

COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE MISTURAS DE QUITOSANA:GELATINA:ÓLEO DE COPAÍBA

Crisiane Marangon¹, Virginia C. A. Martins², Gracie Luiza da Silva³ e Ana Maria de Guzzi Plepis^{1,2}

¹Programa de Pós-graduação Interunidades Bioengenharia- EESC/FMRP/IQSC - USP, Brasil

²Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil

³Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, Brasil

e-mail: crismarangon@usp.br

Resumo: Este trabalho visa o estudo do efeito do óleo de copaíba na mistura quitosana:gelatina através de estudos reológicos e MEV. O óleo de copaíba (C), um composto extraído do tronco de árvores do gênero *Copaifera*, é conhecido por suas propriedades medicinais. A quitosana e a gelatina são dois polímeros naturais utilizados em várias aplicações na área da saúde. Medidas oscilatórias e de fluxo foram utilizadas para caracterizar essas misturas. Em todos os casos foi observada a dependência dos módulos em relação à frequência, com um comportamento viscoso a baixas frequências e uma inversão dos módulos a frequências ao redor de 1 rad s^{-1} , passando a um comportamento elástico ($G' > G''$). A varredura dos módulos (G' e G'') em função da temperatura mostrou que quanto maior a concentração de óleo na mistura, maior a temperatura necessária para desestruturar a rede tridimensional formada. A viscosidade a zero de cisalhamento é dependente da concentração do óleo e segue o modelo de Cross, com η_0 tendo um aumento exponencial. Ensaio de fluxo mostram um aumento da viscosidade com o aumento da concentração de óleo. Esses resultados podem ser justificados pela formação de gotículas de óleo dentro do sistema quitosana:gelatina e na rede formada por essa emulsão. As membranas obtidas mostram a formação de vesículas dos biopolímeros envolvendo o óleo.

Palavras-chave: quitosana, gelatina, óleo de copaíba, reologia.

Abstract: This work aims to study the effect of copaiba oil in a mixture of chitosan:gelatin by means of SEM and rheology. Copaiba oil (C), a compound extracted from the trunk of trees of the genus *Copaifera*, is known for its medicinal properties. Chitosan and gelatin are two natural polymers used in various healthcare applications. Oscillatory and flow measurements were used to characterize the mixtures. In all cases, the dependency of the modules with respect to frequency, with a viscous behavior at low frequencies and a reverse module at frequencies around 1 rad s^{-1} was observed, with an elastic behavior ($G' > G''$). G' and G'' as a function of temperature showed that the higher the concentration of oil in the mixture, the higher the temperature necessary to disrupt the formed three-dimensional network. Viscosity as a function of shear

rate is dependent on the concentration of oil and follows the Cross model with η_0 having an exponential increase. Flow measurements showed an increase in viscosity with increasing concentrations of oil. These results can be explained by the formation of oil droplets within the system chitosan: gelatin and the network formed by this emulsion. The membranes showed the formation of vesicles of polymers involving oil.

Keywords: chitosan, gelatin, copaiba oil, rheology.

Introdução

O emprego de polímeros biodegradáveis, biocompatíveis e atóxicos vêm despertando o interesse nos mais diversos campos da ciência, como na agricultura, indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos, além da área biomédica [1]. Dentre esses biopolímeros encontram-se a quitosana e a gelatina. A quitosana é um polímero natural obtido a partir da desacetilação da quitina, um polissacarídeo proveniente de exoesqueletos de insetos, crustáceos como camarão, lagosta, caranguejo, endoesqueleto de lula e micélio fúngico [2]. A gelatina, outro polímero natural é obtido através da desnaturação ou tratamento térmico do colágeno, que cliva as ligações de hidrogênio e covalentes desestabilizando a hélice tripla [3].

Existem muitos estudos com esses biopolímeros envolvendo plastificantes, agentes reticulantes, emulsificantes dentre outros [2].

A versatilidade desses biopolímeros ainda é mostrada na forma de sua aplicabilidade, ou seja, obter-se um sistema na forma de géis, membranas, filmes, esferas que permitam um maior tempo de permanência do produto no local de aplicação e um efeito sinérgico de suas propriedades [2].

O óleo de copaíba (C) é um composto abundante na rica flora do território brasileiro.

