

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

MARIANA RODRIGUES MAGGI

DESENVOLVIMENTO DE NOVA ROTA PARA OBTENÇÃO DE MICROESFERAS
HÍBRIDAS DE SiO₂ E QUITOSANA

BELO HORIZONTE

2017

MARIANA RODRIGUES MAGGI

DESENVOLVIMENTO DE NOVA ROTA PARA OBTENÇÃO DE MICROESFERAS
HÍBRIDAS DE SiO₂ E QUITOSANA

Trabalho de conclusão de curso apresentado
no curso de Graduação em Engenharia de
Materiais do Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais como requisito
parcial para obtenção de título de Bacharel
em Engenharia de Materiais.

Orientador: Hermes de Souza Costa

Coorientador: Roberta Viana Ferreira

Belo Horizonte

2017

MARIANA RODRIGUES MAGGI

DESENVOLVIMENTO DE NOVA ROTA PARA OBTENÇÃO DE MICROESFERAS
HÍBRIDAS DE SiO₂ E QUITOSANA

Trabalho de conclusão de curso apresentado
no curso de Graduação em Engenharia de
Materiais do Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais como requisito
parcial para obtenção de título de Bacharel
em Engenharia de Materiais.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Hermes de Souza Costa – Orientador

Prof. Roberta Viana Ferreira – Co-orientadora

Prof. Ezequiel de Souza Costa Junior

AGRADECIMENTOS

Agradeço todos meus guias pelas energias positivas que foram enviadas para execução de um trabalho de relevância e interesse.

Aos meus pais pela admiração, apoio e compreensão da minha ausência principalmente na reta final. Ao meu irmão que mesmo distante me enviou boas vibrações.

Ao meu professor e orientador Hermes pela dedicação e compreensão e por todos ensinamentos, sendo sempre atencioso e me incentivando durante todo percurso.

A todos professores que fizeram parte da minha formação, passando seus conhecimentos e experiências, sendo referências em tantos trabalhos. Em especial à minha coorientadora Roberta por ser inspiração na pesquisa.

Ao CEFET-MG pela disponibilidade dos professores e de todo departamento de Engenharia e Materiais, pela infraestrutura dos laboratórios e materiais para realização do estudo.

Aos colegas que se tornaram amigos, Bruna, Deborah, Larissa e Lucas por me ajudarem nos momentos de dúvidas, me ouvirem nos momentos de desespero, me fazendo acreditar que tudo daria certo e por propiciarem os melhores momentos de distração

Aos colegas de laboratório, Franciele, Guilherme, Isabela, Wânia, por todo apoio, sendo sempre solidários para que as tão faladas microesferas fossem obtidas. Às laboratoristas, Mariane, Ayeska, Cecília e Rayane sempre dispostas a ajudar e a oferecer o melhor trabalho.

Aos amigos, Genaro, Jéssica, Laura, Paty e Rapha, dos projetos extracurriculares, em que fiz parte durante a graduação, que contribuíram, de alguma forma, para minha formação através das diversas experiências vividas.

Aos velhos amigos e aos amigos do intercâmbio, por estarem sempre na minha torcida, mesmo que distantes.

RESUMO

Biomateriais naturais quando comparado com biomateriais sintéticos possuem vantagens como reconhecimento biológico mais favorável pelo receptor e por conter moléculas estruturais e funcionais. Estudos relacionados a novos materiais híbridos orgânico-inorgânicos têm possibilitado grande avanço nos campos da ciência e da tecnologia de materiais. Apresentam-se como alternativa para aplicações multifuncionais a partir da combinação das propriedades dos seus componentes. A combinação dos biopolímeros naturais, como a quitosana, e biomateriais inorgânicos, como a sílica, que permita a incorporação da fase inorgânica e para evitar a degradação rápida do biopolímero e aprimore o processo de cultivo celular, e que a fase inorgânica conduza a propriedades mecânicas melhoradas em relação à fragilidade. Neste trabalho buscou-se o desenvolvimento de nova rota de obtenção de esferas híbridas de sílica/quitosana pelo método sol-gel com técnica de gotejamento através da composição em massa de 87% de sílica e 13% de quitosana. O método sol gel foi avaliado em duas rotas distintas, (1) por gotejamento da mistura em solução com catalisador de polimerização do sol e (2) gotejamento da mistura em solução de NaOH buscando reticulação da quitosana. O material obtido pela rota 1 resultou em estrutura de gel disforme com morfologia irregular, quando analisada por microscopia eletrônica de varredura. A rota 2 apresentou resultados com material em forma esférica de tamanho variando entre 600 e 800µm. A análise por difração de raios-X mostrou o caráter amorfo dos híbridos sintetizados com presença de picos associados ao NaCl, resultado corroborado pela técnica de EDS que detectou a presença de sódio. Ainda segundo o EDS foi detectada a presença de carbono e oxigênio, indicando a importância do mecanismo de coagulação associado às reações ocorridas com o polímero para a formação da estrutura esférica das micropartículas. Esses resultados indicam a rota sendo interessante para obtenção de microesferas de sílica/quitosana, com potencial aplicação em diversos sistemas que demandem biomateriais com estimulação celular e/ou liberação de drogas.

Palavras-Chave: Híbridos, Sílica, Quitosana, Matrizes, Biomateriais, Processo sol-gel, Gotejamento.

ABSTRACT

Natural biomaterials when compared to synthetic biomaterials have advantages such as biological recognition more favorable for the receptor and to contain structural and functional molecules. Studies related to new hybrid organic-inorganic materials have shown a great progress in science and technology. It is an alternative to new multifunctional material production from its component property combination. The combination of natural biopolymers, as chitosan, with inorganic biomaterials, as silica, forecasts that the incorporation of inorganic phase prevents the biopolymer fast degradation and improves the cell growth process. In the inorganic phase it is expected that their mechanical properties are improved in relation to fragility. This work searched for the development of new route of the hybrid silica/chitosan sphere obtation by sol-gel method through dropping technique in a composition of 87% silica and 13% chitosan in weigth. The sol-gel method was applied in two distinct routes, (1) by the dropping of blending with polymerization catalyst of the sol and (2) by the dropping of blending in NaOH solution searching for reticulation of chitosan. The material obtained by route 1 results in a shapeless gel structure with irregular morphology when analysed by searching electronic microscope, The route 2 showed results with spherical material of size ranging from 600 to 800 μm . The analyses by diffraction of X-ray demonstrated the amorphous character of synthetized hybrids presenting crystal peaks of NaCl, a result corroborated by the EDX technique. Also according to the EDS, the presence of carbon and oxygen was detected, indicating an importance of the coagulation mechanism associated with the reactions with the polymer to form the spherical structure of the microparticles. These results suggest an interesting way of obtaining silica / chitosan microspheres, with potential application in several systems that require biomaterials with cell stimulation and / or drug delivery.

Key Words: Hybrid, Silica, Chitosan, Matrice, Biomaterials, Sol-gel Process, Dropping.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema das etapas do processo sol-gel.	18
Figura 2 – Estrutura da celulose (a), quitina (b) e quitosana (c) com ênfase em seus grupos funcionais.	21
Figura 3– Processo de obtenção da quitosana.	22
Figura 4 – Célula unitário ortorrômica da quitosana.	23
Figura 5 – Fluxograma representativo do procedimento experimental adotado	29
Figura 6 – representação esquemática dissolução de quitosana	30
Figura 7 – Representação esquemática do preparo da solução de TEOS	31
Figura 8 – Representação da obtenção de microesferas por gotejamento em ácido	31
Figura 9 – Representação da obtenção de microesferas por gotejamento em base	32
Figura 10 – Representação hipotética do híbrido sílica-quitosana. R: unidade repetitiva da QT34	34
Figura 11 – Esferas obtidas por gotejamento em base em contato com película de água	36
Figura 12 - Microesferas obtidas em base logo após serem retiradas da película de água (a) e referência de tamanho (b) – esfera indicada pela seta	36
Figura 13– Microesferas obtidas em base ainda intumescidas	37
Figura 14 – Comparação do volume das microesferas obtidas em base, em que (a) imediatamente após retirada do contato com água e (b) após 7 dias armazenadas sem contato com água.	37
Figura 15– Resultados do MEV, com aumentos diferentes, do material obtido por gotejamento em ácido	38
Figura 16 – Microscopia eletrônica de varredura para análise de tamanho e formato das micropartículas (esquerda) e detalhamento da superfície (direita)	40
Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura com aumento de 1000 vezes (esquerda) e 3500 vezes (direita)	42
Figura 18 – Difratoograma obtido após caracterização da amostra obtida pela rota 2	43
Figura 19- Difratoograma obtido no trabalho de Ramos, 2007, comparando o comportamento da quitosana pura, híbrido com 10, 20 e 30% respectivamente, de cima para baixo	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVO	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	Biomateriais	13
3.2	Materiais compósitos e híbridos orgânicos-inorgânicos	14
3.3	Sol-gel	16
3.4	Alcóxidos	19
3.4.1	<i>Alcóxido de Silício</i>	19
3.5	Quitina/Quitosana	20
3.5.1	<i>Origem e formação da quitosana</i>	20
3.5.2	<i>Propriedades da quitosana</i>	23
3.5.3	<i>Aplicações da quitosana</i>	26
3.6	Híbridos orgânicos-inorgânicos de sílica e quitosana	27
4	METODOLOGIA	29
4.1	Procedimento experimental	29
4.2	Materiais	30
4.3	Preparo da suspensão de quitosana – Etapa 1	30
4.4	Preparo da solução de TEOS – Etapa 2	30
4.5	Rota para obtenção das microesferas de SiO ₂ e Quitosana – Etapa 3	31
4.5.1	<i>Rota 1 - Gotejamento em ácido</i>	31
4.5.2	<i>Rota 2 - Gotejamento em base</i>	32
<u>4.6</u>	Caracterização das microesferas obtidas	32
4.6.1	<i>Registro de imagem fotográfica</i>	32
4.6.2	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva por raios X (EDX)</i>	32
4.6.3	<i>Difração de raio X (DRX)</i>	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	Aspectos gerais	34
5.2	Análise visual do material sintetizado	35
5.2.1	<i>Material obtido pela Rota 1 - gotejamento em ácido</i>	35

5.2.2	<i>Esferas obtidas pela Rota 2 - gotejamento em base</i>	35
5.3	Resultado microscopia eletrônica de varredura	38
5.3.1	<i>Microscopia eletrônica de varredura do material obtido pela Rota 1 - gotejamento em ácido</i>	38
5.3.2	<i>Microscopia eletrônica de varredura do material obtido pela Rota 2 - gotejamento em base</i>	39
5.4	Resultados Difração de raio X	42
5.4.1	<i>DRX material sintetizado pela Rota 2 - gotejamento em base</i>	42
6	CONCLUSÕES	45
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	46
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais são materiais com características apropriadas para a substituição total ou parcial de tecidos presentes no corpo. Para ser empregado como biomaterial, é desejado que o material em questão apresente alguns aspectos como bioatividade, não possuir efeito carcinogênico, não provocar reações alérgicas, não provar reações inflamatórias severas e possuir biocompatibilidade. Um dos materiais utilizados para esse fim é o biopolímero quitosana. A quitosana possui características atóxicas além de ser biodegradável, obtida a partir de fonte natural renovável (SOUZA, 2016).

A quitosana é obtida a partir da desacetilação alcalina da quitina que é um polissacarídeo natural e um dos recursos orgânicos renováveis mais abundantes do mundo. Pois é um dos principais constituintes das conchas de crustáceos, dos exoesqueletos de insetos e da parede celular de fungos, que propicia sua resistência e estabilidade. Estima-se que pelo menos 10Gt por ano de quitina são sintetizadas e degradadas na biosfera. A quitosana possui solubilidade tanto em soluções ácidas quanto a agregação com poliânions que a concedem ótimas propriedades. Além disso, apresenta raras propriedades biológicas como biodegradabilidade em produtos não tóxicos e fisiologicamente inertes, afinidade notável com proteínas, bem como propriedades hemostática, fungistática, antitumoral, antiolesterol (COSTA JUNIOR, 2008). Possui em sua estrutura vários grupos amino e hidroxila, com fortes características de quelação com íons metálicos e orgânicos. Além disso, a conformação da quitosana permite uma regulação conveniente da sua estrutura. Porém suas propriedades mecânicas restringem suas aplicações. Recentemente, a quitosana tem sido combinada com materiais inorgânicos, já que o material híbrido obtido apresenta propriedades catalíticas, térmicas e mecânicas melhoradas, através de efeitos sinérgicos. Portanto, materiais híbridos têm sido aplicados em diversos campos, como catálise, técnicas de separação, revestimento inteligente, imobilização de enzimas, membranas para utilização em enxertos de pele e membranas para liberação controlada de drogas (ZHAO; XU; WANG, 2015, REIS, 2007).

