

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

ROBERTO DA GAMA E MELLO ALVES BARBOZA

ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS DE FILMES FINOS DE ALGINATO

BELO HORIZONTE

2015

ROBERTO DA GAMA E MELLO ALVES BARBOZA

ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS DE FILMES FINOS DE ALGINATO

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 do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Hermes de Souza Costa

BELO HORIZONTE

2015

RESUMO

O Alginato é um copolímero extraído de algas marrons com grande aplicação na indústria alimentícia devido a suas propriedades gelificantes, espessantes e estabilizantes. Este trabalho apresenta um estudo das características térmicas, de cristalinidade e de resistência mecânica de filmes à base de alginato de sódio preparados em diferentes formulações, onde foram avaliadas a influência dos valores de pH das suspensões e o efeito da adição de solução de cloreto de cálcio como agente geleificante. Recentemente também tem ganhado destaque nas indústrias farmacêutica e biomédica. Quatro amostras de alginato de sódio foram preparadas, duas com alginato de sódio puro e duas submetidas à reação com agente geleificante à base de CaCl_2 , ambas produzidas em dois diferentes pHs. Os filmes obtidos foram testados utilizando ensaio de tração, calorimetria exploratória diferencial e difração de raios-X para avaliar o efeito de diferentes tipos de processamento em suas propriedades finais. Os resultados apontam para a vantagem do alginato reticulado, no que diz respeito à resistência mecânica, além de manutenção nos valores de deformação quando amostras geleificadas são preparadas em pH igual a 5,5. Resultado que aponta para interessante aplicabilidade dessas formulações em ambiente aquoso.

Palavras-chave: Alginato. Reticulação. Processamento.

ABSTRACT

This work presents a study of thermal, crystal and mechanical behavior of sodium alginate films in different formulations to evaluate the influence of different pH levels and the effect of the addition of calcium chlorate as a gelifying agent. Alginate is a copolymer extracted from Brown algae, it has many applications in the food industry due to it's gellying, thickening and estabilizing properties. Recently it has been gaining proeminence in the farmaceutical and biomedical industries. Four sodium alginate samples were prepared, two with pure sodium alginate and the other two submitted to a reaction with the gelifying agent CaCl_2 , produced in two different pHs. The films were tested by tensile test, x-ray diffraction and differential scanning calorimetry to assess the effect of different processing procedures in the alginate properties. The results point to an edge of the reticulated alginate in regards to it's mechanical properties and retention of the deformation values when gelified samples are prepared in 5,5 pH. This results suggest that this formulation would perform well in aqueous environment.

Key Words: Alginate. Reticulation. Processing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura Química dos monômeros G e M	12
Figura 2 Esquema da distribuição dos blocos G, M e MG em uma molécula de alginato	12
Figura 3 Modelo "caixa de ovos" para formação de gel de alginato com íons de cálcio	16
Figura 4 Fluxograma mostrando as etapas do estudo experimental	23
Figura 5 Fluxograma mostrando as etapas da produção dos filmes de alginato	24
Figura 6 Imagem dos gráficos de DRX para as diferentes formulações de Alginato	27
Figura 7 Imagem dos gráficos de DSC para as diferentes formulações de Alginato	29
Figura 8 Imagem dos gráficos Tensão x Deformação para as amostras de Alginato puro no pH 5,5	32
Figura 9 Imagem dos gráficos Tensão x Deformação para as amostras de Alginato + CaCl ₂ 0,5% no pH 5,5	33
Figura 10 Imagem dos gráficos Tensão x Deformação para as amostras de Alginato + CaCl ₂ 0,5% no pH 4,0	34
Figura 11 Imagem dos gráficos Tensão x Deformação para as amostras de Alginato mais representativas	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Filmes obtidos a partir das soluções ALG em diferentes pHs, com ou sem adição de CaCl ₂	25
Tabela 2 Dimensões dos filmes de Alginato submetidos a ensaio de tração	31
Tabela 3 Parâmetros Mecânicos para as amostras de Alginato	36

SUMÁRIO

1 Introdução	9
2 Objetivos	10
2.1 Objetivos Específicos	10
3 Revisão Bibliográfica	11
3.1 Alginato	11
3.1.1 Histórico	11
3.1.2 Estrutura Química	11
3.1.3 Propriedades Físicas	13
3.1.3.1 Viscosidade	13
3.1.3.2 Solubilidade	14
3.1.3.3 Interação Seletiva com íons	15
3.1.3.4 Degradação e Estabilidade	16
3.1.4 Aplicações	17
3.1.5 Extração a partir de algas marrons	18
3.1.6 Biosíntese microbiana	18
3.1.7 Filmes de alginato	18
3.2 Caracterização	19
3.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	19
3.2.2 Difração de raios-X	19
3.2.3 Análise de Resistência mecânica – Ensaio de tração	20
4 Metodologia Experimental	23
4.1 Materiais Utilizados	23

4.2 Preparo de filmse de Alginato.....	24
4.2.1 Preparo da solução de Alginato de sódio na concentração de 1% (p/v)	24
4.2.2 Preparo das soluções de Cloreto de cálcio	25
4.2.3 Obtenção dos filmes de ALG.1% (p/v) associando cloreto de cálcio	25
4.3 Caracterização dos filmes obtidos associando ALG/ CaCl ₂ e ALG puro nos diversos pHs	26
4.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	26
4.3.2 Ensaio de Difração de Raios-X	26
4.3.3 Caracterização das propriedades mecânicas dos filmes por Ensaio de Tração	26
5 Resultados e Discussão.....	27
5.1 Difração de Raios-X	27
5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial	39
5.3 Ensaio de Tração	30
6 Conclusão	38
7 Referências Bibliográficas	39

1 – Introdução

O alginato foi estudado pela primeira no início do século XX, suas propriedades gelificantes, espessantes e estabilizantes fizeram com que fosse extensamente utilizado nas indústrias alimentícia, têxtil e cosmética. O alginato é um copolímero de resíduos de ácido β -D-manurônico e do ácido α -L-gulurônico em diferentes estruturas e sequências, e consequentemente propriedades, a depender da fonte de sua extração. Mais recentemente também passou a receber atenção da área farmacêutica e biomédica devido a sua biocompatibilidade, onde se mostrou uma alternativa na cicatrização de lesões, liberação de fármacos e engenharia de tecidos. O alginato é um material de grande interesse em pesquisas pois apresenta grande potencial a ser explorado, novas fontes de obtenção, especialmente no que diz respeito a extração a partir de bactérias, levam a diferentes composições de alginato e consequentemente a diferentes propriedades. Este estudo aborda o processamento de filmes visando não só compreender melhor as características do alginato, mas também criar base de conhecimento que permita a obtenção no futuro de hidrogéis de alginato, com estrutura modulada em vários níveis de complexidade, com um número maior de possibilidade de aplicação.

2 – Objetivo

Este trabalho se propôs a preparar e caracterizar filmes de alginato com e sem a adição de cloreto de cálcio como agente gelificante e correlacionar a forma de processamento com suas propriedades finais.

2.1 – Objetivos Específicos

- Preparar filmes de alginato com suspensões de valor de pH igual a 4,0 e 5,5.
- Preparar filmes de alginato com e sem adição de CaCl_2 como geleificante
- Caracterizar quanto à cristalinidade por meio da técnica de DRX
- Avaliar o comportamento dos filmes em função da temperatura utilizando a técnica de DSC
- Realizar ensaios de resistência mecânica à tração

3 - Revisão bibliográfica

3.1 - Alginato

3.1.1 – Histórico

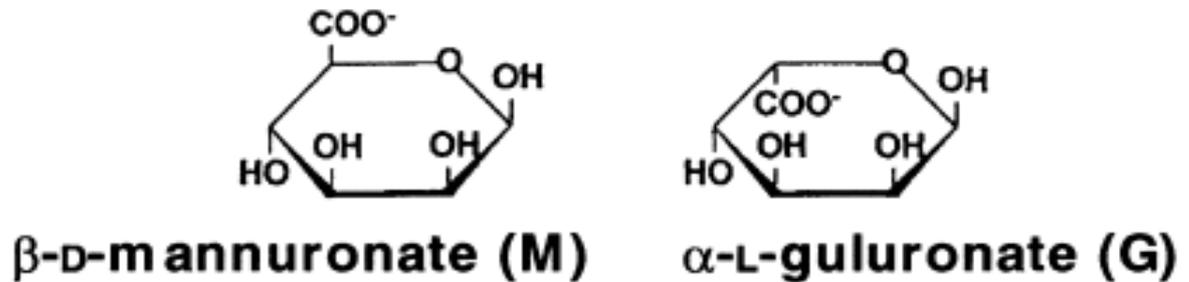
Alginato é um polissacarídeo encontrado em algas marinhas marrons, compreendendo aproximadamente 40% da massa seca das mesmas. Os alginatos foram isolados de algas pela primeira vez em 1881 pelo químico britânico E.C. Stanford e começaram a ser produzidos comercialmente no início do século XX (HAY *et al*, 2013; DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005). Nas algas o alginato ocorre principalmente nas paredes celulares e nos espaços intercelulares, sua principal função é conferir força e flexibilidade à planta (MØRCH, 2008). Embora atualmente todo o alginato comercializado seja extraído a partir de algas, novas pesquisas apontam para a possibilidade de produzi-lo através de bactérias do gênero *Azotobacter vinelandii* e *pseudomonas* (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011).

Anualmente são produzidas aproximadamente 30.000 toneladas do material. Suas fontes podem ser consideradas ilimitadas apesar do crescimento previsto na demanda para os próximos anos, uma vez que são extraídas de algas cultivadas especificamente para esse fim. Espera-se que no futuro próximo o aumento no consumo de alginato ocorra de maneira qualitativa, ou seja, buscando alginatos com estruturas e propriedades cada vez mais bem definidas e controladas (DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005).

3.1.2 - Estrutura Química

Alginato é um termo coletivo, para designar uma família de polímeros com vasta gama de composições químicas, estrutura e massa molecular e que, portanto, apresentam propriedades funcionais distintas, se apresentando com copolímeros em bloco (MULDER, 2002). O alginato apresenta diferentes estruturas a depender da fonte de sua extração (PINDAR; BUCKE, 1975). A estrutura dos alginatos consiste da copolimerização de resíduos de ácido β -D-manurônico (M) unidos por ligações (1 \rightarrow 4) e resíduos do ácido α -L-gulurônico (G) em diferentes composições e sequências, a estrutura química de ambos está representada na figura 1, sendo que a quantidade de cada monômero assim como seu arranjo ao longo do polímero varia de acordo com a origem do alginato (DRAGET, 2000).

