchetti, E., Curcio, M., Barbuti, S., Funel, N., Parisi, O. I., Puoci, F., & Picci, N. (2012). Dextran-catechin conjugate: a potential treatment against the pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pharmaceutical Research*, *29*(9), 2601–2614. <https://doi.org/10.1007/s11095-012-0790-9>
- Walkinshaw, M. D., & Arnott, S. (1981). Conformations and interactions of pectins. I. X-ray diffraction analyses of sodium pectate in neutral and acidified forms. *Journal of Molecular Biology*, *153*(4), 1055–1073. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(81\)90467-8](https://doi.org/10.1016/0022-2836(81)90467-8)
- Wang, L., Khor, E., Wee, A., & Lim, L. Y. (2002). Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: Assessment of incisional wound healing. *Journal of Biomedical Materials Research*, *63*(5), 610–618. <https://doi.org/10.1002/jbm.10382>
- Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2016). Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*, *61*, 730–739. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.019>
- Wisudyaningsih, B., Jember, U., Setyawan, D., & Siswodihardjo, S. (2019). Co-crystallization of quercetin and isonicotinamide using. *18*(May), 697–702.
- Wu, X., Sun, H., Qin, Z., Che, P., Yi, X., Yu, Q., Zhang, H., Sun, X., Yao, F., & Li, J. (2020). Fully physically crosslinked pectin-based hydrogel with high

- stretchability and toughness for biomedical application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 707–716. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.297>
- Wypych, G. (2017). Handbook of Plasticizers. In *Handbook of Plasticizers* (Third Edit). ChemTec Publishing.
- Xu, X., Bai, B., Ding, C., Wang, H., & Suo, Y. (2015). Synthesis and properties of an ecofriendly superabsorbent composite by grafting the poly(acrylic acid) onto the surface of dopamine-coated sea buckthorn branches. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 54(13), 3268–3278. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b00092>
- Y.A. Barku, V. (2019). Wound Healing: Contributions from Plant Secondary Metabolite Antioxidants. In *Wound Healing - Current Perspectives* (p. 13). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81208>
- Yang, J. S., Mu, T. H., & Ma, M. M. (2018). Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp. *Food Chemistry*, 244(July 2017), 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.059>
- Yang, Z., Peng, H., Wang, W., & Liu, T. (2010). Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2658–2667. <https://doi.org/10.1002/app>
- Yapo, B. M. (2011). Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins - A new hypothetical model. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 373–385. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.065>
- Yoshino, M., & Murakami, K. (1998). Interaction of iron with polyphenolic compounds: Application to antioxidant characterization. *Analytical Biochemistry*, 257(1), 40–44. <https://doi.org/10.1006/abio.1997.2522>
- Zhang, Y., Yang, Y., Tang, K., Hu, X., & Zou, G. (2008). Physicochemical characterization and antioxidant activity of quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 107(2), 891–897. <https://doi.org/10.1002/app.26402>
- Zhong, Y., & Li, Y. (2014). Effects of glycerol and storage relative humidity on the properties of kudzu starch-based edible films. *Starch/Staerke*, 66(5–6), 524–532. <https://doi.org/10.1002/star.201300202>

Colombari Neto, Jean
OBTENÇÃO DE FILMES DE PECTINA CONTENDO QUERCETINA PARA
POTENCIAL USO NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS / Jean
Colombari Neto; orientador Douglas Cardoso Dragunski. --
Toledo, 2021.
66 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Toledo) --
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de
Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em
Química, 2021.

1. Antioxidante. 2. Curativos. 3. Hidrocolóide. 4.
Polissacarídeo. I. Cardoso Dragunski, Douglas, orient. II.
Título.