Inspirado nos vários compósitos organo-inorgânicos e tendo como base os biopolímeros naturais, um número crescente de estudos tem enfatizado o uso da quitosana, em conjugação com biomateriais inorgânicos à base de carbonatos de cálcio, fosfatos de cálcio e sílica. A incorporação da fase inorgânica à quitosana pode evitar a degradação rápida que geralmente ocorre neste polímero na sua forma isolada e, melhorar o processo de cultivo celular, de maneira a favorecer os processos de migração e diferenciação celulares. Da mesma forma, a

incorporação da quitosana à sílica, pode melhorar as suas propriedades mecânicas, caracterizadas pela elevada fragilidade. (REIS, 2007).

A descoberta e estudo de novos materiais híbridos orgânico-inorgânicos configura grande avanço nos campos da ciência e da tecnologia. Esse desenvolvimento estabelece uma alternativa para a produção de novos materiais multifuncionais e obteve atenção considerável nas últimas décadas pelas infinitas possibilidades de combinação de componentes. Combinações entre as propriedades dos polímeros orgânicos e dos materiais inorgânicos, em que geralmente o componente orgânico confere ao material híbrido propriedades físicas ou químicas específicas (ópticas, elétricas, reatividade química ou bioquímica, carácter hidrofílico/hidrofóbico, flexibilidade, ductilidade), enquanto a parte inorgânica contribui com o aumento da resistência mecânica e térmica, permite modular o índice de refração e contribui com propriedades magnéticas, elétricas, eletroquímicas ou químicas. Porém, as propriedades finais dos materiais híbridos não são apenas o resultado das contribuições de cada constituinte individualmente, já que existe sinergismo dependente também da interação entre as fases que compõem o híbrido, da natureza química e do tamanho e morfologia dos segmentos orgânicos e inorgânicos. Diante disso, as propriedades finais destes materiais são determinadas, principalmente, em função da natureza desta interação, dando origem a único material com propriedades diferenciadas daquelas que lhe deram origem. Devido à importância da natureza da interação entre as fases orgânica e inorgânica foi empregada a classificação de materiais híbridos (ZALDIVAR, 2015).

Os sistemas de partículas de ordem micrométrica têm chamado a atenção de diversos pesquisadores por muitas décadas, em especial na área biomédica. Microesferas compostas de vários materiais podem ser úteis como sistemas portadores versáteis, podendo melhorar a estabilidade dos medicamentos associados e permitir a sua libertação controlada, bem como acomodar células vivas. Como um dos carreadores mais populares para a liberação controlada de fármacos nos últimos anos, as microesferas são projetadas para manter a bioatividade do fármaco encapsulado e liberá-los de maneira sustentada. (WU et al., 2017)

Diante de toda importância das microesferas e da possibilidade de serem sintetizadas de forma a combinar propriedades de diferentes materiais, o presente trabalho traz um método de síntese de microesferas híbridas de sílica e quitosana pelo método sol-gel através de gotejamento da solução, com realização de caracterização inicial dos produtos obtidos.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral desse trabalho é a obtenção de nova rota de síntese de microesferas híbridas de sílica e quitosana através do método sol-gel com técnica gotejamento.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- a) Propor uma rota de obtenção de microesferas híbridas;
- b) Definir os parâmetros quantitativos;
- c) Caracterizar o material obtido em relação a sua morfologia, cristalinidade e composição química;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biomateriais

Desde a antiguidade tem-se registros de uso de biomateriais com aplicação em correção de problemas relacionados à saúde humana. Suturas de linho e ouro no Antigo Egito (2000 AC) e de intestinos de gato na Europa (Idade Média), o uso pelos Maias de dentes artificiais feitos de conchas, de ferro pelos franceses ou de ouro e madeira pelos romanos, chineses e astecas, são exemplos das aplicações remotas dadas aos materiais no corpo humano. Até o século retrasado o uso e estudo de biomateriais se baseava em tentativa e erro. Já na década de 50, buscavam-se os materiais bioinertes (materiais biocompatíveis que pudessem substituir o tecido danificado e prover suporte mecânico, com mínima resposta biológica do paciente), que com o passar do tempo teve a preocupação voltada para bioatividade (materiais biodegradáveis, com capacidade de serem incorporados ou absorvidos, após dissolução pelo tecido hospedeiro,) e atualmente essa busca tem se direcionado para o campo dos materiais biomiméticos (materiais que participem de forma ativa no processo de recuperação, atuando no tecido de forma específica, com estimulação em nível celular) (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

As características requeridas para um biomaterial não podem ser generalizadas, já que depende fundamentalmente da sua aplicação. Porém, algumas propriedades são frequentes para que o projeto do dispositivo tenha sucesso, podendo destacar as propriedades biológicas, como a biocompatibilidade, com frequência associada à hemocompatibilidade, citotoxicidade, alergenidade, estimulação de adesão e proliferação celular; as propriedades físicas, como morfologia da superfície, energia superficial, encaixe anatômico, rugosidade, porosidade, cor, transparência e permeabilidade; propriedades mecânicas como tensão de ruptura, alongamento e flexibilidade e propriedades químicas, como densidade, estabilidade, resistência à esterilização e forma de degradação quando em contato com o organismo (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Os biomateriais naturais, em relação aos biomateriais sintéticos, são vantajosos por possuírem reconhecimento biológico favorável pelo receptor e pela presença de moléculas estruturais e funcionais como é o caso da quitosana (SOUZA,2016).

A severidade do processo inflamatório desencadeado após implantação do biomaterial é um dos fatores que mais define o grau de sucesso do implante, além do nível de satisfação do paciente, tempo de permanência no corpo e outro. Desta forma, vários biomateriais usados cumprem suas funções associadas período de tempo projetado. Sendo assim, percebe-se que o

aumento da expectativa de vida da população, além de criar número cada vez maior de situações em que o uso de biomateriais é indicado, também gera novos desafios que devem ser vencidos para garantir o sucesso do procedimento. (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Diante disso, o aumento da expectativa de vida está acompanhado das causas naturais e antinaturais de deterioração do corpo humano, que levam a implantação de partes artificiais ou protéticas. Assim, o grande desafio do campo de biomateriais é que todos esses dispositivos de implantes substituam tecidos vivos que possuem propriedades físicas resultantes de milhões de anos de otimização evolutiva, com capacidade de crescimento, regeneração e reparo. (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Assim, a ciência dos biomateriais precisa caminhar junto da engenharia de tecidos, que está relacionada ao desenvolvimento e manipulação de moléculas, células, tecidos, ou órgãos crescidos em laboratório para substituir ou apoiar a função de partes do corpo defeituosas ou danificadas. (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). Tratamentos de doenças e acidentes são fatores que demandam o desenvolvimento dessa área do conhecimento em busca de órgãos e tecidos, fazendo com que biomateriais para engenharia de tecido ou liberação controlada de drogas tivessem inúmeros avanços nos últimos anos, para atender as solicitações em aplicações biomédicas. (COSTA JUNIOR, 2008)

3.2 Materiais compósitos e híbridos orgânicos-inorgânicos

Diante do que traz a engenharia de materiais, os tecidos humanos podem ser considerados basicamente como materiais compósitos tendo três componentes principais: as células, que são organizadas dentro de unidades funcionais, a matriz extracelular e um substrato de arquitetura tridimensional que permite, de forma significativa, o desenvolvimento de funções biológicas específicas em tecidos e promovem condições adequadas para a nutrição e organização espacial das células. A composição do osso humano fundamentalmente consiste em fase orgânica (30% em peso), formada principalmente por colágeno, e uma fase inorgânica (60% em peso) formada por apatita. O restante é composto basicamente por água. No organismo, os cristais de apatita crescem sobre as fibras colágenas com orientação preferencialmente paralela umas sobre as outras no sentido longitudinal ao osso. Isso é o que permite que o osso tenha resistência e ao mesmo tempo certa flexibilidade. Sendo assim, acredita-se que substituição de tecidos vivos por materiais sintéticos pode estar relacionada ao desenvolvimento de biomateriais compósitos especiais que conseguem reproduzir as propriedades dos tecidos vivos (REIS 2007).

Têm sido desenvolvidas matrizes poliméricas que apresentem estruturas porosas similares às do osso trabecular. Porém, a capacidade desses materiais se unirem ao tecido ósseo é limitada e ainda, possuem módulo de elasticidade muito menor do que o do osso, o que impede seu uso em locais de grande solicitação mecânica. Além disso, há a preocupação quanto à utilização como matriz biodegradável, em razão da maior toxicidade dos produtos de degradação. Sendo assim, a aplicação de materiais poliméricos e cerâmicos na área biomédica tem sido assunto de muitos estudos e atingindo sucesso em variadas áreas, mesmo que ainda tenham muitos pontos a serem aprimorados, principalmente relacionado à engenharia de tecido ósseo. Por exemplo, os materiais cerâmicos, exibem dureza bastante superior à do osso, enquanto a maioria dos materiais poliméricos apresentam comportamento inverso. Portanto, buscando sanar o problema da diferença entre os módulos de elasticidade exibidos pelo osso e o material de implante e possibilitar forte união entre as duas entidades, o conceito de “biomateriais análogos” tem sido cada vez mais utilizado quando se fala de um biomaterial para regeneração óssea (REIS 2007).

A interação do componente biológico e o inorgânico possibilita uma sinergia que é capaz de se obter materiais híbridos com melhor resistência mecânica, melhor estabilidade térmica e química, biocompatibilidade e até propriedades funcionais quando comparadas aos materiais em sua forma isolada. Essa obtenção está relacionada a uma área emergente na preparação de novos materiais que envolvem a nanotecnologia e são interessantes pela versatilidade de sua aplicação em áreas como a medicina (RAMOS, 2013).

A aceleração no desenvolvimento da área dos híbridos orgânico-inorgânicos se deu desde a década de 80, com destaque para a preparação de géis inorgânicos, impregnados por polímeros orgânicos. Um dos materiais constituídos de componentes orgânicos e inorgânicos, mais antigos, originou-se na indústria de tintas, onde adicionavam pigmentos inorgânicos em misturas orgânicas (JOSÉ; PRADO, 2004).

O que difere o compósito de um híbrido são as dimensões e dispersões dos componentes. Além disso, os compósitos não necessariamente são compostos por um componente orgânico e outro inorgânico como os híbridos. O material híbrido não apresenta apenas a soma das contribuições individuais dos materiais que o constituem, ele exibe sinergismo dependente da natureza química da parte orgânica e inorgânica e do tamanho e morfologia dessas partes. As dimensões de cada fase estão em ordem molecular, portanto, a influência da interface é bastante significativa (JOSÉ; PRADO, 2004). É esperado também que esses materiais formem ligações covalentes entre a fase inorgânica e orgânica, o que é um problema encontrado quando se trata

de compósitos tradicionais. Os derivados da quitosana ou até mesmo a própria quitosana, podem exibir interações específicas com a superfície de gel de sílica, como ligações químicas ou adsorção de forma específica (LEMOS,2013).

Outra vantagem é a inércia química que ambos apresentam, favorecendo o uso em meio biológico que é quimicamente agressivo. Sendo assim, o desafio científico e tecnológico está em encontrar parâmetros adequados e rotas de processamento que possibilitem o desenvolvimento do material híbrido que flexibilize determinado material cerâmico, sem comprometer drasticamente o seu módulo elástico. Como limitação de aplicação de materiais híbridos poderia estar relacionada à natureza termicamente sensível dos materiais orgânicos. Porém, a estabilidade térmica desses materiais pode ser otimizada, pois depende da forma como a fase orgânica encontra-se ligada à rede cerâmica, ou seja, da concentração das ligações primárias e do grau de interação entre os componentes (REIS 2007).

Diante disso, os materiais híbridos orgânicos-inorgânicos podem ser obtidos por alguns métodos, sendo o mais utilizado o método sol-gel que será descrito com mais detalhes em sequência nesse trabalho. O método possibilita combinação de polímeros com materiais cerâmicos em escalas moleculares e ao mesmo tempo permite preparação de materiais cerâmicos em temperaturas compatíveis com o processamento de polímeros. Além disso, como reações de polimerização das cadeias inorgânicas no método sol-gel se assemelham às reações usualmente encontradas na síntese e modificação de polímeros (LEMOS, 2013).

3.3 Sol-gel

Por volta de 1900, Ebelman e Graham já estudavam os géis de sílica. Em seus estudos, observaram a hidrólise de tetraortossilicato (TEOS) em meio ácido, produzindo SiO_2 de forma vítrea. Mais tarde, em 1950 Roy e seus colaboradores encontraram o método sol-gel como forma de atingir altos níveis de homogeneidade química em géis coloidais e para realizar a síntese de novas cerâmicas compostas por óxido, incluindo Al, Si, Ti, Zr que não era possível por métodos tradicionais. A partir daí o interesse por esse método só cresceu no meio científico. Isso aconteceu devido à técnica permitir a obtenção de pós com elevada pureza e homogeneidade química, sendo possível realizar o processamento em baixas temperaturas. Sol-gel então pode ser definido como qualquer processo que envolve uma solução ou sol que passa por uma transição chamada sol-gel. A solução sol é transformada em gel pelas ligações químicas que são estabelecidas entre as partículas ou espécies de moléculas, até a formação de

uma rede sólida tridimensional. Desta forma, com o método sol-gel é possível manipular várias técnicas permitindo obter compostos de elevada pureza química com homogeneidade em nível molecular (BRAGA et al., 2014).