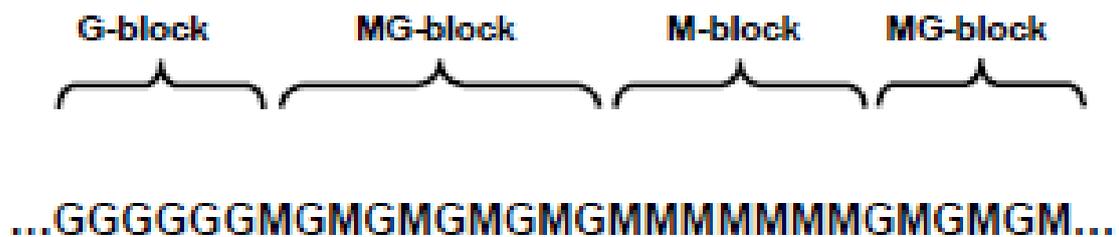
Figura 1 – Estrutura química dos monômeros G e M



Fonte: DRAGET *et al*, 2005

Os dois monômeros são distribuídos ao longo da cadeia polimérica em blocos, de modo que é possível separar o alginato em três frações, os blocos homopoliméricos de G e de M (denominados bloco-G e bloco-M) que são separados por um terceiro bloco que consiste em proporções iguais dos dois monômeros (chamado de bloco-MG) como pode-se observar na figura 2 a seguir (MØRCH, 2008; DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005).

Figura 2 - Esquema da distribuição dos blocos M, G e MG em uma molécula de alginato



Fonte: MØRCH, 2008

Estudos realizados mostraram que o alginato não possui unidade repetitiva regular e que a distribuição dos monômeros ao longo da cadeia é aleatória (DRAGET *et al*, 2005). Nos blocos M ligações diequatoriais conectam os resíduos de ácido manurônico formando estrutura plana em forma de fita, enquanto que em blocos G a ligação entre dois monômeros gulurônicos é diaxial e portanto mais curtas. Essa característica faz com que os blocos G

sejam mais compactos e menos flexíveis, as junções entre os resíduos são estabilizadas por ligações de hidrogênio intra-moleculares. Os blocos MG contém tanto ligações equatorial-axial quanto axial-equatorial, porém os diferentes graus de liberdade do dois monômeros conferem ao bloco maior flexibilidade que a observada em blocos M. Portanto, a rigidez dos blocos poliméricos aumenta na ordem $MG < MM < GG$ (MØRCH, 2008).

Ao longo dos anos diversos pesquisadores se propuseram a estudar os efeitos do alginato em sistemas biológicos e sua eficiência em aplicações biomédicas, ficou provado que seu desempenho difere drasticamente a depender das características do alginato no que diz respeito a composição e estrutura da cadeia. Alterações na composição ou na sequência dos blocos de monômeros podem causar diferenças no desempenho do alginato para determinado uso. Alginatos extraídos de algas marrons podem conter de 20 a 80% de monômeros G a depender da espécie, sazonalidade e crescimento da planta, portanto as propriedades apresentadas têm grande variação. Alginatos extraídos da cepa de bactérias *Azotobacter* tem composição similar aos de algas marrons, de 10 a 95 % de G, enquanto as do gênero *Pseudomonas* tem uma característica singular, a ausência de blocos GG na cadeia polimérica. A grande diferença entre alginatos de origem bacteriana em relação aos extraídos de algas é a presença de grupos O-acetil que, em géis, influenciam a capacidade de absorver e se ligar à água (MØRCH, 2008; LEROUX *et al*, 1999; DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005).

Os alginatos, como os polissacarídeos em geral, são polidispersos no que diz respeito a massa molecular e por isso seu peso molecular é a média da distribuição dos pesos moleculares. Uma dada aplicação pode se mostrar sensível à massa molecular do alginato e portanto a presença de uma grande variedade de frações de alginato pode ser um problema. Para esses casos o cálculo da polidispersão é importante e preferencialmente será usado alginato que apresente a distribuição mais estreita de massa molecular (MØRCH, 2008).

3.1.3 - Propriedades Físicas

3.1.3.1 – Viscosidade

A viscosidade da solução de alginato depende da massa molecular e da concentração do polímero, porém como a viscosidade intrínseca de cada bloco de monômeros varia, a

composição do alginato também irá influenciar a viscosidade. Como o alginato é um polieletrólito, ou seja, um polímero com grupos ionizáveis ao longo da cadeia, altamente carregado negativamente, a repulsão eletrostática entre esses grupos irá afetar a viscosidade uma vez que força a molécula de alginato a assumir uma conformação similar a de bobina estendida. Consequentemente a força iônica da solução tem influencia significativa nesse aspecto, a viscosidade intrínseca do alginato é linearmente dependente da força iônica da solução. Alto peso molecular é interessante para diversas aplicações dos alginatos, em contrapartida um alto peso molecular é limitado uma vez que sua alta viscosidade dificulta a filtração e o manuseio do alginato (MØRCH, 2008). O alginato também tem sua viscosidade afetada pela presença de sais, ele se comporta como um típico polieletrólito, ou seja, sua viscosidade cai de maneira significativa na presença de sais, ainda que a concentração destes seja pequena (HAUG; SMIDSRØD, 1962).

3.1.3.2 – Solubilidade

Existem três parâmetros essenciais que definem e limitam a solubilidade do alginato em água, o pH do solvente, pois ele determina a presença de cargas eletrostáticas nos resíduos G e M, a força iônica do soluto pois pode causar efeito de *salting-out*, que ocorre quando substancias solúveis são excluídas da fase aquosa pela adição de sais, e finalmente a presença de íons divalentes no solvente, que limita a solubilidade e favorece a formação do gel (DRAGET, 2000; SMIDSRØD; HAUG, 1965). O alginato de forma geral é insolúvel em água e acaba formando géis ou precipitados (MØRCH, 2008).

O pK_a dos resíduos gulurônico e manurônico foi determinado experimentalmente, sendo 3,38 para M e 3,65 para G (HAUG, 1964). O valor de pK_a do alginato polimérico difere apenas minimamente do encontrado para os resíduos que o constituem, apresentando valor intermediário, consequentemente o pK_a aumenta quanto maior a quantidade de monômeros G (MØRCH, 2008). Para valores de pH abaixo do pK_a do alginato ocorre a precipitação das moléculas de ácido algínico, em contrapartida, a liberação lenta e controlada de prótons leva à gelificação dessas moléculas (DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005).

Sabe-se que a adição de ácido a uma solução de alginato tem como efeito a sua precipitação em faixa estreita de pH. Essa faixa depende do peso molecular, composição química e sequenciamento de cada alginato. Moléculas que contenham maior quantidade de blocos MG,

por exemplo, precipitam em valores de pH menores que alginatos que possuam maior quantidade de blocos homogêneos G e M. A razão para isso é estrutural, os blocos G e M tendem a formar regiões cristalinas, que precipitam com mais facilidade, enquanto as sequencias alternadas apresentam irregularidades nas ligações axial/equatorial, o que acarreta no aumento da desorganização da cadeia polimérica, tornando mais difícil a formação dessas regiões cristalinas (DRAGET, 2000; MØRCH, 2008).

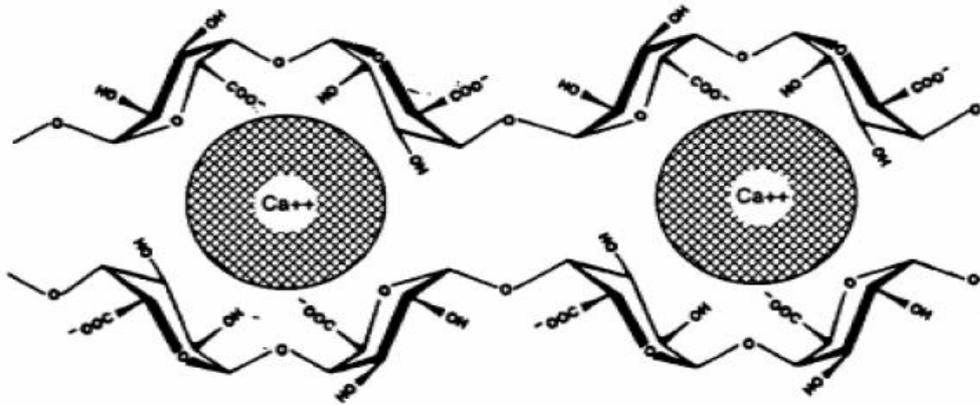
Em geral mudanças na força iônica da solução de alginato tem efeito profundo na solubilidade e no comportamento da molécula. O alginato pode ser precipitado e fracionado quando a concentração de sais inorgânicos é elevada, esse efeito é conhecido como *salting-out*. No caso do alginato mesmo baixas concentrações de sais já são suficientes para diminuir a cinética de dissolução e limitar a solubilidade. Para que o alginato possa ser usado em alta concentração de sais deve ser primeiramente hidratado em água pura e então o sal deve ser adicionado à solução em agitação (DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005).

3.1.3.3 - Interação seletiva com íons

A capacidade do alginato de formar géis na presença de certos cátions é sua mais marcante característica e o principal argumento para seu uso em diversas aplicações. Tal característica depende em grande parte da proporção M/G e da quantidade de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, formando um gel químico (MULLER *et al*, 2011). Para que o gel seja formado é necessária a interação do alginato com íons divalentes. Sabe-se que a afinidade do alginato com metais alcalinos aumenta na ordem $Mg^{2+} \ll Ca^{2+} < Sr^{2+} < Ba^{2+}$ (HAUG; SMIDSRØD, 1970). Essa interação só é possível pela presença de resíduos gulurônicos, que possuem alta afinidade com esses íons quando agrupados (blocos G), enquanto que agrupamentos M e MG não mostraram quase nenhuma afinidade por metais alcalinos. Portanto a interação ocorre apenas entre os blocos G e os íons divalentes, formando a estrutura denominada de modelo “caixa de ovos” que pode ser observada na figura 3. (MULLER *et al*, 2011; SANTOS, 2011; SMIDSRØD *et al*, 1970).

Embora outros modelos de arranjo tenham sido propostos com base em difração de raio-X e espectroscopia NMR, o modelo de “caixa de ovos” ainda segue como referência, uma vez que propicia o entendimento fácil da capacidade de moléculas de alginato se ligarem a íons e deixa clara a importância dos blocos G na gelificação do alginato (DRAGET, 2000).

Figura 3 - modelo "caixa de ovos" para formação de gel de alginato com íons de cálcio



Fonte: LORENZ, 2009

3.1.3.4 - Degradação e estabilidade

A degradação de alginatos em solução é mínima para valores de pH próximos da neutralidade e aumenta à medida que se desloca tanto para valores ácidos quanto para alcalinos, devido a susceptibilidade de quebra das ligações glicosídicas em sua cadeia a partir de radicais livres. Para pH abaixo de 5,0 a degradação ocorre por hidrólise catalisada por próton, o mecanismo para valores de pH alcalinos é a eliminação β -alcoxi (DRAGET, 2000).