O óleo resina é extraído do tronco de árvores do gênero *Copaifera* e está amplamente elucidado na literatura devido ao conhecimento de suas propriedades na medicina popular. Dentre essas propriedades encontram-se atividade anti-inflamatória, antitumoral, bactericida, antitumoral, antisséptico, além de ser amplamente usado na indústria de cosméticos [4]. Assim, a utilização do óleo em matrizes poliméricas pode ser interessante para a área biomédica.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do óleo de copaíba na mistura quitosana:gelatina, na forma de emulsões e membranas.

Materiais e métodos

Gel de Quitosana (Q): a quitosana foi obtida a partir de gládios de lula da espécie *Loligo sp.* por desmineralização, desproteíntização e desacetilação como descrito anteriormente [5]. Posteriormente, foi preparada uma solução de quitosana 2% em ácido acético (HAc) 1%.

Gel de Gelatina (G): foi preparado por dissolução da gelatina (Sigma) em água, sendo gelatinizada a 60 °C por 30 min, tendo-se uma concentração final de 2%.

Preparo das amostras: foram preparadas pela mistura dos géis de quitosana e gelatina, na proporção 2:1 com adição de óleo de copaíba em HAc 1% em quantidades variáveis e sob agitação mecânica constante a 2000 rpm. As misturas óleo de copaíba (C) e HAc 1% totalizando 2,0 mL, tinham 0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mL de óleo, resultando nas misturas ou emulsões denominadas de QG0C, QG0,5C, QG1C, QG1,5C e QG2C, respectivamente.

Caracterização: Reologia: Os ensaios de reologia oscilatória foram feitos em um reômetro AR – 1000N de deformação controlada da TA Instruments, com geometria cone placa de 20 mm 2° , com *gap* de 69 μm . Os ensaios de oscilação foram feitos a 25 °C, $\nu = 1,0$ Hz e uma variação na tensão de oscilação de 0,05 a 1000 Pa, para determinação da região viscoelástica. Os módulos elástico (G') e viscoso (G'') foram obtidos em função da temperatura e frequência angular na região viscoelástica. A varredura de frequência foi feita de 0,1 a 100 rad s^{-1} com deformação de 2%. Já, os ensaios de varredura de temperatura foram feitos de 20 a 60 °C, a uma $\nu = 1,0$ Hz e uma razão de aquecimento de 5 °C min^{-1} . As medidas de fluxo foram feitas com variação na taxa de cisalhamento entre 0,1 a 1000 s^{-1} e $T = 25$ °C.

Preparação das membranas: foram obtidas por secagem de 1,0 g de amostras em formas de teflon® de 20 mm de diâmetro, sob fluxo de ar, a temperatura ambiente.

Caracterização por MEV: As fotomicrografias foram obtidas em um equipamento LEO 440 com amostras recobertas previamente com 20 nm de ouro.

Resultados

A mistura quitosana:gelatina:óleo formou emulsões que foram caracterizadas por ensaios reológicos. Primeiramente foi feita a varredura dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da % de deformação para todas as amostras. Assim observou-se a região viscoelástica linear até aproximadamente 10% de deformação, sendo determinado dentro dessa região o valor de deformação de 2%, que foi utilizado para todas as outras medidas subsequentes.

A variação de G' e G'' em função da frequência, a temperatura de 25 °C é mostrada na Figura 1.

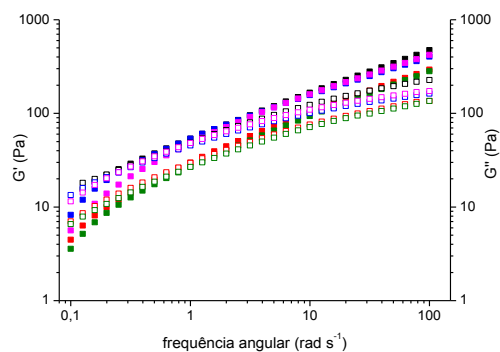


Figura 1: Módulo elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular, $T = 25$ °C. Sendo: QG0C (-■-, G') (-□-, G''); QG0,5C (-■-, G') (-□-, G''); QG1C (-■-, G') (-□-, G''); QG1,5C (-■-, G') (-□-, G'') e QG2C (-■-, G') (-□-, G'').

Ensaio oscilatório foram feitos em função da temperatura. A Figura 2 mostra a dependência dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') com a temperatura para as misturas quitosana:gelatina:óleo na frequência de 1,0 Hz.