Através da técnica sol-gel podem ser formados géis coloidais (resultantes da agregação linear de partículas primárias por alteração adequada das condições físico-químicas da suspensão) ou géis poliméricos (resultantes das reações de polimerização). O sol pode ser formado por suspensão de partículas coloidais (entre 1 e 100nm) estáveis em meio fluido, ou por polímeros em solução. Sendo assim, o gel pode ser formado pela estrutura rígida de partículas coloidais interconectadas ou por cadeias poliméricas que imobilizam a fase líquida em seus interstícios. A química do processo é baseada em reações de hidrólise e condensação de precursores inorgânicos, que são, geralmente, soluções aquosas de sais inorgânicos ou alcóxidos dissolvidos em solventes orgânicos (ZALDIVAR,2015).

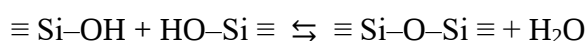
As reações são divididas em:

Hidrólise - O precursor inorgânico, na maioria das vezes um alcoxisilano $\text{Si}(\text{OR})_4$ (em que R é um grupo orgânico) quando sofre hidrólise, tem-se a formação de grupos reativos do tipo silanol e o álcool correspondente. Dos precursores mais usados, está o ortosilicato de tetraetila (TEOS) que também foi utilizado nesse trabalho (ZALDIVAR,2015).

Essa reação pode ser descrita como na equação 1:



Condensação – Após a hidrólise, há a condensação entre o grupo não hidrolisado do alcóxido e um silanol ou entre duas hidroxilas, como está demonstrado na equação 2 (ZALDIVAR,2015).

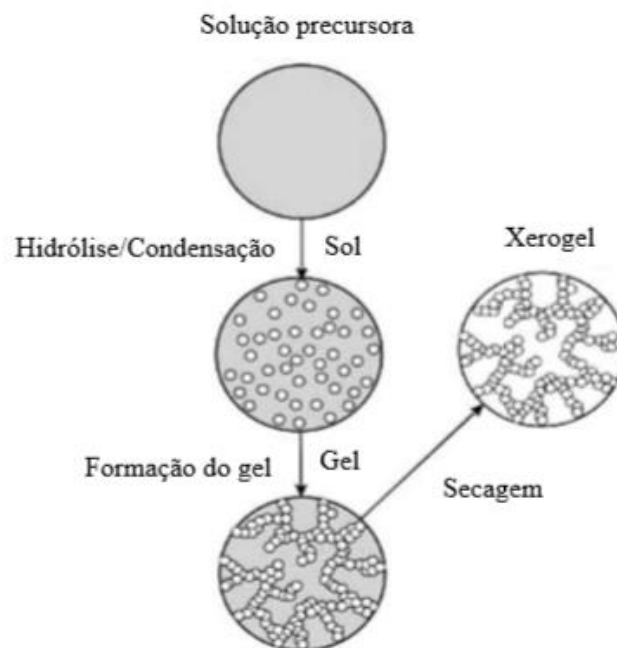


O que acelera a reação de hidrólise é o uso de catalisadores, como ácidos minerais, ácido acético, ácido fluorídrico, amônia, hidróxido de potássio etc. Tem sido muito estudado a influência dos ácidos e bases e a concentração de água no controle das reações de hidrólise e condensação, no tempo de gelação e nas propriedades do produto obtido (MOURA,2005).

O processo sol-gel pode ser demonstrado na figura 1. Primeiramente há formação de dispersão de pequenas partículas coloidais, o sol. Essas são conduzidas por forças de curto

intervalo, como atrações de Van der Waals; por exemplo. Após isso, as partículas se conectam, levando à formação de pequenas cadeias tridimensionais, dando origem a uma fase rígida e reticulada que retém o solvente, o gel. Por fim, há a secagem do gel pela eliminação do solvente que evapora, sob condições normais de temperatura e pressão, dando origem ao xerogel (RAMOS,2013).

Figura 1- Esquema das etapas do processo sol-gel.



Fonte: RAMOS,2013.

O processo Sol-Gel apresenta várias vantagens que merecem ser destacadas:

- Preparo de produtos com alta pureza. A pureza depende da matéria-prima utilizada no processo;
- A possibilidade de obter vidros com várias composições e com cátions em estado de oxidação não comuns;
- Baixa temperatura de preparo, tornando possível dopar o material com materiais orgânicos;
- O processo consome pouca energia e não polui a atmosfera;
- Permite obter materiais vítreos com novas composições, difíceis ou impossíveis de serem obtidos pelo método convencional;

- Possibilidade de obtenção de filmes finos, partículas finas, compósitos e vidros monolíticos (AWANO,2012).

3.4 Alcóxidos

Um alcóxido é descrito como um composto decorrente da reação de um haleto metálico com um determinado álcool, na presença de um receptor do ácido formado para levar ao deslocamento da reação. Pode ser também obtido através da reação direta do próton do álcool com o metal, com eliminação de hidrogênio gasoso. Desde 1846 o preparo de derivados alcóxidos de boro e silício já é discutido. Apenas por volta de 1950 que houve rápido crescimento na Química sobre os preparos de uma diversidade de alcóxidos. Dentre os mais estudados está o tetraetilortossilicato, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, também nomeado como TEOS, utilizado na obtenção de materiais que necessitam da presença do silício. A princípio, qualquer elemento metálico ou semi-metálico pode formar alcóxido que, sofre hidrólise pela fácil interação com a molécula de água pela forte polarização entre a ligação oxigênio-elemento. Com o avanço da Química, aumentou-se a obtenção de produtos de relevância tecnológica, em que deseja-se incluir certo elemento em certa matriz. Tudo isso, fez com que fosse mais explorado a propriedade de hidrólise, dando origem à metodologia de pesquisa à temperatura ambiente pelo processo sol-gel (AIROLD; FARIA, 2004). Como foi descrito no tópico anterior desse trabalho.

3.4.1 Alcóxido de Silício

Os tetraortoalcoxisilanos são expressos pela fórmula geral $\text{Si}(\text{OR})_4$, em que os compostos mais comuns são formados a partir do metanol (TMOS) e etanol (TEOS). Os dois compostos possuem largo emprego na obtenção de novos materiais a pelo método sol-gel permitindo, através do polímero tridimensional formado, a adição do silício na forma de óxido, que pode estar atrelado a outro elemento desejado nessa mesma matriz. Após atingir a estrutura formada, é possível trabalhar quimicamente buscando inserir novos derivados na superfície inorgânica do material sintetizado, utilizando corretamente agentes sililantes que conferirão certa função química e levarão a nova utilização do novo material finalmente obtido (AIROLD; FARIA, 2004).

É possível variar e controlar a porosidade da matriz obtida e também a área superficial dos materiais obtidos, através do controle da cinética do processo de hidrólise e policondensação dos alcóxidos de silício combinado com o preciso controle do pH, pela adição de metais ou aditivos orgânicos. É possível até obter a sílica ou resinas compostas de polissiloxanos de forma

esférica e por meio de rotas hidrolíticas ou não-hidrolíticas permitir a formação de filmes porosos. Mostrando com isso, vasta versatilidade nas variações de preparo quando se explora corretamente os alcóxidos (AIROLD; FARIA, 2004).

Dos usos de alcóxidos de silício podem ser citados como precursores na obtenção de materiais híbridos envolvendo fulerenos, o uso de TMOS e TEOS como reforços na estrutura de polímeros orgânicos, precursores na síntese de materiais com propriedades ópticas, condutoras ou catalíticas foram também sintetizados, obtenção de materiais com estruturas tubulares através do uso de TEOS em presença de moléculas modeladoras e ainda, através da hidrólise e policondensação de alcoxisilanos é possível obter partículas de sílica com propriedades específicas para adsorventes cromatográficos, materiais mesoporosos ou redes (AIROLD; FARIA, 2004).

3.5 Quitina/Quitosana

3.5.1 Origem e formação da quitosana

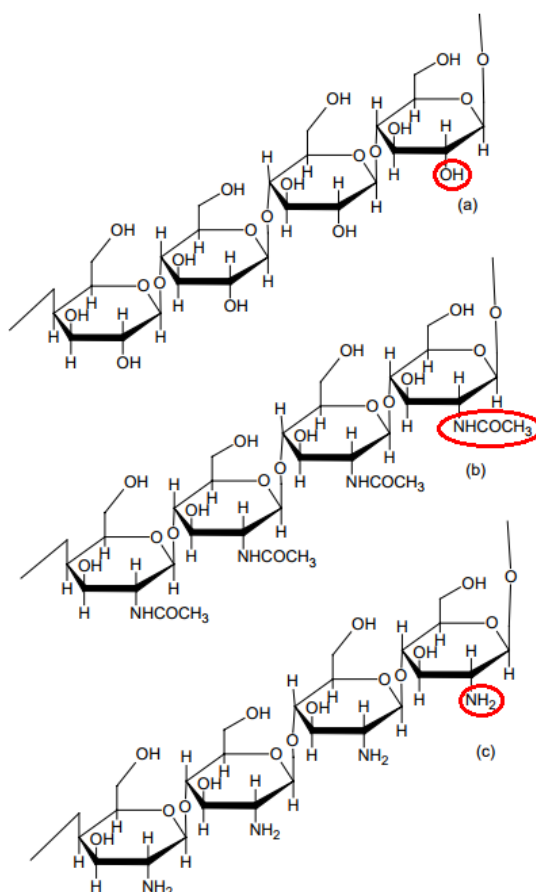
A quitosana é um polissacarídeo natural derivado da quitina. A quitina por sua vez, foi descoberta em 1811 pelo professor francês Henri Braconnot e foi inicialmente denominada como fungina, é denominação atual para o polímero β -(1-4)2-acetamido-2-deoxi-D-glicose (Nacetilglicosamina) (SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L, 2011).

A quitina é considerada um dos biopolímeros mais abundantes na Terra, ficando atrás apenas da celulose. Isso deve-se ao fato da quitina compor a parte fibrosa da parede celular de fungos e do exoesqueleto de artrópodes (caranguejos, lagostas, camarões e insetos) (REIS,2007). Sendo que, o teor de quitina presente na carapaça desses crustáceos pode ter variação entre 3 a 42%, dependendo da espécie, do seu estado nutricional e do estágio do ciclo reprodutivo em que se encontra (SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L, 2011).

Através de espectroscopia de infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear juntamente com difração de Raios-X é possível diferenciar a quitina em duas versões alomórficas chamadas de forma α e forma β . Uma terceira forma γ -quitina já foi descrita, mas percebeu-se por uma análise mais detalhada que ela é apenas uma variação da família α -quitina (COSTA JUNIOR, 2008).

Do ponto de vista químico, a quitina é semelhante à celulose, figura 2 (a) diferenciando pela substituição dos grupos OH do carbono 2 de cada unidade glicosídica da celulose por grupos acetilados (NHCOCH_3). A quitina é então, um polissacarídeo contendo cadeias de resíduos β -(1-4)- 2-acetamida-2-deoxi-D-glicose formando longa cadeia polimérica linear figura 2 (b). Tem como característica ser um pó incolor, com sua estrutura parte cristalina e parte amorfa, insolúvel na maioria dos solventes. Se dissolve em ácidos minerais concentrados com degradação simultânea da cadeia polimérica (COSTA JUNIOR,2008).

Figura 2 – Estrutura da celulose (a), quitina (b) e quitosana (c) com ênfase em seus grupos funcionais.



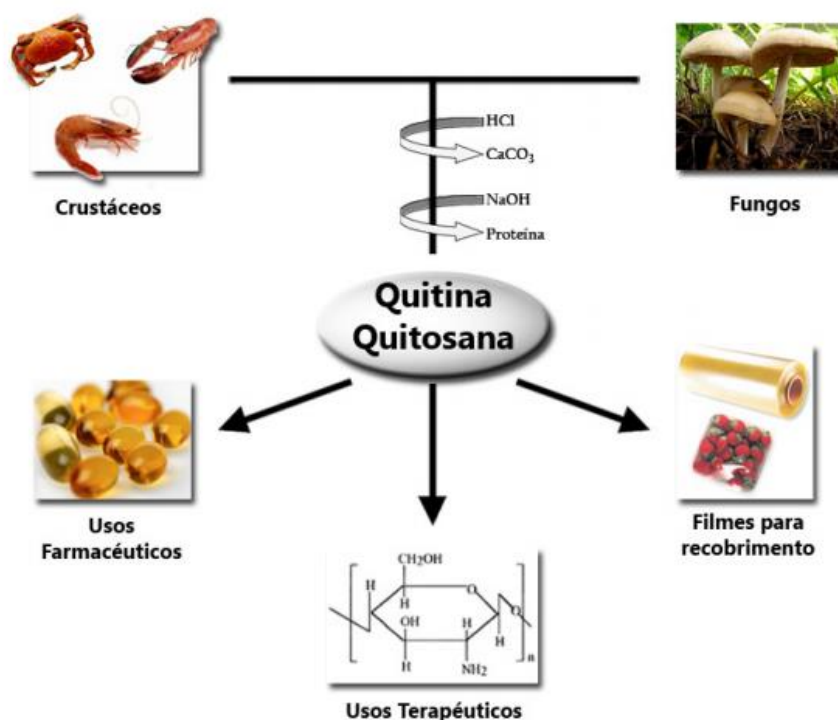
Fonte: COSTA JUNIOR,2008 – modificada.