No caso específico de alginatos extraídos a partir de algas, mesmo para valores de pH próximos do neutro pode ocorrer degradação uma vez que as algas marrons possuem significativa quantidade de compostos fenólicos que acabam sendo extraídos junto com o alginato. Esses compostos atuam como contaminantes e promovem a degradação na cadeia polimérica. Para evitar tal efeito, é introduzido formaldeído na alga, que faz ligação cruzada com os grupos fenol tornando-os insolúveis (DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005; MØRCH, 2008).

As cadeias de alginato também são sensíveis a esterilização, podendo sofrer despolimerização em processos como aquecimento em autoclave, tratamento com óxido de etileno e exposição a radiação γ . A despolimerização causa queda na viscosidade e enfraquecimento da força de gel (DRAGET, 2000).

Os hidrogéis de alginato de sódio podem ser utilizados em diversas aplicações biomédicas e se degradam lentamente em condições fisiológicas devido à gradual substituição do cálcio, que faz ligação cruzada com o ácido gulurônico, por íons monovalentes. Além disso, não ocorrem quebras na cadeia polimérica devido à interação com o organismo (KONG *et al*, 2004).

3.1.4 – Aplicações

A indústria de alimentos é a maior consumidora de alginato na atualidade, seu uso pode ser destacado também nas indústrias de papel, têxtil, cosmética e farmacêutica devido as suas propriedades gelificantes, espessantes, estabilizantes e por sua habilidade de reter água (MØRCH, 2008).

Suas aplicações também incluem a área biomédica, em especial na cicatrização de feridas, liberação de fármacos, moldes para impressão dental e prevenção de refluxo gástrico, que já são bem conhecidos e explorados (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011). Entre seus usos mais inovadores na área biomédica pode-se destacar as nanopartículas inaláveis de alginato, usadas no carreamento de medicamentos para tratamento de doenças respiratórias, os hidrogéis de alginato utilizados como *scaffold* na engenharia de tecidos, devido a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (SUN; TAN, 2013), compósitos de colágeno com albumina encapsulada por esferas de alginato para implantes de córnea capazes de promover crescimento celular, (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011) e o uso de géis de alginato para transplante de células de modo que o gel atue como barreira entre o transplante e o sistema imune (DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005), imobilização de células produtoras de insulina para reversão de diabetes tipo I e elaboração de capsulas de alginato contendo ilhotas de Langerhans que podem atuar como pâncreas artificial (SANTOS, 2011).

O alginato utilizado nas indústrias alimentícia e cosmética, extraído de algas marrons, é vendido a preços baixos, cerca de 5 dólares o quilo, porém o alginato de grau farmacêutico para aplicações biomédicas possui peso molecular, estrutura química e conseqüentemente propriedades mais bem definidas, o que faz com que seu custo seja bem mais elevado, cerca de 100 dólares a grama (HAY *et al*, 2013).

3.1.5 - Extração a partir de algas marrons

O primeiro passo na produção de alginato consiste em uma troca iônica a partir da extração de tecidos da alga utilizando ácido mineral, em seguida o ácido algínico é neutralizado e solubilizado utilizando composto alcalino, em geral carbonato de sódio ou hidróxido de sódio formando o sódio-alginato solúvel em água. Após diversos processos de separação como floculação, centrifugação e filtração, para remover partículas de alga remanescentes, o sódio-alginato é precipitado utilizando álcool, cloreto de cálcio ou ácido mineral e por fim secado (DRAGET, 2000).

3.1.6 - Biosíntese microbiana

Há dois gêneros de bactérias capazes de produzir alginato, *Azobacter vinelandii* e *pseudomonas aeruginosa*, apesar desses dois gêneros utilizarem mecanismos moleculares similares na secreção de alginato, ele cumpre papéis distintos em cada uma e, portanto, apresenta propriedades diferentes. A *P.aeruginosa* secreta grandes quantidades de alginato que forma um biofilme espesso e altamente estruturado, enquanto o gênero *A.vinelandii* produz um alginato mais rígido, que apresenta concentração maior de monômero G (HAY *et al*, 2013).

3.1.7 - Filmes de alginato

Embora diversos biopolímeros possam ser usados na formação de filmes as características intrínsecas do alginato dão a ele algumas vantagens. Filmes constituídos de alginato em combinação com um plastificante apresentam em geral ótimos parâmetros de resistência mecânica e flexibilidade, além de poderem atuar como forte barreira contra oxigênio. Esses filmes também oferecem excelente transparência e podem ser solúveis ou insolúveis, os primeiros são produzidos utilizando sódio-alginato em um processo de evaporação de solvente, em que o alginato dissolvido em solvente é espalhado sobre uma superfície plana e então seco, a evaporação do solvente propicia a formação do filme. Por sua vez os insolúveis são filmes de alginato gelificados, produzidos ao se aplicar uma camada de solução de alginato que em seguida faz ligações cruzadas com sal de cálcio e é então seco (DENOBILI *et al*, 2013; DRAGET; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÆK, 2005; HERMES; NARAYANI, 2002).

3.2 - Caracterização

3.2.1 – Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria Diferencial Exploratória é uma técnica de análise térmica na qual se mede a mudança na diferença do fluxo de calor entre a amostra que se deseja avaliar e um material de referência enquanto ambos são submetidos a uma variação de temperatura controlada. Como muitas reações químicas e transições físicas estão associadas com a liberação ou absorção de calor, a calorimetria pode ser considerada um método universal para investigar esse tipo de processo (HÖ HNE; HEMMINGER; FLAMMERSHEIM, 2003; PEREIRA, 2013).

A técnica de DSC pode ser dividida em dois tipos básicos: aquele que mede fluxo de calor e o DSC de compensação de potência, ambos partilham algumas características como a análise da amostra utilizando uma amostra padrão para comparação e também o fato de que o sinal medido pelo calorímetro é proporcional à taxa de fluxo de calor e não ao calor, como é o caso na maioria dos calorímetros. Isso permite observar a dependência do tempo para uma determinada transição (HÖ HNE; HEMMINGER; FLAMMERSHEIM, 2003)

O DSC por compensação de potência apresenta um arranjo no qual a amostra e a referência se encontram separadas, porém são mantidas na mesma temperatura através de aquecedores elétricos individuais. A potência dissipada pelos aquecedores é relacionada com a energia envolvida com o processo endotérmico ou exotérmico (PEREIRA, 2013).

O DSC por fluxo de calor por sua vez tem arranjo mais simples, a amostra e a referência são mantidas sobre um disco de metal, sendo que a troca de calor entre o forno e a amostra se dão preferencialmente pelo disco. Esse método permite que perturbações como variações de temperatura no ambiente afetem a amostra e a referência da mesma forma, sendo portanto eliminadas quando a diferença entre os dois sinais for computada (PEREIRA, 2013).

3.2.2 – Difração de raios X

Grande parte do conhecimento a respeito de arranjos atômicos e moleculares é fruto do estudo através da técnica de difração de raios x. Atualmente a difração de raios-x é a principal técnica de análise de amostras de composição desconhecida devido a sua rapidez e confiabilidade. Por volta de 1912, Max von Laue teorizou a hipótese de realizar difração de raios X, utilizando uma estrutura cristalina como rede de difração tridimensional. Logo

depois William Henry Bragg e seu filho William Lawrence Bragg demonstraram a relação que passou a ser conhecida como lei de Bragg, fundamental para o estudo de estruturas cristalinas com o uso da difração de raios X. A lei de Bragg é utilizada para plotar o gráfico de intensidade. A equação é a seguinte:

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen}\theta \quad (1)$$

Onde n é a ordem de reflexão, λ é o comprimento de onda, d o espaçamento interatômico e θ o ângulo de difração. Se a lei de Bragg não for satisfeita a interferência será não-constructiva, e irá se manifestar no gráfico como um ponto de baixa intensidade (CALLISTER, 1999)

A técnica usual de análise por difração de raios-X utiliza material em pó exposto a radiação X monocromática. O difratômetro é o aparelho usado para medir os ângulos de difração. A mostra é posicionada no centro, a fonte de radiação é estática, posicionada no mesmo plano que a amostra. Um detector é montado sobre uma plataforma móvel que pode ser girada em torno da amostra. O contador se move com velocidade constante e registra em tempo real a intensidade do feixes difratados. O resultado é um gráfico de intensidades que pode ser utilizado para analisar a estrutura cristalina de qualquer material (CALLISTER, 1999; JAMES, 2014).

3.2.3 – Análise de Resistência mecânica – Ensaio de tração.

Ensaio de tração são executados por diversas razões. Seus resultados são utilizados na seleção de materiais em aplicações de engenharia, parâmetros de resistência mecânica são incluídos nas especificações de materiais como forma de comprovar a qualidade. As propriedades mensuradas por este ensaio são em geral medidas durante o desenvolvimento de novos materiais para que diferentes materiais e processos de produção possam ser comparados. Basicamente o que se quer avaliar é a resposta do material quando submetido a uma força (CALLISTER, 1999).

O ensaio de tração consiste na aplicação de carga de tração uniaxial em um corpo de prova devidamente travado até a ruptura. O equipamento utilizado nos testes é a máquina de ensaios universal, que também é capaz de realizar ensaios de compressão e flexão, sua principal função é gerar a curva tensão x deformação, através da qual, diversos parâmetros de resistência mecânica do material poderão ser calculados (CALLISTER, 1999).

A tensão pode ser calculada através da equação

$$\sigma = \frac{F}{A_0} \quad (2)$$

Sendo F a carga aplicada na direção perpendicular à seção transversal do corpo ensaiado, medida em Newtons (N), e A_0 é a área em mm^2 , da seção transversal original antes da aplicação de qualquer carga (CALLISTER, 1999).

Enquanto a deformação é definida através da equação

$$\varepsilon = \frac{l_i - l_0}{l_0} \quad (3)$$

A deformação ε é a razão entre a variação do comprimento da amostra ensaiada e seu comprimento inicial (CALLISTER, 1999).

Quando um material é exposto a uma força de tração pequena as ligações entre os átomos são esticadas, quando a força é removida o material retorna a seu formato original. Essa deformação reversível é chamada de deformação elástica. Na fase elástica os materiais obedecem a Lei de Hooke, portanto a deformação registrada é diretamente proporcional às tensões aplicadas.

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad (4)$$

A constante E é o módulo de elasticidade, ou módulo de Young.

A partir de uma determinada deformação, a curva tensão x deformação deixa de ser linear, e a deformação não é totalmente recuperada quando cessa o carregamento, resultando em deformações permanentes. O ponto no qual essa mudança no comportamento do material começa a ser perceptível é definido como limite de escoamento (CALLISTER, 1999).