O principal derivado da quitina é a quitosana figura 2 (c) que é obtida por N-desacetilação em uma extensão variável que é caracterizada pelo grau médio de desacetilação (GD), que representa a porcentagem de grupos NH_2 livres, sendo geralmente representado como um copolímero de 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose. Quando a

quitina alcança grau de desacetilação (GD) por volta de 50% (dependendo da origem do polímero) ela se torna solúvel em meio aquoso ácido, sendo chamada quitosana. Essa solubilização ocorre pela protonação da função – NH₂ sobre o carbono 2 da unidade de repetição D-glicosamina (COSTA JUNIOR,2008).

Isto é, há a separação da quitina com os outros componentes da carapaça dos crustáceos através de processo químico como esquematizado na figura 3, ocorrendo desmineralização e desproteinização das carapaças em soluções diluídas de HCl e NaOH, passando por descoloração com KMnO₄ e ácido oxálico, por exemplo. A quitina adquirida, é desacetilada com solução concentrada de NaOH 1% sob agitação por 24h a 65°C, produzindo a quitosana (LEMOS,2013).

Figura 3– Processo de obtenção da quitosana.



Fonte: LEMOS, 2013.

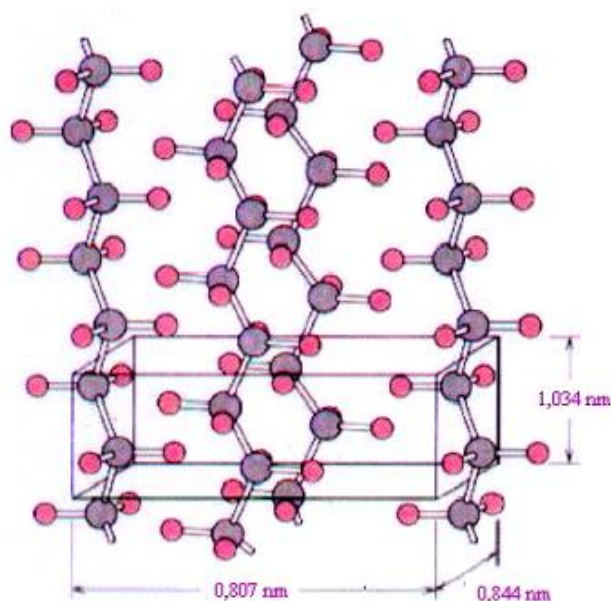
Sendo assim, as propriedades da quitina e da quitosana estão relacionados aos seus respectivos GD. O teor de grupos N-desacetilados e, consequentemente, de grupos NH₂ é o que permite caracterizar o processo de desacetilação da quitina. E, por sua vez, a solubilidade da quitosana está relacionada à quantidade de grupos NH₂ que podem ser protonados em meio ácido (SOUZA,2016).

O preparo da quitosana pode ser feito por meio de soluções de hidróxido de sódio com alta concentração (NaOH 40- 50%), levando à sua degradação. Na reação de hidrólise são retirados todos ou somente alguns grupos acetila da quitina, liberando grupos amino que auxiliam na natureza catiônica da quitosana obtida (SOUZA,2016).

3.5.2 *Propriedades da quitosana*

A quitosana é um polímero semicristalino no estado sólido. Na difração de raios-X é observada uma célula unitária ortorrômbica com parâmetros $a = 0,807\text{nm}$, $b = 0,844\text{ nm}$ e $c = 1,034\text{nm}$ representado pela figura 4 A célula unitária é composta por duas cadeias antiparalelas de quitosana e nenhuma molécula de água. A influência das condições de processamento na cristalinidade tem sido temas de estudos (AZEVEDO, et al., 2007).

Figura 4 – Célula unitário ortorrômbica da quitosana.



Fonte: AZEVEDO, et al., 2007.

A quitosana pode ser caracterizada de acordo com suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Em que as propriedades físicas que podem ser analisadas são o tamanho das partículas, densidade, solubilidade e viscosidade. As propriedades químicas são a distribuição de massa molecular, grau de desacetilação, pH, índice de cristalinidade, valor de retenção de

água, níveis de metais pesados e proteínas. E ainda, as propriedades biológicas são apirogenicidade, citotoxicidade e biocompatibilidade (BEZERRA, 2011).

A quitosana possui carga positiva, sendo uma das grandes vantagens quando comprada a outros polímeros naturais, pois isso é o que confere à mesma propriedade de mucoadesividade. Apresenta insolubilidade em água em pH alcalino e neutro e solubilidade em pH ácido (BEZERRA, 2011). Quando em soluções aquosas de ácidos diluídos, a quitosana passa a ter maior número de cargas positivas pela protonação dos grupos amino de suas cadeias e passa a apresentar o comportamento de polieletrólito catiônico. Por isso, a quitosana pode ser usada de variadas formas, seja como membranas, esferas, microesferas e até géis, devido ao caráter higroscópico, possibilitando a absorção em até 400% da sua massa inicial em meio aquoso (NEVES, 2013).

O grande número de grupos hidroxila e amino reativos na estrutura da quitosana promove o acoplamento de ligantes, alta biodegradabilidade e grande afinidade por metais pesados, o que leva ao seu uso em propósitos farmacológicos, biomédicos, alimentícios, na agricultura e no tratamento de água e esgoto (NEVES, 2013). Na tabela 1 as propriedades físico-químicas estão agrupadas e resumidas.

Tabela 1 – Resumo das propriedades físico-químicas da quitosana.

Propriedades		
Físicas	Tamanho da partícula	<30µm
	Densidade	1.35 – 1.40 g/cc
	Solubilidade	Insolúvel em água Solúvel em meio ácido
	Alta massa molecular	
Químicas	pH	<5,5
	Alta densidade de carga	Em pH > 5,5
	Adere à superfícies carregadas negativamente	
	Forma gel com poliânions	
	Polieletrólito linear	
	Quela metais de transição	
	Favorável a modificações químicas	
	Reage com hidróxido	

Fonte: BEZERRA, 2011.

3.5.2.1 Grau de desacetilação

A etapa considerada de maior importância na síntese da quitosana é a desacetilação da quitina. A identidade química da quitosana, e a determinação da sua aplicabilidade biológica está relacionada com a remoção dos grupos acetil e liberação dos grupos amínicos reativos. Muitos trabalhos avaliam como a resposta biológica varia com os graus de desacetilação. As características da quitina que deu origem a quitosana e os métodos químicos ou biológicos utilizados no processo de purificação vão influenciar diretamente no grau de desacetilação (GD) da quitosana obtida (GOMES,2007).

A forma mais comum para desacetilação da quitina é através da suspensão de solução aquosa de hidróxido de sódio, em que, a concentração dessa solução, o excesso de álcali, o tempo e a temperatura da reação podem variar, de acordo com o procedimento adotado. Dessa forma, não é possível ter a definição padrão para realizar essa reação. Porém, assume-se que os fatores que mais influenciam na eficiência da desacetilação e nas características das quitosanas obtidas são: a) temperatura e tempo de reação; b) concentração da solução de álcali e adição de diluente (álcoois de cadeia curta e cetonas são empregadas); c) razão quitina/álcali; d) tamanho das partículas de quitina; e) atmosfera da reação e presença de agentes que evitem a despolimerização (AZEVEDO, et al., 2007).

3.5.2.2 Massa molecular

Massa molecular da quitosana também varia muito de acordo com a origem e processamento da quitina. A massa molecular da quitina natural é normalmente maior que 1×10^6 Da, já a da quitosana comercial encontra-se em torno de 1×10^5 Da, sendo dependente das condições de produção. Para aplicação farmacêutica os estudos focam na importância da massa molecular da quitosana, pois deseja-se a obtenção do polímero com baixa massa molecular. Para reduzir as cadeias de quitosana, necessita-se de degradação enzimática, degradação oxidativa, clivagem ácida e degradação ultrassônica (GOMES,2007).

3.5.2.3 Solubilidade

A solubilidade da quitosana está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e assim, maior a solvatação em água. Em pKa em torno de 6,3 a quitosana encontra-se naturalmente carregada e pronta para reagir com outros compostos.

Enquanto a quitina é insolúvel na maioria dos solventes orgânicos, a quitosana é solúvel, facilmente, em soluções ácidas diluídas (ácido acético, fórmico, láctico), em pH entre 2,0 e 6,0. Na literatura, é muito citada a dissolução em ácido acético 1% pH 4.0. Porém, soluções concentradas do ácido em altas temperaturas, podem levar à despolimerização da quitosana, e por ser uma solução inorgânicas, a solubilidade tende a diminuir (GOMES,2007).

Esse é um parâmetro de difícil controle e está diretamente ligado com a desacetilação, a concentração iônica, pH, natureza do ácido usado para a protonação e a distribuição dos grupos acetil ao longo da cadeia, além das condições de extração e secagem do polissacarídeo (AZEVEDO, et al., 2007).

3.5.3 Aplicações da quitosana

A quitosana tem sido aplicada na: agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas), no tratamento de água (floculante para clarificação, remoção de íons metálicos, polímero ecológico e redução de odores), na indústria alimentícia (fibras dietéticas, redutor de colesterol, conservante para molhos, fungicida e bactericida, recobrimento de frutas), na indústria de cosméticos (esfoliante para a pele, tratamento de acne, hidratante capilar, creme dental) e biofarmacêutica (imunológico, antitumoral, hemostático e anticoagulante). Mas, sua aplicação mais notável está na área biomédica (suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato, liberação controlada de drogas em animais e humanos, encapsulamento de materiais) (AZEVEDO, et al., 2007).

O que apresenta como maior justificativa para a grande aplicação da quitosana na área biomédica é sua biocompatibilidade, e ainda, a capacidade bactericida, não promovendo reações adversas severas quando em contato com células humanas. As enzimas que são abundantemente encontradas no corpo humano, podem degradar a quitosana, e os oligômeros podem ativar macrófagos e estimular a síntese de ácido hialurônico. Ainda, fornecem recursos para reconstrução de componentes da matriz extracelular. É reconhecida por células tumorais, podendo trazer fármacos ao seu alvo de forma seletiva. Ou seja, é considerada uma substância segura para o organismo (COSTA JUNIOR,2008). Na tabela 2 estão resumidas as aplicações da quitosana.

Tabela 2 – Resumo das aplicações da quitosana

Aplicação	Exemplos
Tratamento de água	Absorvente de íon metálicos e pesticidas, remoção de fenóis, proteínas, radioisótopos.
Agricultura	Revestimento de frutas e sementes, fertilizante e fungicida.
Aditivos alimentares	Clarificação de frutas e bebidas, estabilização a cor, redução de absorção lipídica, agente controlador de textura, conservante e antioxidante, emulsificante, agente espessante e estabilizante, preparação de fibras alimentares.
Material biomédico e farmacêutico	Tratamento de queimaduras, preparação de pele artificial, suturas, lentes de contato, membrana de diálise sanguínea, anticoagulante, antigástrico, hemostático, agente hipocolesterêmico, sistema de liberação de fármacos, terapia dentária.
Cosméticos	Produtos de pele e capilares.
Reagentes analíticos	Imobilização de enzimas, substratos enzimáticos.
Outros	Fibras sintéticas, revestimento de papel, algodão, filmes e esponjas.

Fonte: BEZERRA, 2011.

3.6 Híbridos orgânicos-inorgânicos de sílica e quitosana

Inspirado em vários compósitos e híbridos presentes na natureza constituídos de quitina e compostos inorgânicos, vários estudos sobre a produção de materiais constituídos de quitina ou quitosana com carbonatos de cálcio, fosfato de cálcio e sílica têm sido realizados. Sabe-se que, ossos, dentes, carapaças de animais e conchas são constituídos de materiais organo-inorgânicos, nos quais proteínas e lipídios formam uma matriz estrutural para a deposição de compostos inorgânicos como cristais de hidroxiapatita, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio e sílica. A síntese de híbridos à base de quitosana e sílica tem sido realizada como meio de aproveitar as características estruturais da quitosana, que possui uma estrutura de cadeia regular e pode formar soluções verdadeiras em meios ácidos, o que facilita o seu uso no processo sol-gel. Os derivados da quitosana e a própria quitosana podem apresentar interações específicas com a superfície de gel de sílica, como ligações químicas ou adsorção específica (Muzzarelli & Muzzarelli, 2002).

No estudo de Ayres; Hunt, 2001, foram sintetizados hidrogéis contendo uma fase sólida de quitosana e sílica, através do uso de uma solução aquosa de quitosana em ácido acético a 1 %

para catalisar a hidrólise e a condensação do TEOS, alcóxido precursor da sílica. As amostras variaram na proporção quitosana/sílica de 0,1 a 1,1 e o tempo de geleificação variou de 1 a 4 horas para as amostras sintetizadas. Em relação às propriedades físicas dos materiais obtidos, mostraram uma forte dependência da proporção quitosana/sílica. Em que, com o aumento da quantidade de quitosana, a contração do material diminuiu significativamente. Mostrando dessa forma, que a quitosana inibiu a contração de geleificação, devido ao alto caráter polar da quitosana e capacidade de formar ligações de hidrogênio entre as partículas de sílica adjacentes. Tal comportamento pode ser explicado por essas ligações, que podem reduzir as reações de condensação dos grupos hidroxilas superficiais com as partículas de sílica próximas, e assim, inibindo a contração do gel.

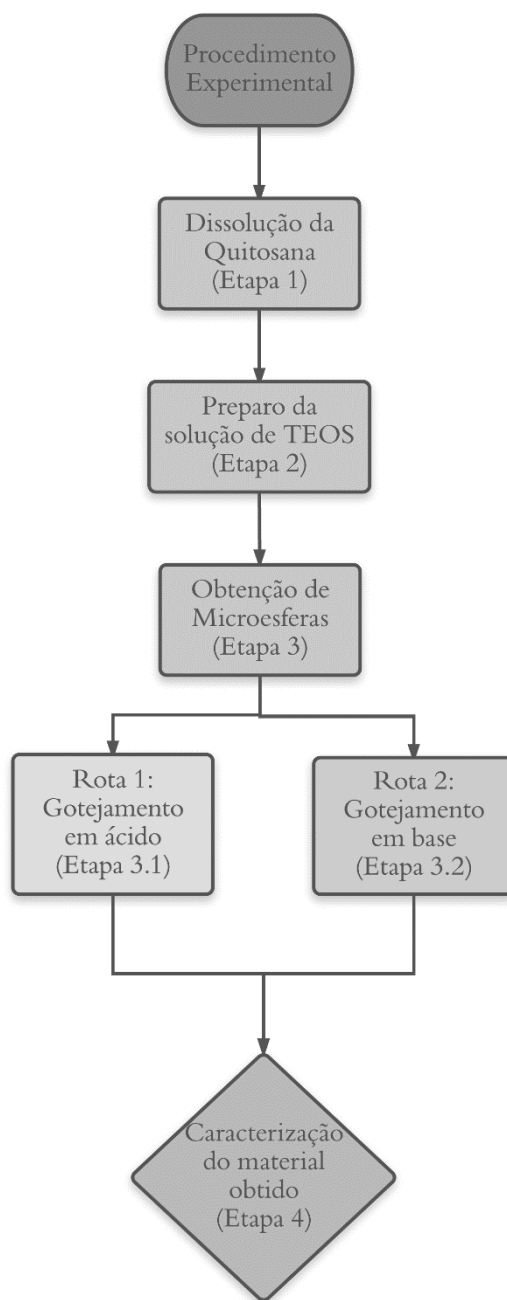
Reis, 2007 em seu trabalho para obtenção de híbridos porosos a base de sílica e quitosana utilizou como solução precursor no método sol-gel, a partir da reação do alcóxido metálico de silício, o TEOS, com a água deionizada e o HCl (1M), catalisador da hidrólise. Variando a concentração de quitosana na composição do híbrido em 10, 20 e 30% percebeu-se que a maior concentração de quitosana implicou em um maior tempo de geleificação pela presença de água da solução que dificultou o processo. Pela análise de DRX, os difratogramas das amostras com diferentes concentrações de quitosana, mostraram a presença de apenas um halo característico a 22° de menor intensidade e ligeiramente deslocado para a direita para todos os híbridos sintetizados, já que um pico de grande intensidade a 20° foi observado nas quitosanas puras. Este deslocamento poderia estar relacionado às maiores distâncias intermoleculares presentes nas cadeias dos híbridos em relação às quitosanas, as quais apresentariam maior empacotamento de cadeias. De uma maneira geral, os difratogramas apresentaram caráter essencialmente amorfo, já que a quantidade relativa do componente inorgânico foi muito maior que a do componente orgânico semicristalino.

4 METODOLOGIA

4.1 Procedimento experimental

O trabalho foi desenvolvido como está representado no fluxograma da figura 5.

Figura 5 – Fluxograma representativo do procedimento experimental adotado



Fonte: Próprio autor através do software LucidChart.

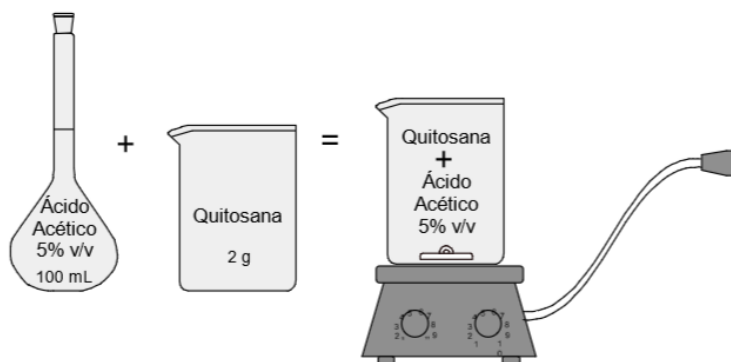
4.2 Materiais

- Ácido acético glacial 99,8% PA – NEON
- Quitosana alta massa molecular – Sigma Aldrich Chemistry
- Tetraortossilicato (TEOS)
- Ácido Clorídrico (HCl) 5M
- Ácido fluorídrico (HF) 10% v/v
- Hidróxido de Sódio (NaOH) 2 mol/L
- Seringa para insulina com agulha de 0,38 x 13 mm

4.3 Preparo da suspensão de quitosana – Etapa 1

Preparou-se a solução de ácido acético 5% e misturou-se com a quitosana de forma a obter uma suspensão de 2% em massa. Adicionou-se a quitosana na solução de ácido acético e deixou-se em agitação por 4 dias. Armazenou-se o produto obtido. O preparo da solução de quitosana está representado na figura 6.

Figura 6 – representação esquemática dissolução de quitosana

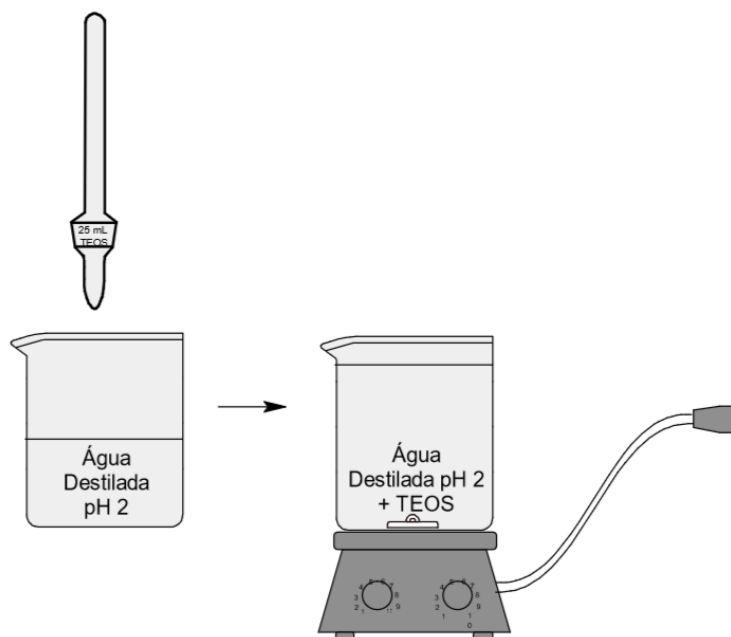


Fonte: Próprio autor através do software ChemSketch.

4.4 Preparo da solução de TEOS – Etapa 2

Adicionou-se em um béquer de 100mL, 25mL de água destilada. Ajustou-se o pH para 2 gotejando HCl 5M. Em seguida adicionou-se 25mL de TEOS e deixou-se em agitação por 45 minutos para solubilização da mistura. Essa etapa está representada esquematicamente na figura 7.

Figura 7 – Representação esquemática do preparo da solução de TEOS



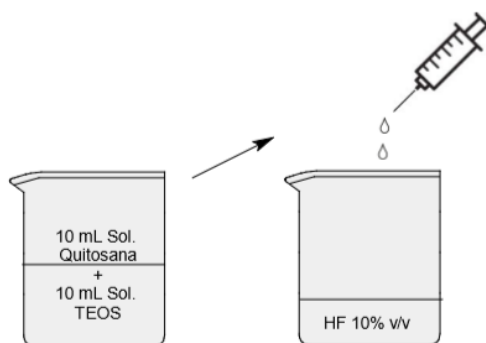
Fonte: Próprio autor através do software ChemSketch.

4.5 Rota para obtenção das microesferas de SiO₂ e Quitosana – Etapa 3

4.5.1 Rota 1 - Gotejamento em ácido

Misturou-se 10mL da solução obtida na etapa 1 com 10mL da solução obtida na etapa 2. Gotejou-se através da seringa em solução de HF 10%v/v à uma distância de aproximadamente 300mm da solução. Deixando em repouso por 7 dias. Essa etapa está representada esquematicamente na figura 8.

Figura 8 – Representação da obtenção de microesferas por gotejamento em ácido

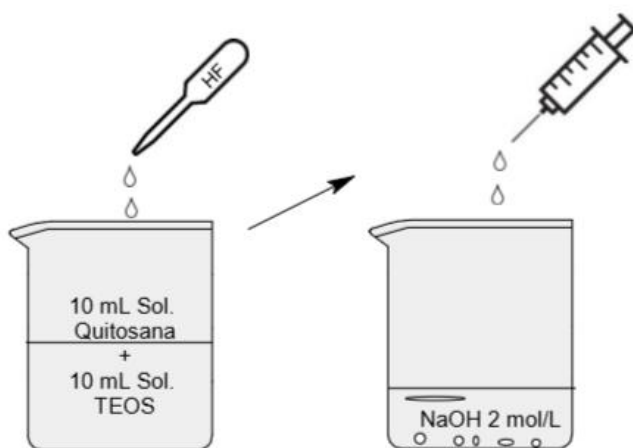


Fonte: Próprio autor através do software ChemSketch.

4.5.2 Rota 2 - Gotejamento em base

Misturou-se 10mL da solução obtida na etapa 1 com 10mL da solução obtida na etapa 2. Abaixou-se o pH com adição de 10 gotas de HF 10% v/v. Aguardou-se início parcial da geleificação acompanhando visualmente a elevação sutil da viscosidade até atingir a viscosidade suficiente para formação apropriada de uma gota da mistura na ponta da agulha. Para tanto, gotejou-se em tempos diferentes através da seringa em solução de NaOH 2 mol/L à uma distância de aproximadamente 300mm da solução. Essa etapa está representada esquematicamente na figura 9.

Figura 9 – Representação da obtenção de microesferas por gotejamento em base



Fonte: Próprio autor através do software ChemSketch..

4.6 Caracterização das microesferas obtidas

4.6.1 Registro de imagem fotográfica

Observou-se visualmente o aspecto físico das esferas ainda intumescidas após 2 dias de obtenção e após 7 e 21 dias sem contato com a água, através de registro de imagem com câmera fotográfica Samsung WB2100.

4.6.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva por raios X (EDX)

Os materiais sintetizados foram submetidos aos ensaios de microscopia eletrônica de varredura (MEV) por meio do equipamento Shimadzu SSX-550, acoplado ao espectrômetro de energia de elétrons (EDX), utilizado para análise da composição da superfície das amostras. Apenas as amostras da Rota 2 tiveram análise por EDX. Para a realização do MEV metalizou-

se a superfície das amostras com ouro utilizando o equipamento a Quick Coater Sanyu Elétron, tornando as superfícies condutoras para o feixe de elétrons.