Para certos materiais a curva tensão deformação apresenta um momento em que a tensão se torna máxima, seguida de uma queda, sendo que a deformação continua aumentando. Toda tensão até este ponto de máximo, denominado limite de resistência a tração, é uniformemente distribuída através da seção transversal da amostra ensaiada, porém neste ponto uma pequena constrição começa a se formar e passa a concentrar toda a tensão, fenômeno conhecido como empescoamento. Finalmente, continuando-se a tração, chega-se a ruptura do material, que irá ocorrer no pescoço formado, no chamado limite de ruptura (CALLISTER, 1999)

O ensaio de tração também oferece a possibilidade de se obter uma medida relativa a ductilidade do material. Materiais que sofrem pouca ou nenhuma deformação plástica antes da ruptura apresentam comportamento classificado como frágil, enquanto materiais que apresentam grande deformação plástica antes da ruptura são classificados como dúcteis. O alongamento percentual, pelo qual se avalia a ductilidade, é a porcentagem da deformação plástica no momento da fratura e pode ser calculado pela fórmula

$$AL\% = \left(\frac{l_f - l_0}{l_0} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde l_f é o comprimento no momento da fratura e l_0 é o comprimento inicial (CALLISTER, 1999).

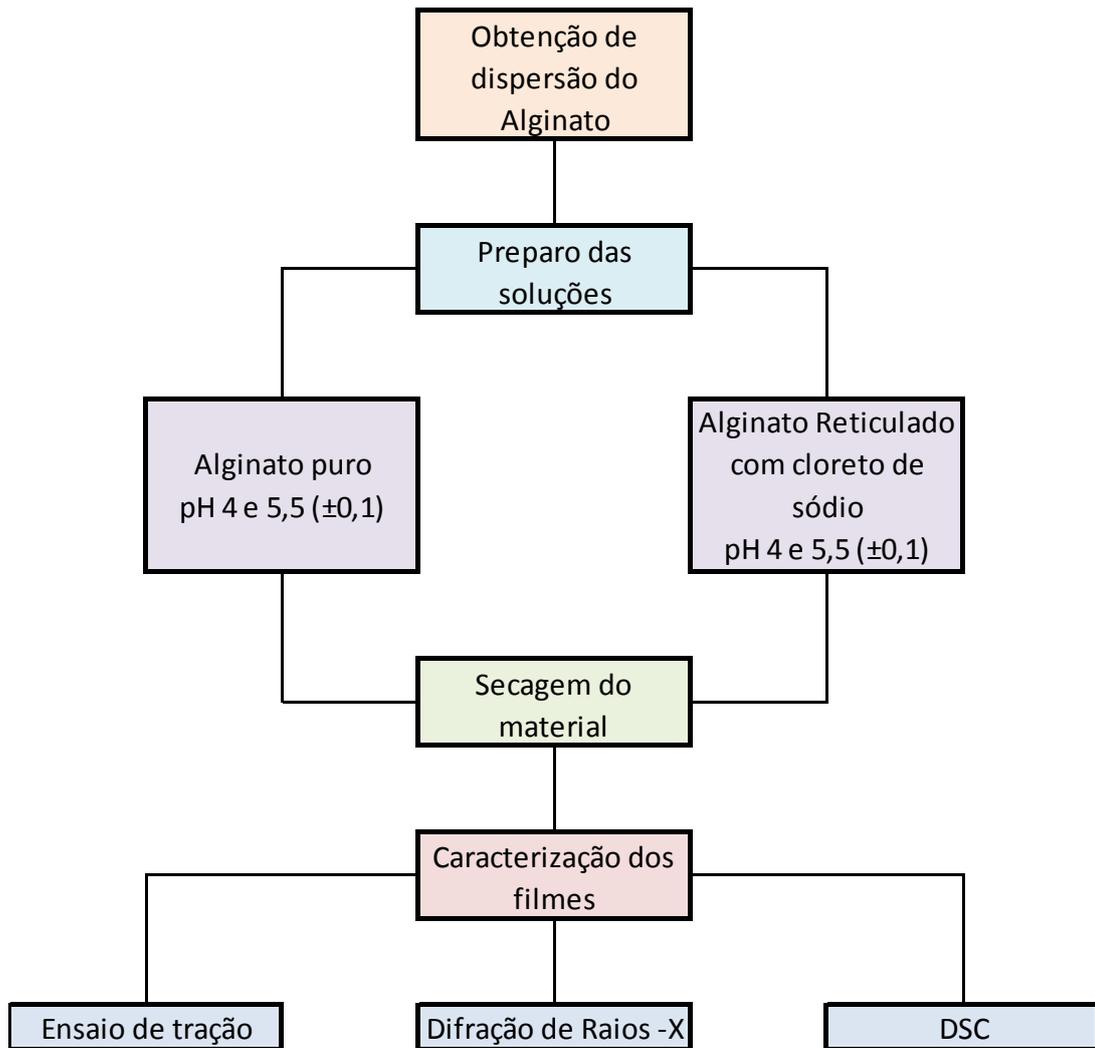
Entre outras propriedades que podem ser calculadas a partir do ensaio de tração é possível destacar a resiliência, que mede a capacidade do material absorver energia quando deformado elasticamente e libera-la quando descarregado, e a tenacidade, capacidade do material de absorver energia na região plástica. O módulo de resiliência pode ser calculado pela fórmula

$$\omega = \frac{1}{2} \frac{\sigma_0^2}{E} \quad (6)$$

Onde σ_0 é a tensão limite de escoamento e E o módulo de elasticidade. Por sua vez a tenacidade é obtida através da área sob o gráfico tensão x deformação, que evidencia a energia absorvida até a fratura (CALLISTER, 1999)

4 – Metodologia Experimental

Figura 4 - Fluxograma das etapas do estudo experimental.



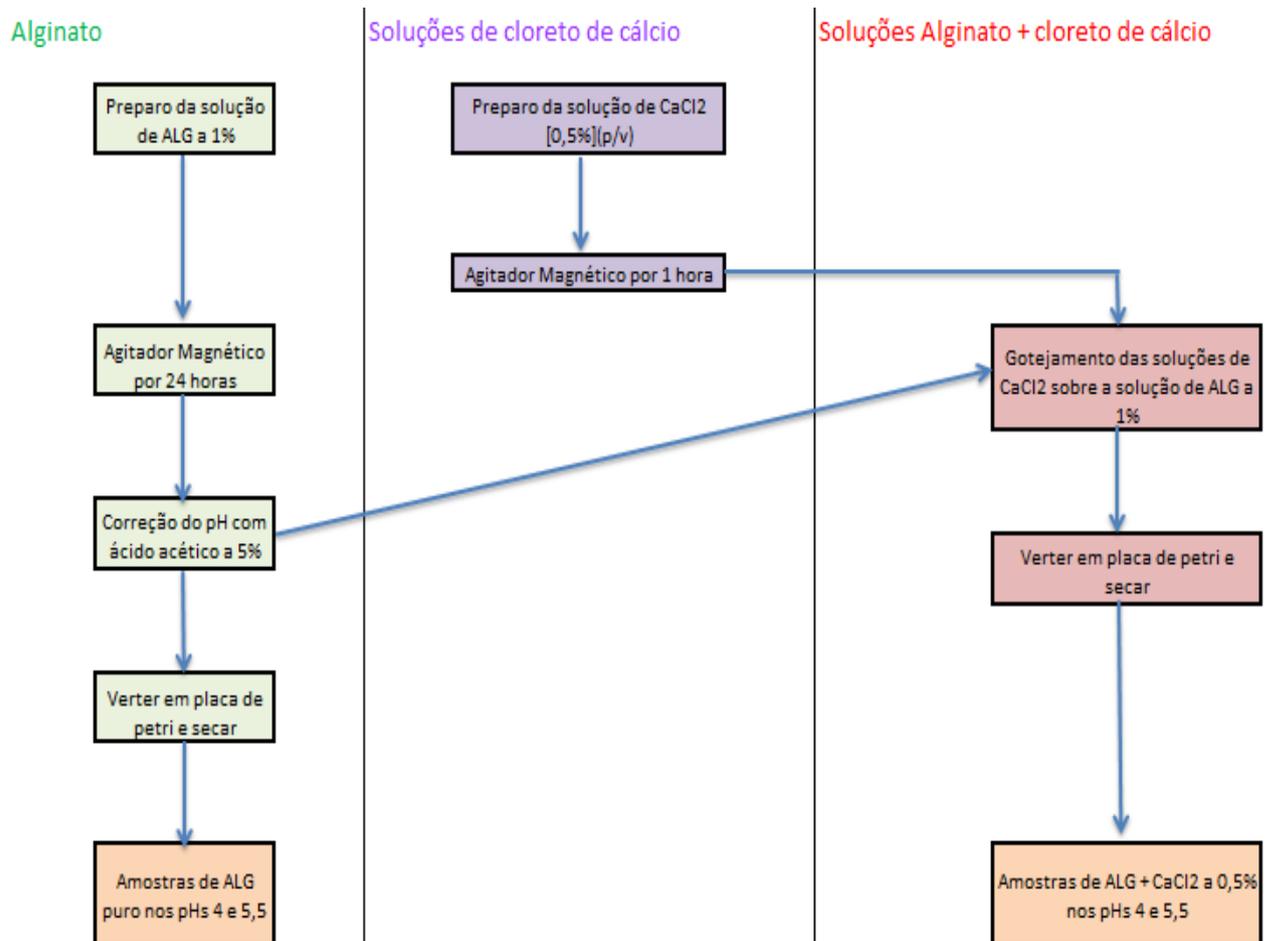
Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

4.1 – Materiais Utilizados

Foram utilizados os reagentes e sais em grau analítico (P.A.) e em todas as suspensões foi utilizada água destilada. Alginato de sódio (ALG) em pó da marca Sigma-Aldrich® (massa molar (MW) = 100.000 g/mol, com aproximadamente 61% de ácido manurônico e 39% de ácido gulurônico, com uma relação M/G de 1,56). Cloreto de cálcio utilizado foi o dihidratado

(CaCl₂ da Vetec, PM 147,01), ácido acético a 5% (CH₃COOH - Cat.#49199, Sigma-Aldrich®).

Figura 5 - Esquema do preparo das amostras de ALG com e sem CaCl₂.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

4.2 - Preparo dos filmes de Alginato

4.2.1- Preparo da solução de Alginato de sódio na concentração de 1% (p/v)

O preparo da solução de Alginato de sódio a 1% foi feito por meio de hidratação do pó (5 gramas de Alginato + 500 mL de água destilada). Em seguida foi realizada a correção para pH igual ($4,0 \pm 0,1$). A solução foi tampada com filme de PVC e mantida sob agitação magnética por 24 horas em 200 rpm em temperatura ambiente.

4.2.2- Preparo das soluções de Cloreto de cálcio

A solução aquosa de Cloreto de cálcio foi obtida na concentração igual a 0,5% (p/v). A solução foi preparada por meio de solubilização do pó de CaCl_2 , sendo (0,3g CaCl_2 + 50 mL de água destilada) resultando em solução a 0,5%(p/v) de CaCl_2 .

4.2.3 Obtenção dos filmes de ALG.1% (p/v) associando CaCl_2

A partir das soluções de alginato a 1% (p/v) foi realizada a correção do pH para valores iguais a $(4,0 \pm 0,1)$ e $(5,5 \pm 0,1)$. Em seguida, parcelas das soluções de alginato receberam a adição de solução de CaCl_2 nos diferentes pHs. A adição foi realizada através de gotejamento, com auxílio de uma bureta graduada.

As misturas obtidas foram vertidas em placas de petri e colocadas em estufa com circulação de ar (marca Cinelab) a $(39 \pm 1^\circ)\text{C}$ por 72 horas. A tabela 1 mostra os 4 tipos de filmes produzidos.

Tabela 1 - Filmes obtidos a partir das soluções ALG em diferentes pHs, com ou sem adição de CaCl_2 .

Síglas dos Filmes	Varição de pH	Adição de cloreto de cálcio
ALG4P	4	PURO
ALG4.1		50% (v/v)
ALG5.5P	5,5	PURO
ALG5,5.1		50% (v/v)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

4.3- Caracterização dos filmes obtidos associando ALG/CaCl₂ e ALG puro nos diversos pHs.

4.3.1- Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises de DSC foram conduzidas em atmosfera de nitrogênio aquecendo a amostra com uma taxa de aquecimento de 10°C/min até que a mesma atinja um temperatura em torno de 180°C e em seguida resfriando com a mesma taxa utilizada para aquecimento. A temperatura inicial e final da amostra foi de 30°C.

4.3.2 – Ensaio de Difração de Raios-X

Os parâmetros de cristalinidade dos filmes foram obtidos por análise de difração de raios-X (DRX) conduzido utilizando os ajustes de operação na faixa de 40kv, 30mA e 2 θ variando de 3,00° a 90,00° com passo igual a 0,06°.

4.3.3- Caracterização das propriedades mecânicas dos filmes por Ensaio de Tração

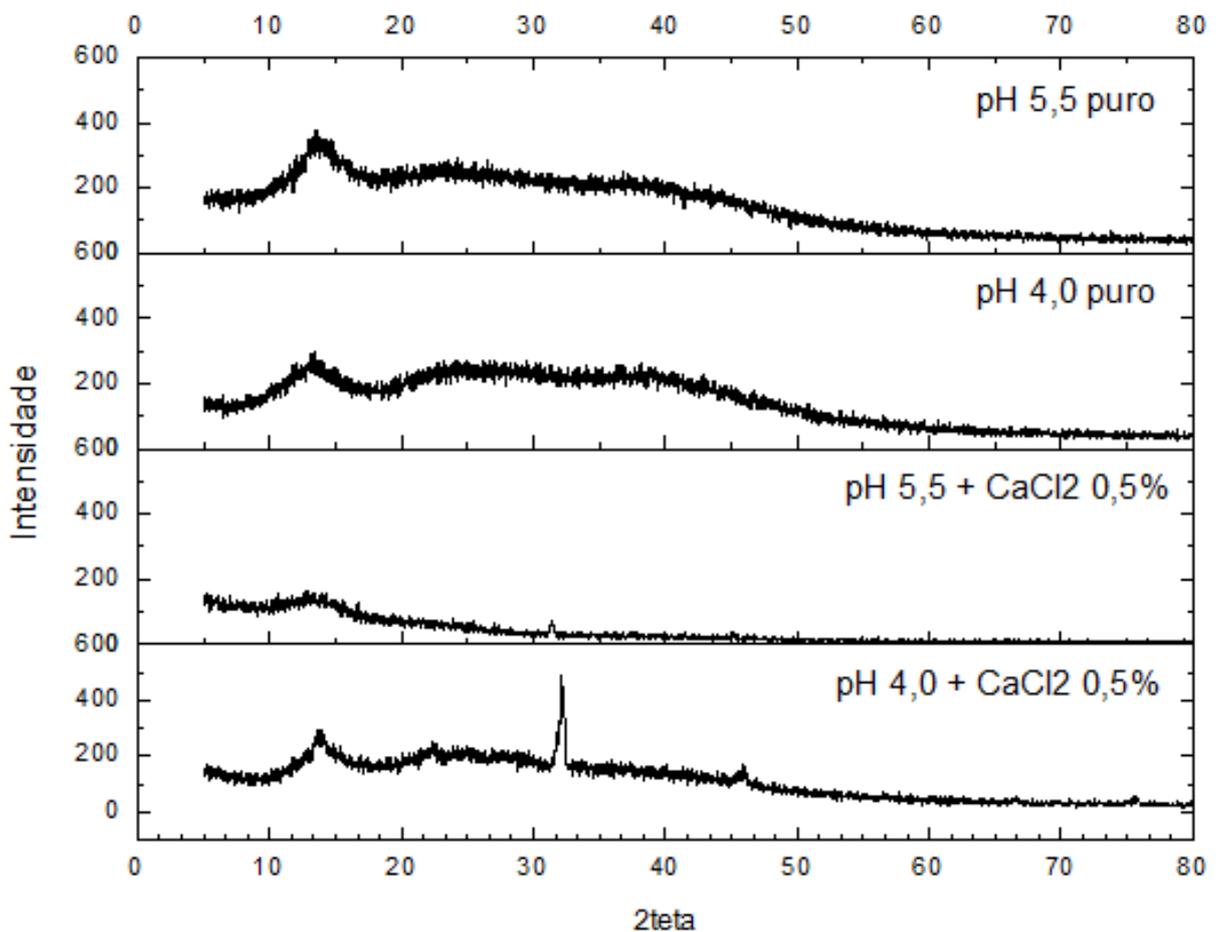
Os diferentes filmes obtidos foram submetidos à avaliação de suas propriedades mecânicas através do ensaio de tração. Previamente à realização do ensaio os filmes foram secos em estufa na temperatura de 50°C, sendo submetidos em seguida a célula de carga, com velocidade de ensaio igual a 5mm.min⁻¹, os corpos de prova na forma de gravata borboleta com razão mínima de 8 entre largura e espessura, foram confeccionado seguindo as especificações da ASTM D882/02. A tensão e a deformação foram calculadas a partir das equações (2) e (3).

5 - Resultados

5.1 - Difração de Raios-X

Foram analisados através da técnica de DRX quatro amostras, Alginato puro preparado nos pHs 4,0 e 5,5 e Alginato + CaCl_2 0,5% (p/p) nos pHs 4,0 e 5,5. Os dados gerados foram plotados com o auxílio do programa OriginLab 8, todas as curvas foram colocadas em um mesmo gráfico, mostrado abaixo, para melhor visualização dos resultados.

Figura 6 – Difratoograma de Raios X Obtidos de Amostras de Alginato de Sódio Preparadas em Diferentes Formulações.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

A figura 6 mostra os difratogramas de raios X de amostras de filmes obtidos a partir de suspensões de alginato de sódio com valores de pH iguais a 4,0 e 5,5 preparados com e sem adição do agente geleificante CaCl_2 .

Para o filme de alginato puro pH 4,0, observaram-se uma faixa de maior intensidade em $12,9^\circ$ que evidencia a parte cristalina e uma faixa abaixo do gráfico, variando de aproximadamente 11° a 50° , onde predomina a forma amorfa do material, com destaque para duas regiões levemente destacadas por volta de $24,36^\circ$ e de $38,8^\circ$. A análise do difratograma para o filme preparados no pH 5,5, evidencia uma faixa de maior intensidade em $14,44^\circ$, mais evidente que aquela mostrada para o pH 4,0 e uma faixa abaixo do gráfico, variando também de aproximadamente 11° a 50° , onde predomina a forma amorfa do material, com destaque para duas regiões levemente destacada por volta de $23,4^\circ$ e de $37,8^\circ$.

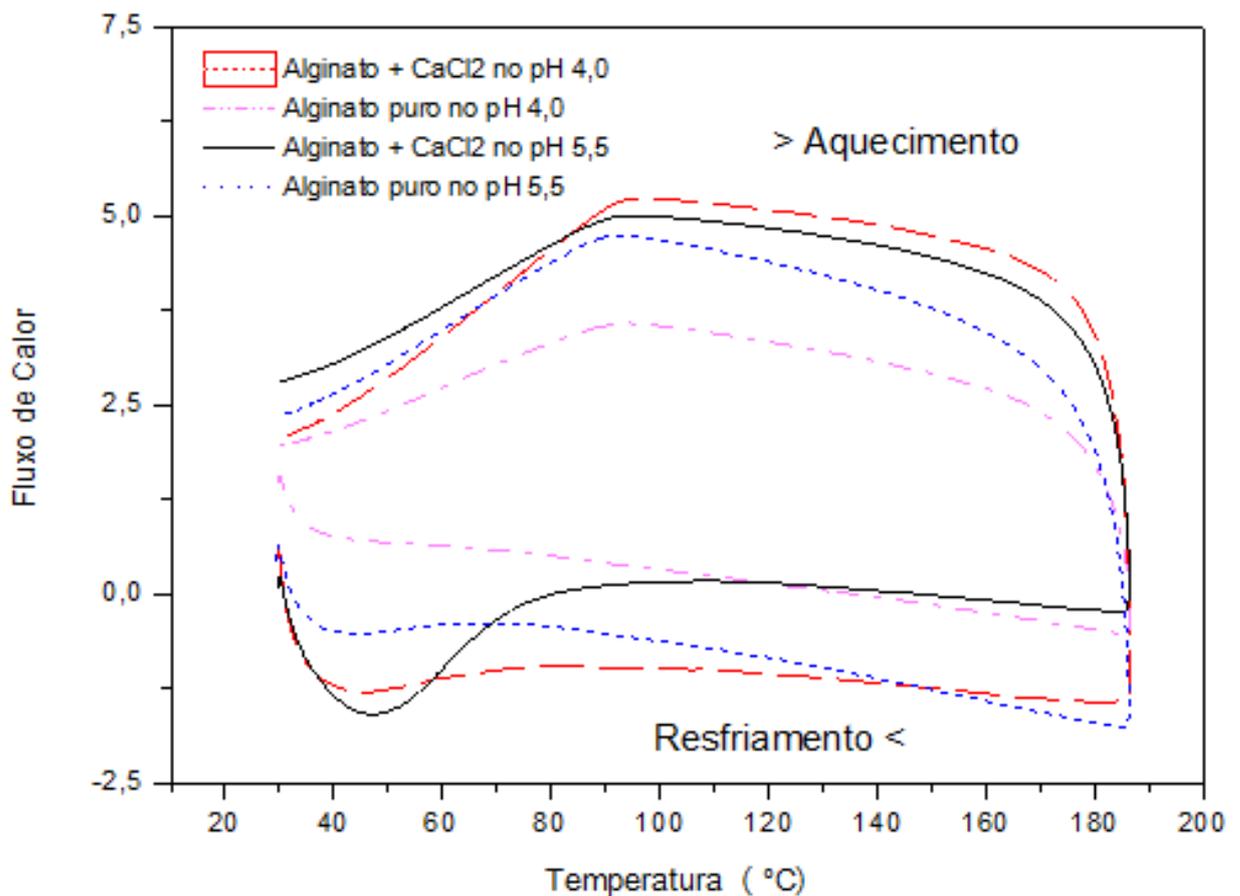
Os difratogramas dos filmes de ALG1% + CaCl_2 0,5%, para valores de pH 4,0 observamos quatro picos, o primeiro pico no ângulo de $14,04^\circ$, um segundo em $32,16^\circ$ além de dos picos de menor intensidade localizados em $22,12^\circ$ e 46° , que evidenciam a região cristalina. A faixa abaixo dos picos, variando de aproximadamente 11° a 70° , predomina a forma amorfa do material. Os picos de maior intensidade para os pH descritos podem estar relacionados a adição do CaCl_2 , onde a reação entre ALG e CaCl_2 deve ter acontecido mais intensamente. Para o filme em pH 5,5, observa-se apenas um pico de baixa intensidade em $14,6^\circ$ e a faixa abaixo do pico, variando entre 30° e 80° , onde predomina a forma amorfa do material.