4.6.3 Difração de raio X (DRX)

A cristalinidade das amostras foi analisada utilizando a técnica de difração de raios X (DRX). As amostras foram trituradas e levadas em forma de pó ao equipamento Shimadzu XRD 7000, usando radiação CuK α ($\lambda=1,54056\text{\AA}$), operando com 40kV, 30mA e 2θ variando de 5,00 a 90,00° com passo igual a 0,06°.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

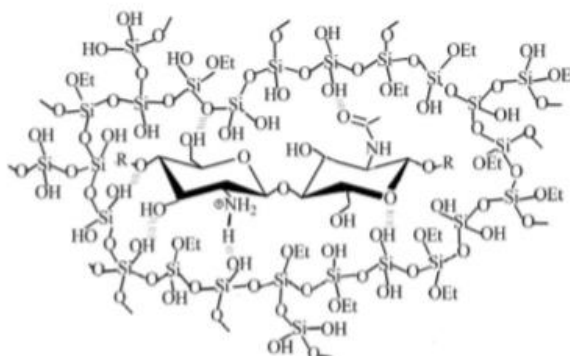
5.1 Aspectos gerais

O material sintetizado pela rota 1, gotejamento em meio ácido, não foi observada nenhuma formação imediata, sendo necessário deixar a solução em repouso e fazer a primeira análise visual após pelo menos 7 dias.

Para o material sintetizado pela rota 2, método de gotejamento em meio básico, foi observado o tempo ideal para obtenção de esferas entre 30 a 45 minutos após a adição do HF na solução. Antes desse tempo, formou-se filmes que não se estabilizaram para serem caracterizados. Após esse tempo, não foi possível a formação esferas, já que a geleificação promove um aumento brusco na viscosidade a ponto de impedir o gotejamento pela agulha. Na tentativa de usar apenas a seringa, sem a agulha, levou a formação de partículas não esféricas em dimensões muito maiores do que as esferas já que a geleificação estava avançada e diâmetro de abertura da seringa é maior do que o da agulha.

RAMOS, 2013 propôs em seu trabalho que o híbrido (SiO_2/QT) obtido pelo método sol-gel pode ser representado como proposto na figura 10.

Figura 10 – Representação hipotética do híbrido sílica-quitosana. R: unidade repetitiva da QT



Fonte: RAMOS,2013

O meio ácido usado no procedimento de dissolução da quitosana faz com que a os grupos amino se apresentem protonados (NH_3^+). Esperou-se que estes grupos juntamente com as hidroxilas da quitosana, possibilitassem que o biopolímero ficasse preso à rede inorgânica de sílica através de ligações intermoleculares de hidrogênio das hidroxilas e grupos (NH_3^+) da quitosana com os grupos silanóis da superfície da sílica.

5.2 Análise visual do material sintetizado

5.2.1 *Material obtido pela Rota 1 - gotejamento em ácido*

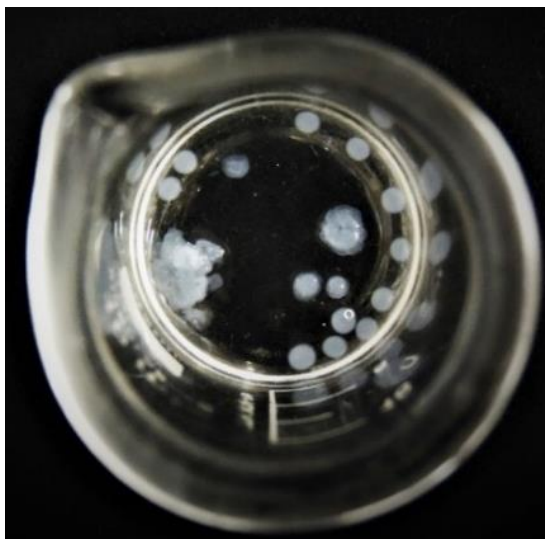
Logo após o gotejamento da solução de quitosana e TEOS em ácido fluorídrico 10% não foi observada imediatamente nenhuma formação de partícula, nem mesmo de filme. Sendo assim, deixou-se em repouso por 7 dias e observou-se a formação de alguns pequenos particulados. Recolheu-se uma amostra com pipeta, e espalhou-se em lâmina de vidro, deixando secar por mais 7 dias. Após esse tempo, percebeu-se pequena parcela de material particulado na lâmina, que foi removida e avaliada através da microscopia eletrônica de varredura.

5.2.2 *Esferas obtidas pela Rota 2 - gotejamento em base*

A formação de microesferas de quitosana se dá pela neutralização da solução ácida de quitosana por uma base forte, como NaOH utilizado. Esta solução coagula a quitosana no formato das gotas. A uniformidade e esfericidade das partículas de quitosana são conseguidas ajustando-se a viscosidade da solução gotejada associada à altura da seringa até a solução, capaz de permitir tempo para que ocorra rearranjo do polímero e formação da gota pelo rompimento da força cisalhante, antes que a gota entre em contato com a solução de reticulação. Neste mecanismo, quando a gota, de densidade maior que a da solução coagulante, atinge a superfície dessa solução, o seu formato esférico é mantido pois ela mergulha totalmente completando a coagulação devido a apolaridade da solução, que busca forma mais estável.

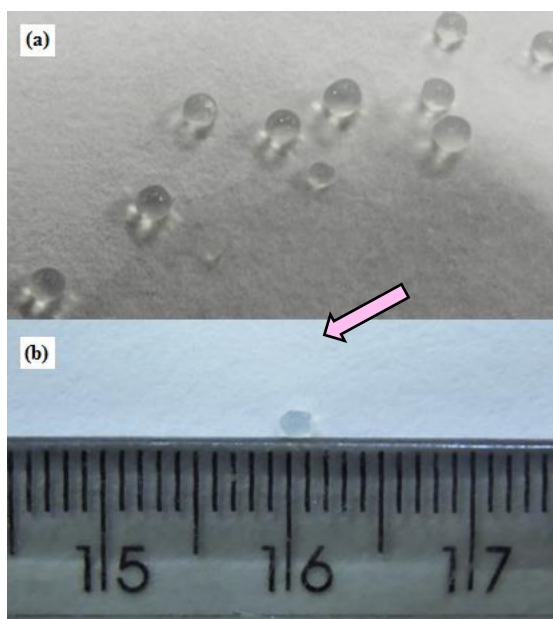
Após o gotejamento, as esferas obtidas foram lavadas com água destilada e reservadas em béquer com fino filme de água por 2 dias para promover o envelhecimento do sol-gel e ainda, o meio hidratado impede que a velocidade de perda de água seja mais lenta. Em seguida, retirou-se a água do béquer e deixou-se as esferas reservadas no béquer coberto por Parafilm® com a intenção de impedir a absorção da umidade do ambiente. Na figura 11 é possível observar o aspecto das esferas ainda em contato com o filme de água e nas figuras 12 e 13 as esferas sem contato com a água, mas ainda intumescidas.

Figura 11 – Esferas obtidas por gotejamento em base em contato com película de água



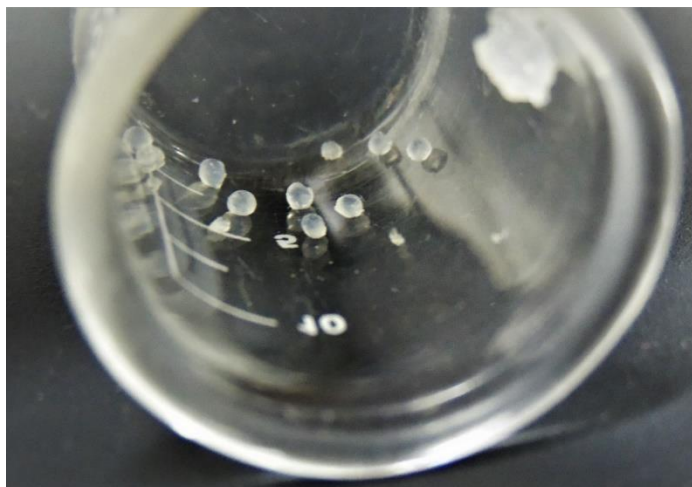
Fonte: Próprio autor

Figura 12 - Microesferas obtidas em base logo após serem retiradas da película de água (a) e referência de tamanho (b) – esfera indicada pela seta



Fonte: Próprio autor

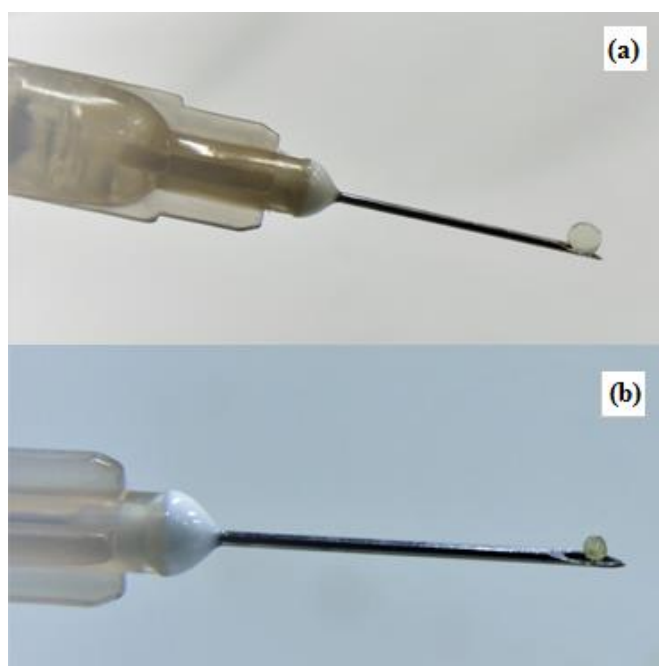
Figura 13– Microesferas obtidas em base ainda intumescidas



Fonte: Próprio autor

Após 7 dias que as microesferas foram retiradas do contato com a água e ficaram armazenadas em béquer, observou-se redução no volume das esferas pela perda de água para atmosfera. Essa diferença pode ser percebida na figura 14, comparando (a) ainda intumescidas logo após ter sido retirada do contato com água e (b) após 7 dias armazenada em béquer, sem contato com água.

Figura 14 – Comparação do volume das microesferas obtidas em base, em que (a) imediatamente após retirada do contato com água e (b) após 7 dias armazenadas sem contato com água.



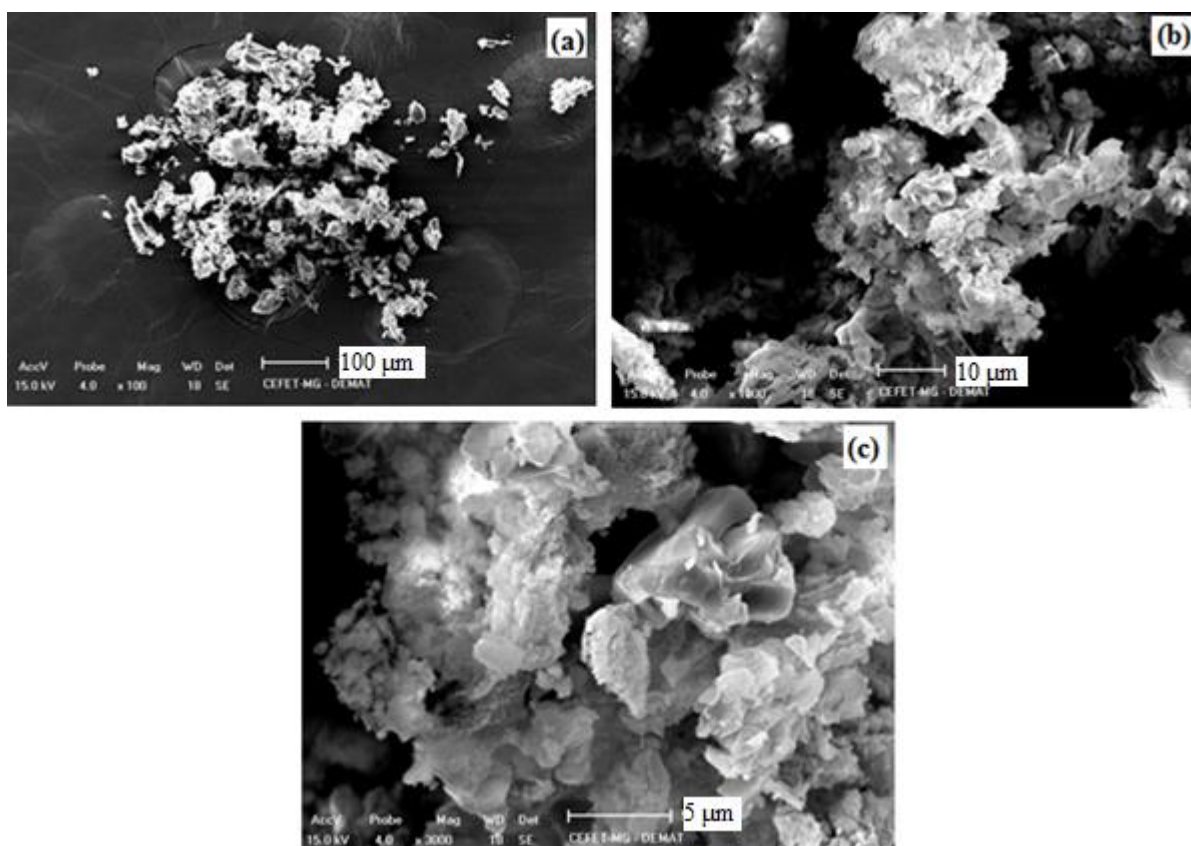
Fonte: Próprio autor

5.3 Resultado microscopia eletrônica de varredura

5.3.1 Microscopia eletrônica de varredura do material obtido pela Rota 1 - gotejamento em ácido

Analizando a morfologia do material obtido pela imagem gerada pelo MEV representada pela figura 15.