Os resultados sugerem que os filmes de alginato cristalizam quando o processamento se dá no pH 4,0 enquanto em pH 5,5 eles permanecem amorfos, isso ocorre pois o pH 4,0 garante maior quantidade de prótons presentes na solução, estes reagem com o CaCl_2 , liberando o Ca^{2+} que reticula e trava a estrutura do alginato, favorecendo portanto a cristalização. Esse fato não se repete no que diz respeito às amostras de alginato puro, sem presença de CaCl_2 , as curvas são praticamente idênticas e as amostras claramente se mostram amorfas, uma vez que é a presença de cátions divalentes na solução, neste caso Ca^{2+} , que promove a estrutura chamada de “caixa de ovos” pela interação entre os íons e os blocos gulurônicos, sendo que essa estrutura é a chave para a reticulação e cristalização do alginato. Os resultados obtidos a partir dos difratogramas evidenciam fortemente a grande influência do pH na estrutura dos filmes de alginato de sódio.

5.2 – Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Quatro amostras de Alginato, sendo duas puras, preparadas nos pHs 4,0 e 5,5 e outras duas com adição de CaCl_2 0,5% (p/p) preparadas nos pHs 4,0 e 5,5 foram analisadas pela técnica de DSC, as curvas resultantes foram plotadas em um único gráfico, mostrado abaixo, para permitir uma comparação entre os diferentes comportamentos.

Figura 7 - Comparativo de Resultados de DSC para amostras de Alginato.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

A figura 7 mostra a curva calorimétrica do filme de alginato puro e alginato geleificado com CaCl_2 , utilizando os valores de pH iguais a 4,0 e 5,5. Comparando as curvas de DSC dos filmes de alginato puro, sem utilização de cloreto de cálcio, as amostras preparadas no pH 4,0 apresentam na curva DSC do alginato de sódio entre 0 e 200°C um pico endotérmico a 100°C aproximadamente. Para os filmes preparados no pH 5,5 foi observado pico endotérmico também a 100°C. Comparando as curvas de DSC dos filmes que receberam a adição de

cloreto de cálcio, as amostras de pH 4,0 apresentam um pico endotérmico a 44,1°C e o filme de pH 5,5 um pico endotérmico a 47,3°C.

Pelos gráficos evidenciamos que, a análise por DSC revela as diferenças nas características dos alginatos. No caso das formulações com CaCl₂ não se percebe grande diferença na parte da curva que representa o aquecimento, porém no resfriamento a amostra de pH 5,5 apresentou um vale mais acentuado em relação ao pH 4,0, o que evidencia uma quantidade maior de CaCl₂ que não reagiu e permaneceu como sal, isso ocorre novamente pois em pH maior há menos prótons disponíveis para reação, conseqüentemente menos Ca²⁺ para reticular o polímero. Importante também perceber que a ausência de sal na formulação das outras duas amostras ensaiadas se manifesta nesse caso pela ausência de um vale na porção da curva referente ao resfriamento. Fica evidente também que a amostra produzida em pH 5,5 sem CaCl₂ é mais estável que a amostra em pH 4,0, uma vez que ela necessita de um maior fluxo de calor para mudança de temperatura, fato que só pode ser explicado por uma maior estabilidade de suas ligações.

5.3 – Ensaio de Tração

Foram ensaiadas quatro amostras de Alginato puro sintetizadas do em pH 5,5; cinco amostras de Alginato com adição de CaCl₂ 0,5% (p/p) preparadas no pH 4,0 e duas amostras de Alginato com adição de CaCl₂ 0,5% (p/p) preparadas no pH 5,5. Na tabela 2 estão as medidas de espessura, largura, comprimento e área da seção transversal de todas as amostras ensaiadas.

Tabela 2 - Dimensões dos filmes de Alginato submetidos a ensaio de tração.

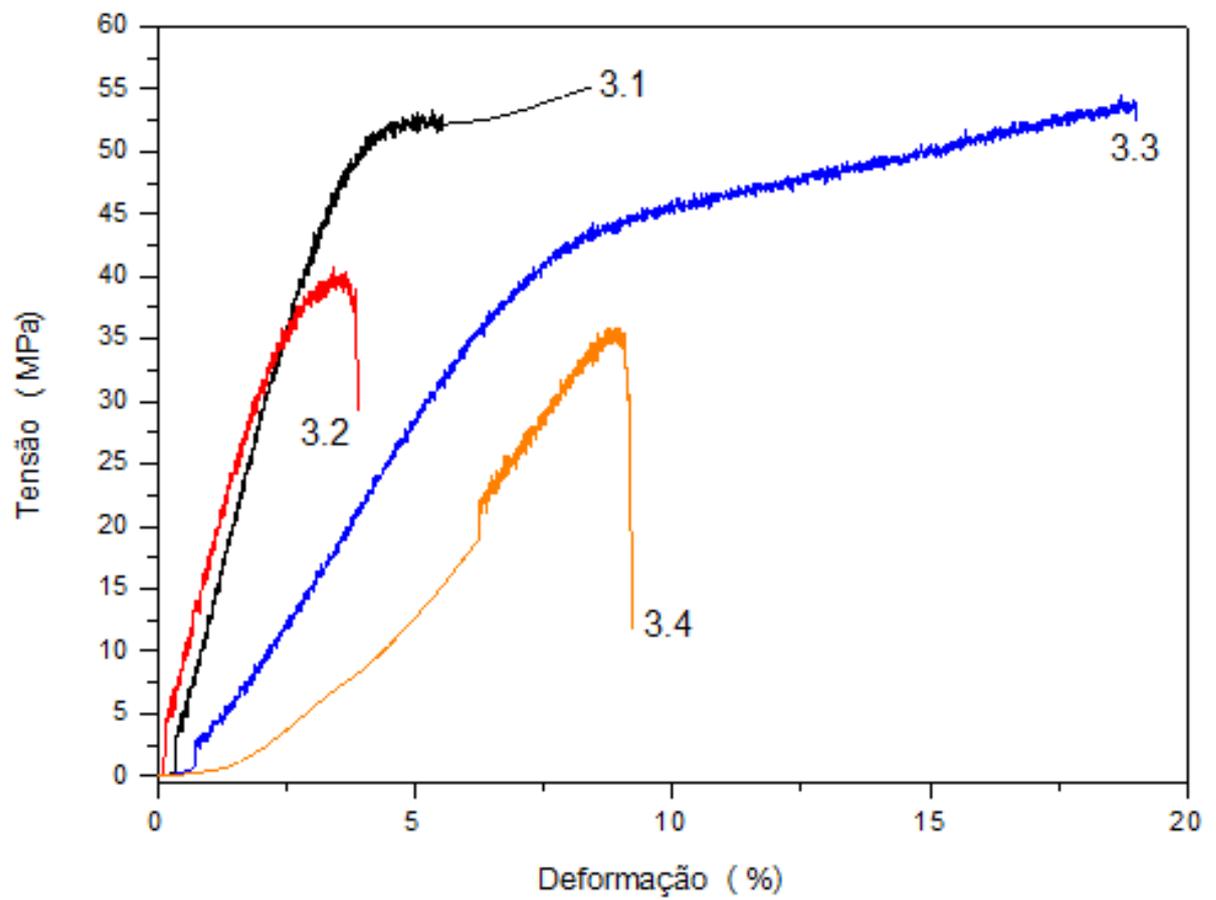
Tipo de Filme	Sigla	Espessura (mm)	Largura (mm)	Comprimento (mm)	Área da seção transversal (mm ²)
Alginato + cloreto de cálcio 0,5% no pH 4,0	1.1	0,088	3,45	10,96	0,3036
	1.2	0,075	3,26	9,80	0,2445
	1.3	0,116	4,20	10,14	0,4872
	1.4	0,054	3,32	11,09	0,1793
	1.5	0,101	3,43	10,79	0,3464
Alginato + cloreto de cálcio 0,5% no pH 5,5	2.1	0,050	4,14	12,16	0,2070
	2.2	0,044	4,01	12,95	0,1764
Alginato puro no pH 5,5	3.1	0,057	3,54	13,45	0,2018
	3.2	0,039	4,78	14,78	0,1864
	3.3	0,066	4,16	10,88	0,2746
	3.4	0,039	4,18	14,56	0,1630

Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

Os dados gerados pela máquina universal de ensaios para cada uma das amostras forneceram valores de força e deslocamento. A partir das equações (2) e (3) esses valores foram utilizados para o cálculo da tensão e da deformação percentual. Por meio do programa Origin Lab 8 foram elaborados os gráficos tensão x deformação.

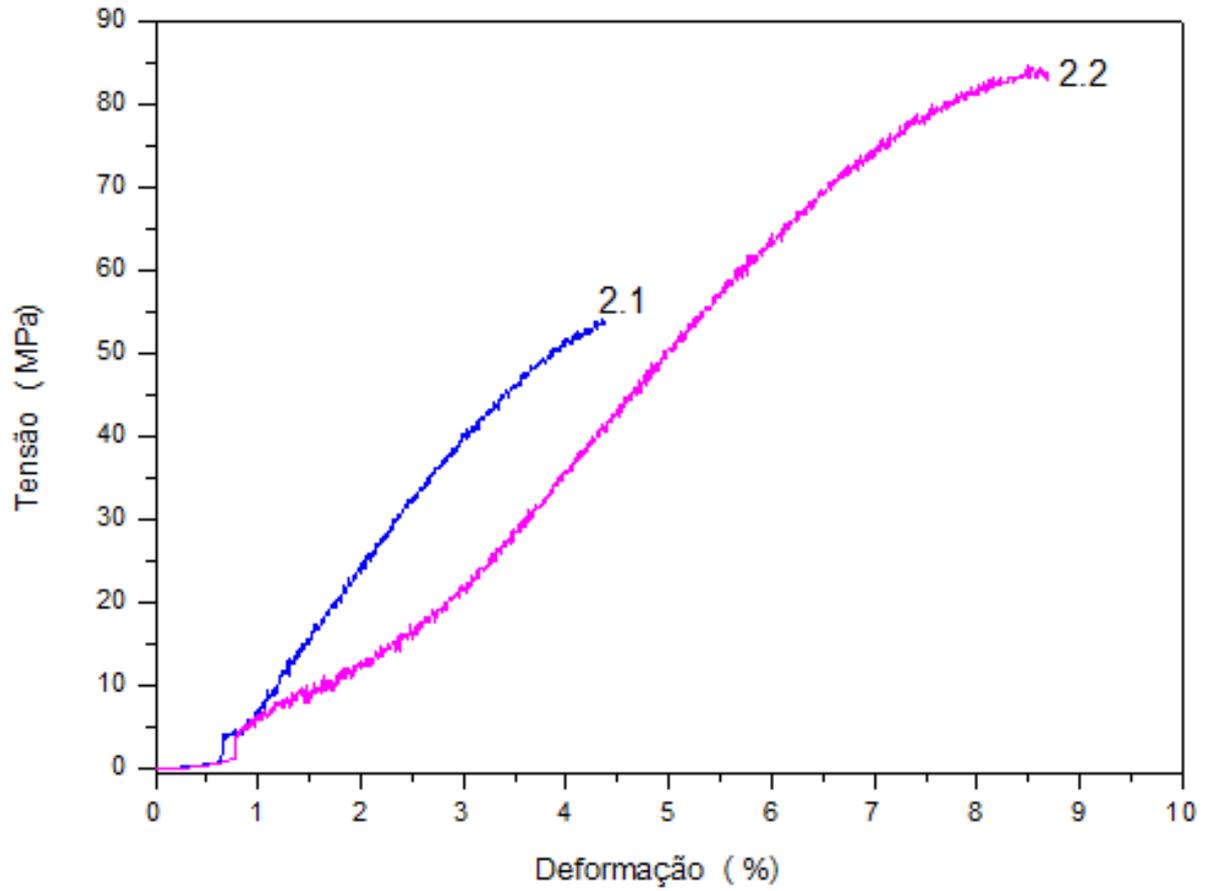
Os gráficos mostrados nas figuras 8, 9 e 10 referem-se, respectivamente, às curvas tensão deformação para amostras preparadas com alginato puro no pH 5,5 e amostras preparadas com alginato nos pH 4 e 5,5; que receberam a adição de cloreto de cálcio. O gráfico da figura 4 mostra as curvas representativas agrupadas das formulações mostradas nas figuras 1, 2 e 3.

Figura 8 - Curvas Tensão x Deformação para as amostras de Alginato puro no pH 5,5.



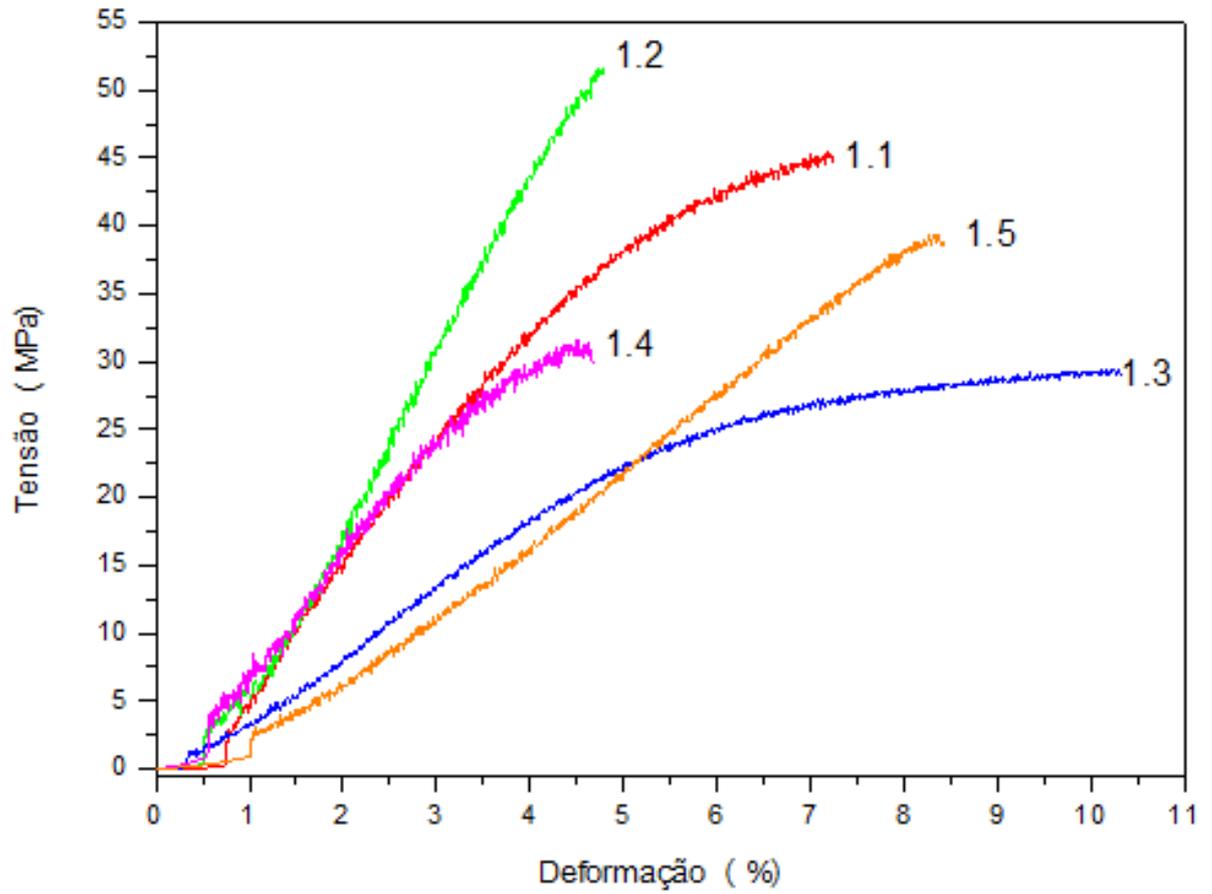
Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

Figura 9 - Curvas Tensão x Deformação para as amostras de Alginato com adição de solução de cloreto de cálcio 0,5% (p/p) no pH 5,5.



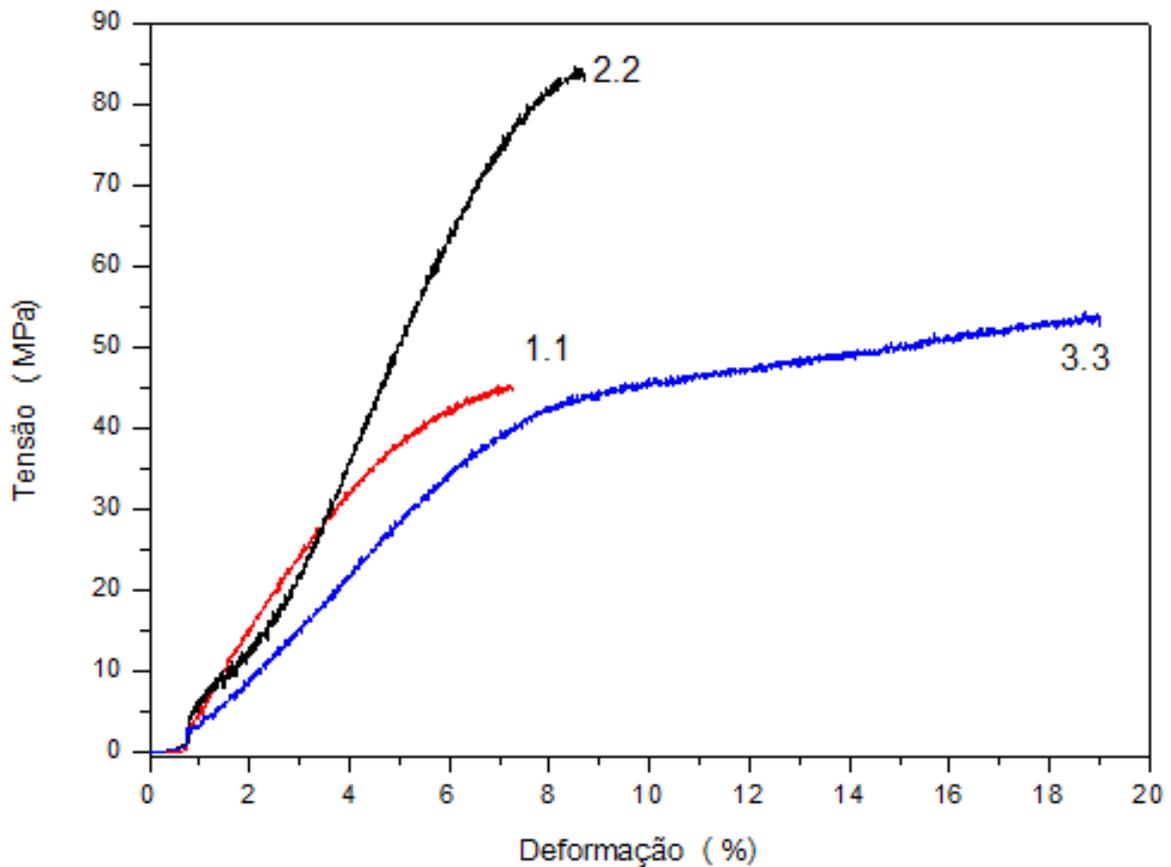
Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

Figura 10 - Curvas Tensão x Deformação para as amostras de Alginato preparadas com CaCl_2 0,5% (p/p) no pH 4,0.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

Figura 11 - Curvas Tensão x Deformação Representativas das amostras preparadas com alginato puro no pH 5,5; amostras preparadas com alginato nos pH 4 e 5, que receberam a adição de cloreto de cálcio



Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

A partir dos gráficos foram calculados os seguintes parâmetros mecânicos das amostras: módulo de elasticidade, deformação no regime elástico, tensão limite de escoamento, tensão máxima, módulo de resiliência, tenacidade e alongamento percentual.

O módulo de elasticidade foi calculado através da equação (4) considerando os dados referentes à porção elástica da curva tensão deformação, a tensão limite de escoamento foi estimada a partir da mudança de comportamento da curva, que evidencia o início da deformação plástica. O ponto considerado como limite de escoamento está também associado a uma deformação percentual, que corresponde à deformação no regime elástico. O módulo de resiliência foi calculado pela equação (6), enquanto a tenacidade foi obtida com auxílio do próprio Origin Lab 8, que fez o cálculo da área sob os gráficos. Finalmente, o alongamento

percentual, medida de ductilidade do material, foi obtido através da equação (5). O quadro abaixo apresenta as médias calculadas e desvio padrão para os três tipos de formulações avaliadas.