Figura 15– Resultados do MEV, com aumentos diferentes, do material obtido por gotejamento em ácido



Fonte: Próprio autor

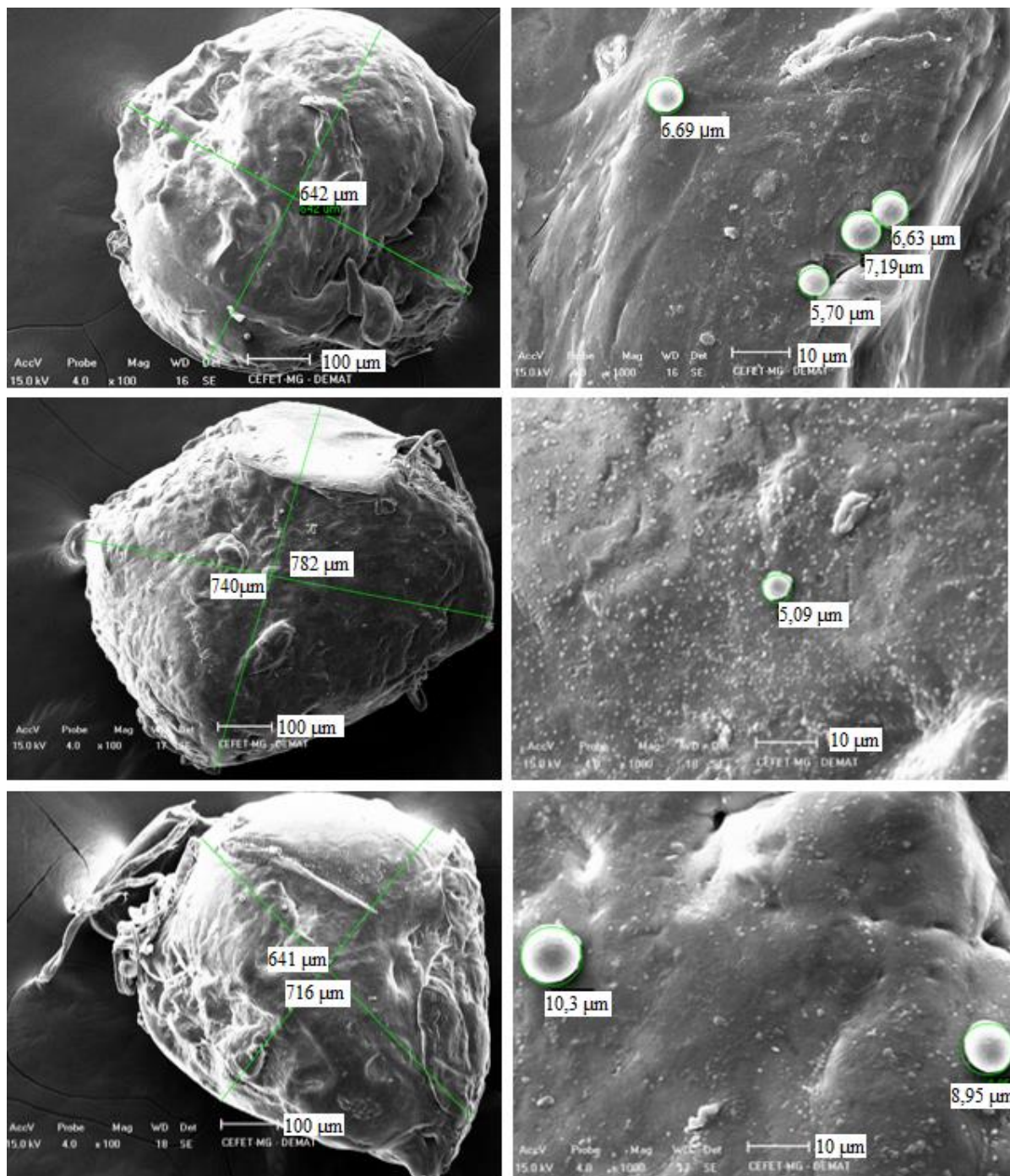
Percebe-se que não foi alcançado o formato esférico desejado, formando apenas aglomerado particulado. Isso pode ser justificado pela função do HF como catalisador da reação de geleificação da solução de quitosana e SiO_2 que intensifica as reações de hidrólise e condensação, levando ao aumento gradativo da viscosidade do sol, se transformando em gel. Sendo assim, como o ácido só entrou em contato com a solução após o gotejamento a reação do ácido com o vidro foi lenta, houve nucleação e crescimento da quitosana que conseguiu barrar o crescimento do vidro disformemente. Devido as reações de polimerização terem ocorrido de forma mais lenta, só foi possível perceber a formação de algum precipitado após 7

dias, indicando que a solução precisou de maior tempo em contato com o ácido para reação, nucleação e crescimento.

5.3.2 Microscopia eletrônica de varredura do material obtido pela Rota 2 - gotejamento em base

Através dessa técnica permitiu-se avaliar a morfologia do material sintetizado, o aspecto superficial, formato e o tamanho do mesmo. Sendo assim, a partir da figura 16, percebe-se que foi possível a obtenção de microesferas esféricas, com dimensões entre 600 e 800 μ m. O que consiste no resultado esperado, visto que trabalhos anteriores utilizando a mesma técnica de gotejamento obtiveram esferas em torno de 1,24mm (SILVA, 2014) e 1,00mm (RAMOS, 2016).

Figura 16 – Microscopia eletrônica de varredura para análise de tamanho e formato das micropartículas (esquerda) e detalhamento da superfície (direita)



Fonte: Próprio autor

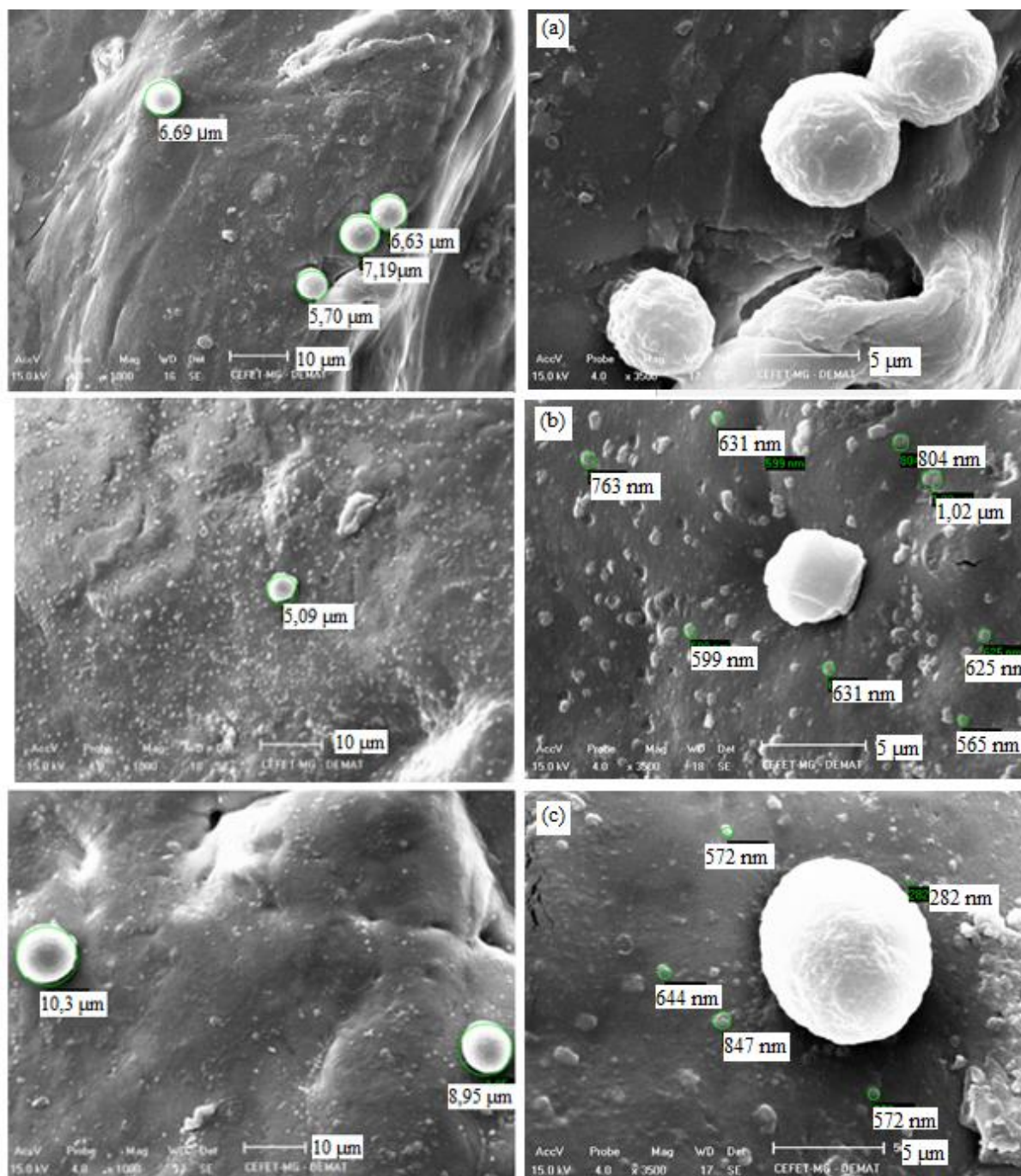
Avaliando o aspecto esférico, percebe-se que houve variação, obtendo realmente esferas e algumas micropartículas que apresentaram formato não esférico, figura 16 (a) e (b) (c) respectivamente, apresentando espécie de calda figura 16 (c). Isso pode ser justificado pela geleificação da solução que dificulta o gotejamento de forma mais fluida, gerando essa calda até o desprendimento da agulha pela força cisalhante entre a solução e a agulha. Portanto,

supõe-se que as partículas não esféricas tenham sido formadas com tempo maior de geleificação.

Com maior aumento, representado pelas imagens da direita da figura 16, percebeu-se que houve a formação de algumas esferas ainda menores anexas na superfície da microesfera analisadas. Essas partículas anexas possuem dimensões entre 5 e 8 μm e geometria esférica bem definida. Supõe-se que essa formação seja coagulação de quitosana pela forte atração entre as partículas em nível coloidal, indicando que as partículas colaram no primeiro contato, assim como ocorreu no trabalho de Moura, 2005. Para verificar essa hipótese realizou-se análise por EDS que apresentou grande quantidade de carbono e oxigênio na superfície da esfera, reforçando o que se pensou sobre a coagulação no nível coloidal. Sendo assim, a representação hipotética da interação entre a quitosana e a sílica proposta por Ramos, 2013 não se aplica nos resultados encontrados.

Observando a figura 17 (b) e (c), para aumento ainda maior do que as imagens da esquerda, percebeu-se analisando as imagens da direita, a formação de partículas incrustadas na superfície em ordem nanométrica, entre 500 e 800nm. O aparecimento dessas precipitações é suposto pela presença de impurezas e reações dos íons Na^+ da solução coagulante de NaOH com íons Cl^- da solução de HCl utilizada para ajuste de pH.

Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura com aumento de 1000 vezes (esquerda) e 3500 vezes (direita)



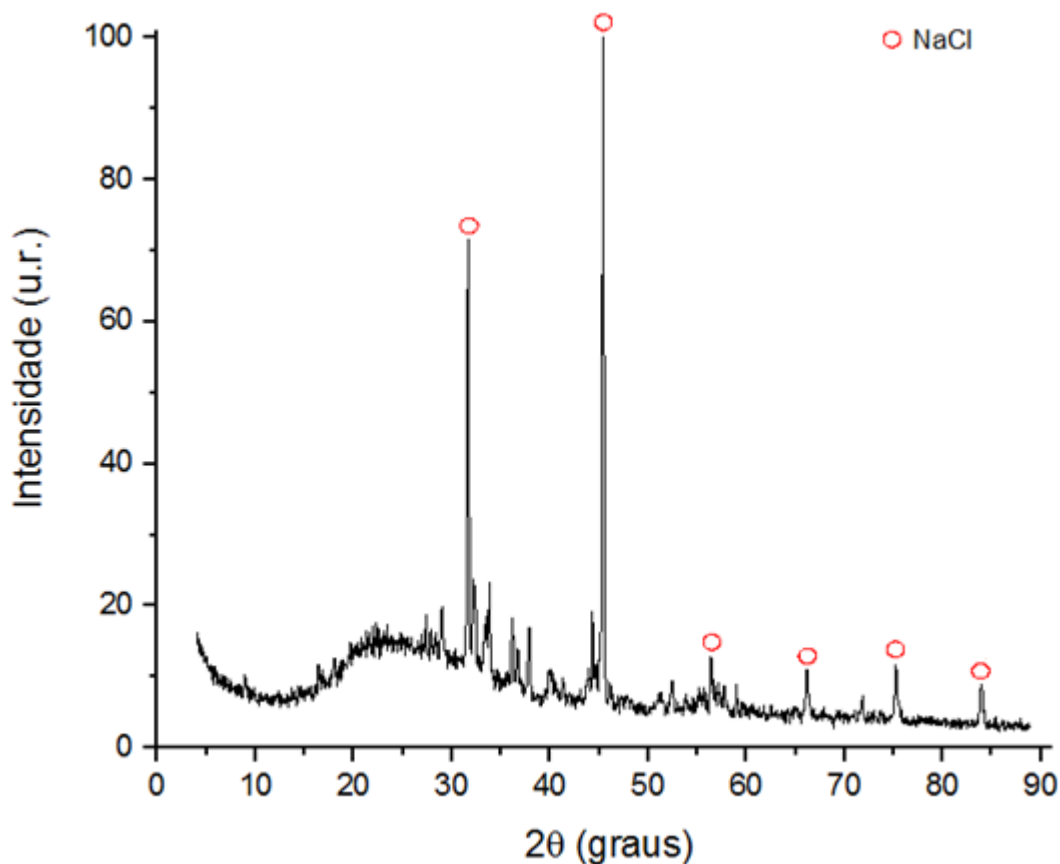
Fonte: Próprio autor

5.4 Resultados Difração de raio X

5.4.1 DRX material sintetizado pela Rota 2 - gotejamento em base

Através dessa técnica de DRX foi possível observar a cristalinidade do material obtido. Na figura 18 tem-se o difratograma obtido após tratamento dos dados.

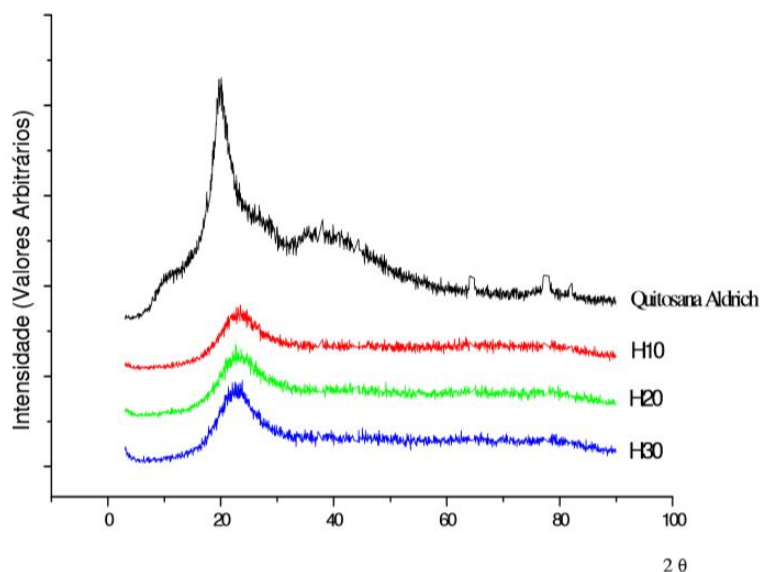
Figura 18 – Difratoograma obtido após caracterização da amostra obtida pela rota 2



Fonte: Próprio autor através do software Origin Evaluation 2018

Reis, 2007 traz que para quitosana é esperado até 5 regiões de reflexão cristalina em 2θ associadas a 020, 110, 120, 101 e 130, sendo os dois primeiros os mais característicos e referentes aos ângulos 10 e 20°. Em seu estado natural, a quitosana apresenta uma reflexão mais forte em 2θ a 20°. Já em seu estudo para formação de híbridos porosos a base de sílica e quitosana, a quitosana produzidos com o ácido acético mostra uma fraca reflexão em 2θ a 20° e reflexão mais acentuada a 11° como representado na figura 19.

Figura 19- Difrátograma obtido no trabalho de Ramos, 2007, comparando o comportamento da quitosana pura, híbrido com 10, 20 e 30% respectivamente, de cima para baixo



Fonte: Ramos, 2007

Este comportamento foi explicado pela mudança parcial da forma cristalina II apresentando uma conformação de cadeias mais constrita para a forma cristalina I, com estrutura de cadeia mais estendida quando a quitosana foi dissolvida no ácido acético para a formação dos híbridos.

No presente trabalho a formação de microesferas também foi feita através da dissolução de quitosana em ácido acético, portanto esperava-se uma reflexão mais acentuada a 11°, o que não foi observada. Isso pode ser justificado pela baixa porcentagem de quitosana em relação ao SiO₂ e presença de muitas impurezas e formação de alguns sais. Porém é possível observar uma fraca reflexão esperada em 2θ a 20°.

Era esperado que o difratograma apresentasse o caráter essencialmente amorfo, pois a quantidade relativa do componente inorgânico (SiO₂) foi muito maior que a do componente orgânico semicristalino (quitosana) (REIS, 2007). Além disso, os picos cristalinos da quitosana são poucos e bem específicos. Porém, percebe-se a presença de picos extremamente cristalinos que, através do software X Powder foi possível identificar em 2θ a 31°, 45°, 56°, 66°, 75° e 83°, essa cristalinidade como proveniente do sal NaCl. Corroborando para a hipótese levantada ao analisar os resultados de MEV. Dessa forma, justifica, as nanopartículas agregadas na microesfera, como mostrado na figura 17 anterior da análise de MEV e ainda reforçado presença de sódio apresentada no EDS.

6 CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que o método sol-gel e a técnica de gotejamento possibilitaram a obtenção uma nova rota para síntese de híbridos com fase inorgânica composta por sílica e fase orgânica composta por quitosana.

Para obtenção de micropartículas, a rota 2 por catálise com HF e gotejamento em NaOH, permitiu a síntese de microesferas e através da análise do MEV foi possível quantificar as dimensões das esferas entre 600 e 800µm e observar a formação de esferas ainda menores e particuladas na superfície das amostras.

As técnicas de DRX e EDS mostraram que o particulado formado na superfície da microesferas, caracterizado no MEV com dimensões quase 100 vezes menores que as microesferas em si, com valores entre 5 e 8µm, se tratam de coagulações predominantemente de quitosana na superfície pela alta quantidade de carbono e oxigênio indicada pelo EDS.

Devido a interação entre a solução de sílica/quitosana com caráter apolar e a solução de NaOH com caráter polar, permitiu que a quitosana englobasse todo conteúdo da gota de forma mais estável. Por sua vez, o gotejamento permitiu que a forma esférica se mantivesse durante esse contato.

Os agregados de ordem nanométrica foram identificados como precipitação de NaCl proveniente da reação entre o HCl utilizado no ajuste de pH e o NaOH utilizado como solução coagulante.

O ajuste de pH com HF na rota 2 foi fundamental para aumento da viscosidade necessário no método sol-gel. Tal aumento permitiu melhor gotejamento pelo rompimento da tensão cisalhante entre a agulha e o gel, formando as esferas e mantendo a forma ao entrar em contato com a solução coagulante.

Dessa forma a rota se mostrou promissora na síntese de microesferas em dimensões cada vez menores, composição química ideal e morfologia mais regular de acordo com as devidas aplicações de estimulação celular e/ou liberação de drogas.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A rota obtida tem grande potencial para obtenção de microesferas, sendo sugerido para abordagem em trabalhos futuros o controle de outros parâmetros avaliados como a viscosidade da solução de quitosana, agitação da solução durante o gotejamento, adição de outros compostos na solução e liofilização para análise das esferas obtidas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIROLD, Claudio; FARIA, Robson Fernandes de. ALCÓXIDOS COMO PRECURSORES NA SÍNTESE DE NOVOS MATERIAIS ATRAVÉS DO PROCESSO SOL-GEL. **Química Nova**, Campinas, v. 27, n. 1, p.84-88, janeiro 2004.

AWANO, Carlos Miranda. **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SÍLICAS MESOPOROSAS**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

AYERS, M. R. & HUNT, A. J. Synthesis and properties of chitosan-silica hybrid aerogels. *Journal of Non-Crystalline Solids*. v. 285, p.123-127, 2001.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 3, n. 2, p.27-34, 24 dez. 2007.

BEZERRA, Adriana Maia. **Síntese e avaliações físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Departamento Tecnologia Bioquímico-farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

BRAGA, A. N. S. et al. Síntese de mulita pelo processo sol-gel: Uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 9, n. 2, p.60-73, 07 jul. 2014.

COSTA JÚNIOR, Ezequiel de Souza. **Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial**. 2008. 151 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

GOMES, Raphaela Vasconcelos. **Imobilização De Esporos De Bacillus Subtilis Em Esferas De Quitosana Obtida De Quitina De Camarão Para Uso Na Biodegradação De Hidrocarbonetos**. 2007. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Marinhas Tropicais, Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

JOSÉ, Nadia Mamede; PRADO, Luís Antônio Sanchez de Almeida. MATERIAIS HÍBRIDOS ORGÂNICO-INORGÂNICOS: PREPARAÇÃO E ALGUMAS APLICAÇÕES. **Química Nova**, Campinas, v. 28, n. 2, p.281-288, 5 nov. 2004.

LEMOS, Elke Margareth Fernandes. **Síntese e Caracterização de Filmes e Matrizes Híbridas e Nanocompósitas de Quitosana e Vidro Bioativo**. 2013. 139 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

MOURA, Edson de Souza. **Preparo, caracterização e perfil de liberação in vitro de microesferas de sílica processadas por spray drying**. 2005. 150 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Metalúrgica e de Minas, Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

MUZZARELLI, C.& MUZZARELLI, R. A A. Natural e artificial chitosan-inorganic composites. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.92, p. 89-94, 2002

NEVES, Andréia Lange de Pinho. **Preparação E Caracterização De Nanopartículas De Quitosana Incorporadas Com Zinco Com Potencial Atividade Cicatrizante E Antimicrobiana**. 2013. 150 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

ORÉFICE, Rodrigo Lambert; PEREIRA, Marivalda de Magalhães; MANSUR, Herman Sander. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. 538 p.

PIRES, Ana Luiza R.; BIERHALZ, Andréa C. K.; MORAES, Ângela M.. Biomaterials: types, applications, and market. **Química Nova**, [s.l.], p.957-971, 2015. GN1 Genesis Network.

QUEIROZ, Francisco S. Dias e Danilo C.; NASCIMENTO, Ronaldo F.; LIMA, Mario Bastos. UM SISTEMA SIMPLES PARA PREPARAÇÃO DE MICROESFERAS DE QUITOSANA. **Química Nova**, [s.l.], v. 31, n. 1, p.160-163, 19 dez. 2007.

RAMOS, Jessica Viviana Hinostroza. **Material híbrido bioinorgânico à base de sílica e quitosana aplicado no desenvolvimento de sensor eletroquímico para determinação de paracetamol na presença de dopamina**. 2013. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

REIS, Emmerson Moisés. **Síntese E Caracterização De Híbridos Porosos À Base De Sílica E Quitosana Obtidos Através Do Processo Sol-Gel Para Aplicação Em Engenharia De Tecidos**. 2007. 183 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L. **Determinação do grau de desacetilação de quitosana obtida de camarão “Saburica”** (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877). *Scientia Plena*, v. 7, n. 9. 2011.

SILVA, Sandra Regina. **AVALIAÇÃO DO USO DE ESFERAS DE QUITOSANA COMO ADSORVENTE DE ETINILESTRADIOL EM SOLUÇÕES AQUOSAS**. 2014. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014

SOUZA, Juliana Bié Ferreira de. **Processamento e caracterização de esferas de quitosana/PVA com incorporação de Cisplatina para potencial aplicação em liberação controlada do fármaco**. 2016. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

WANG, Min. Developing bioactive composite materials for tissue replacement. **Biomaterials**, [s.l.], v. 24, n. 13, p.2133-2151, jun. 2003. Elsevier BV.

WU, Wei et al. Advances in biomaterials for preventing tissue adhesion. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 261, p.318-336, set. 2017. Elsevier BV.

ZALDIVAR, Mayté Paredes. **Materiais Híbridos Ureasil-Polióxido De Etileno/Quitosana Para Aplicação Na Liberação Controlada De Fármacos**. 2015. 144 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

ZHAO, Hong; XU, Jianhong; WANG, Tao. Silica/chitosan core-shell hybrid-microsphere-supported CuI catalyst for terminal alkyne homocoupling reaction. **Applied Catalysis A: General**, [s.l.], v. 502, p.188-194, ago. 2015. Elsevier BV.