Tabela 3 - Parâmetros Mecânicos para as amostras de Alginato.

Tipo de filme	número de amostras ensaiadas	Média e desvio	modulo de elasticidade (Mpa)	deformação no regime elástico	Tensão limite de escoamento (MPa)	tensão máxima (Mpa)	módulo de resiliencia (Mpa)	tenacidade	alongamento percentual
Alginato + cloreto de cálcio pH 4,0	5	Média	687,89	4,27%	28,26	39,488	0,60	145,84	7,09%
		Desvio Padrão	268,43	0,87%	6,24	9,3083	0,10	50,09	2,42%
Alginato + cloreto de cálcio pH 5,5	2	Média	1031,75	3,88%	43,41	69,3	1,01	237,74	6,54%
		Desvio Padrão	232,74	1,59%	10,34	21,7506	0,66	172,83	3,05%
Alginato puro pH 5,5	4	Média	972,81	4,26%	29,76	46,3775	1,01	319,72	10,15%
		Desvio Padrão	688,49	2,56%	8,59	9,64555	1,09	278,72	6,36%

Fonte: Elaborado pelo autor, 2015.

Através da análise das curvas tensão deformação apresentadas e dos dados mostrados na tabela 3, podemos verificar que as amostras preparadas com alginato puro no pH de 5,5 apresentaram limite de escoamento médio em torno de 30MPa e deformação no regime elástico em torno de 4,2%. A adição de cloreto de cálcio elevou os valores de limite de escoamento para aproximadamente 43,5MPa nas amostras preparadas no pH 5,5, promovendo incremento de aproximadamente 30% em relação aos valores verificados para amostras sem adição de cloreto de cálcio. Associado ao incremento no limite de escoamento foi verificada redução na deformação das amostras que recebem a adição de cloreto de cálcio.

Quando comparado o preparo das amostras de alginato com adição de cloreto de cálcio em valores de pH iguais a 4,0 foi verificada redução dos valores do limite de escoamento para uma faixa em torno de 28MPa, representando redução de aproximadamente 40% em relação às amostras preparadas no pH 5,5, e seus valores de deformação tiveram incremento, chegando aos valores de 4,2%, muito próximos daqueles observados para amostras preparadas sem cloreto de cálcio no pH 5,5.

Sabe-se que a adição de cloreto de cálcio promove ligações entre as cadeias do alginato, o que resulta em comportamento menos degradativo. Dessa forma essas reações químicas são importantes para modular as taxas de perda para períodos compatíveis às aplicações de dispositivos preparados à base de alginato. Nesse contexto os ensaios mecânicos indicam que apesar da adição de cloreto de cálcio aumentar a resistência mecânica, o pH interfere de maneira importante para se obter esse aumento na resistência, entretanto com manutenção

nos valores de deformação, propriedade essa que ajuda em características como o intumescimento dos hidrogéis para aplicações biomédicas.

6– Conclusões

Comparando os resultados de amostras com e sem a presença de CaCl_2 observa-se que para amostras sem reticulação o alginato se apresenta amorfo e com maiores valores de ductilidade, onde seu alongamento total foi mais que o dobro se comparado com amostras reticuladas.

A literatura aponta para a necessidade de uso de íons divalentes no processamento do alginato de modo a garantir que sua solubilidade seja limitada de forma a promover sua geleificação, a partir dos resultados desse trabalho foi observado que o alginato reticulado, especialmente quando processado em pH 4,0 mostra maior grau de cristalinidade e estabilidade nas ligações, sugerindo que tal formulação pode ser apropriada para obtenção de dispositivo utilizados em aplicações biomédicas.

7 - Referências Bibliográficas

CALLISTER, William D.. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. 5. ed. Rio de Janeiro: Ltc, 1999.

DE'NOBILI, M.d. et al. Performance of alginate films for retention of l-(+)-ascorbic acid. **International Journal Of**. Buenos Aires, p. 95-103. abr. 2013. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/ijpharm>. Acesso em: 26 out. 2014.

DRAGET, Kurt Ingar. Alginates. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A.. **Handbook of hydrocolloids**. Boca Raton: Crc Press, 2000. p. 379-395.

DRAGET, Kurt Ingar; SMIDSRØD, Olav; SKJÅK-BRÆK, Gudmund. **Polyssacharides and polyamides in the food industry. Properties, production and patents**. Weinheim: Wiley-vhc Verlag Gmbh & Co., 2005.

HAUG, Arne; SMIDSRØD, Olav. Determination of Intrinsic Viscosity of Alginates. **Acta Chemica Scandinavica**, Trondheim, v. 16, p.1569-1578, 1962. Disponível em: <<http://actachemscand.org/author.php?aid=1958>>. Acesso em: 13 jan. 2015.

HAUG, Arne et al. Correlation Between Chemical Structure and Physical Properties of Alginates. **Acta Chemica Scandinavica**, Trondheim, v. 21, p.768-778, 1967. Disponível em: <<http://actachemscand.org/author.php?aid=1958>>. Acesso em: 14 jan. 2015.

HAUG, Arne; SMIDSRØD, Olav. Selectivity of Some Anionic Polymers for Divalent Metal Ions. **Acta Chemica Scandinavica**, Trondheim, v. 24, p.843-854, 1970. Disponível em: <<http://actachemscand.org/author.php?aid=1958>>. Acesso em: 15 jan. 2015.

HAY, Iain et al. Microbial Alginate Production, Modification and its Applications. **Applied Microbiology And Biotechnology**, Palmerston North, n. 6, p.637-650, 2013.

HERMES, R. S.; NARAYANI, R.. Polymeric Alginate Filmas and Alginate Beads for the Controlled Delivery of Macromolecules. **Trends Biomater. Artif. Organs..** [s.i.], p. 54-56. mar. 2002.

HÖHNE, Günther; HEMMINGER, Wolfgang; FLAMMERSHEIM, H J. **Differential Scanning Calorimetry**. Berlim: Springer-Verlag, 2003. Disponível em: [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=tRt-Z5Duz7QC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=tRt-Z5Duz7QC&oi=fnd&pg=PA1&dq=)

Differential+Scanning+Calorimetry&ots=7D2UoSz8H-&sig=67xyY3vhPkUM5TFL-YEws3Gv6qQ#v=onepage&q=Differential%20Scanning%20Calorimetry&f=false. Acesso em: 15/11/2015

JEON, Oju et al. The effect of oxidation on the degradation of photocrosslinkable alginate hydrogels. **Biomaterials**, Cleveland, v. 33, p.3503-3514, 2012.

KONG, Hyun Joon et al. Controlling Rigidity and Degradation of Alginate Hydrogels via Molecular Weight Distribution. **Biomacromolecules**, Ann Arbor, v. 5, p.1720-1727, 10 jul. 2004. Disponível em: <http://pubs.acs.org> Acesso em: 27 jan. 2015.

LEROUX, Michelle A.; GUILAK, Farshid; SETTON, Lori A.. Compressive and shear properties of alginate gel: Effects of sodium ions and alginate concentration. **Journal Of Biomedical Materials Research**, Durham, v. 47, n. 1, p.46-53, out. 1999. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com> Acesso em: 27 jan. 2015.

LORENZ, Juliana Goulart. **Comparação dos Métodos de Emulsificação e Spray Drying na Microencapsulação de Lactobacillus Acidophilos (LA-5) e Aplicação em Sorvete**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MØRCH, Ýrr A.. **Novel Alginate Microcapsules for Cell Therapy: A study of the structure-function relationships in native and structurally engineered alginates**. 2008. 74 f. Tese (Doutorado) - Department Of Biotechnology, Norwegian University Of Science And Technology, Trondheim, 2008. Disponível em: <http://www.diva-portal.org> Acesso em: 14 out. 2014.

MULDER, L. **Cell Adhesion on Alginate Scaffolds for the Tissue Engineering of an Aortic Valve – A Review**. 2002. 45 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedical Engineering, Eindhoven University Of Technology, Eindhoven, 2002. Disponível em: <<http://www.mate.tue.nl/mate/pdfs/2244.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2015.

MÜLLER, José Miguel; SANTOS, Renata Lopes dos; BRIGIDO, Riveli Vieira. Produção de Alginato por Microrganismos. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, Florianópolis, v. 21, n. 4, p.305-310, 07 fev. 2011.

PEREIRA, Thereza Mylene de Moura. **Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC-fotovisual) de Hormônios bioidênticos (estriol estradiol)**. 2013. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013. Disponível em: <http://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/13478>>. Acesso em: 03 dez. 2015.

PINDAR, David F.; BUCKE, Christopher. The Biosynthesis of Alginiic Acid by *Azotobacter vinelandii*. **Biochemichal Journal**, Reading, v. 152, p.617-622, 1975. Disponível em: <<http://www.biochemj.org/bj/152/0617/1520617.pdf>>. Acesso em: 14 dez. 2014.

REHMAN, Zahid U. et al. Insights into the Assembly of the Alginate Biosynthesis Machinery in *Pseudomonas aeruginosa*. **Aem Journals**, Palmerston North, v. 79, n. 10, p.3264-3272, maio 2013. Disponível em: <<http://aem.asm.org/>>. Acesso em: 11 nov. 2014.

SANTOS, Renata Lopes dos. **Avaliação da produção de alginato por *Pseudomonas mendocina***. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

SMIDSRØD, Olav; HAUG, Arne. The Effect of Divalent Metals on the Properties of Alginate Solutions. **Acta Chemica Scandinavica**, Trondheim, v. 19, n. 2, p.329-340, 1965. Disponível em: <<http://actachemscand.org/author.php?aid=1958>>. Acesso em: 14 jan. 2015.

SMIDSRØD, Olav; HAUG, Arne; LARSEN, Bjørn. Degradation of Alginate in the Presence of Reducing Compounds. **Acta Chemica Scandinavica**, Trondheim, v. 17, n. 10, p.2628-2637, 1963. Disponível em: <<http://actachemscand.org/author.php?aid=1958>>. Acesso em: 14 jan. 2015.

SUN, Jinchun; TAN, Huaping. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. **Materials**, Nanjing, v. 6, p.1285-1309, 2013. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/materials>. Acesso em: 15 out. 2014.

TURBIANI, Franciele Rezende Barbosa; KIECKBUSCH, Theo Guenter. Propriedades mecânicas e de barreira de filmes de alginato de sódio reticulados com benzoato de cálcio e/ou cloreto de cálcio. **Brazilian Journal Of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 2, p.82-90, 2011. Disponível em: <<http://www.openaccessarticles.com/>>. Acesso em: 27 jan. 2015.