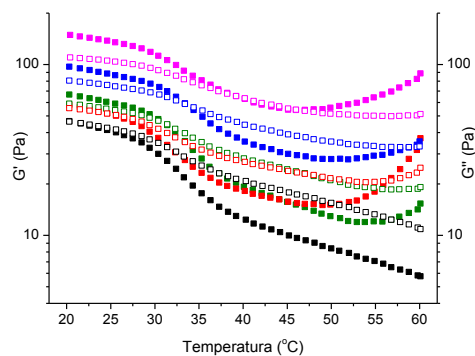


Figura 2: Módulo elástico (G') e viscoso (G'') em função da temperatura. Sendo: QG0C (-■-, G') (-□-, G''); QG0,5C (-■-, G') (-□-, G''); QG1C (-■-, G') (-□-, G''); QG1,5C (-■-, G') (-□-, G'') e QG2OC (-■-, G') (-□-, G'').

A Tabela 1 mostra as temperaturas de inversão dos módulos $G' > G''$ (T_1) e $G'' > G'$ (T_2).

Tabela 1: Temperatura de inversão (°C) dos módulos para as amostras.

Amostra	T_1 (°C)	T_2 (°C)
QG0C	< 20,0	-
QG0,5C	24,6	56,4
QG1C	31,5	-
QG1,5C	34,0	58,2
QG2C	38,8	46,0

Ensaio de fluxo foram feitos para caracterizar as amostras em experimentos com variação da taxa de cisalhamento a 25 °C, como mostrado na Figura 3.

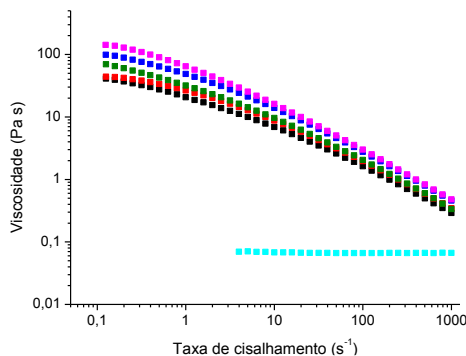


Figura 3: Variação da viscosidade em função da taxa de cisalhamento a 25 °C para (-■-) óleo de copaíba, (-■-) QG0C, (-■-) QG0,5C, (-■-) QG1C, (-■-) QG1,5C e (-■-) QG2C.

As curvas seguem o modelo de Cross [6] (Tabela 2), descrito através da Equação 1:

$$\frac{\eta - \eta_\infty}{\eta_0 - \eta_\infty} = \frac{1}{1 + (K\dot{\gamma})^m} \quad (1)$$

com η_0 sendo a viscosidade a zero de cisalhamento, η_∞ a viscosidade a cisalhamento infinito, K é a constante relacionada ao tempo de relaxação do polímero em solução, $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento e m é um expoente adimensional.

Tabela 2: Parâmetros do modelo de Cross para as misturas com diferentes concentrações de óleo de copaíba.

Amostra	η_0 (Pa s)	η_∞ (Pa s)	K (s)	m
QG0C	50,2	$4,8 \times 10^{-6}$	1,428	0,695
QG0,5C	52,9	$7,4 \times 10^{-8}$	0,921	0,728
QG1C	175,9	$2,2 \times 10^{-6}$	3,247	0,738
QG1,5C	266,2	$1,7 \times 10^{-5}$	3,731	0,740
QG2C	495,5	$1,2 \times 10^{-6}$	4,438	0,795

A viscosidade a zero de cisalhamento pode ser relacionada com o volume de óleo, como mostrado na Figura 4.

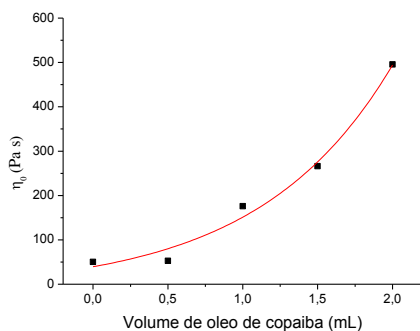


Figura 4: Volume de óleo de copaíba em função da viscosidade a zero de cisalhamento (η_0).

As membranas contendo o óleo de copaíba são maleáveis e tem aparência amarelada. As fotomicrografias por MEV estão mostradas na Figura 5.

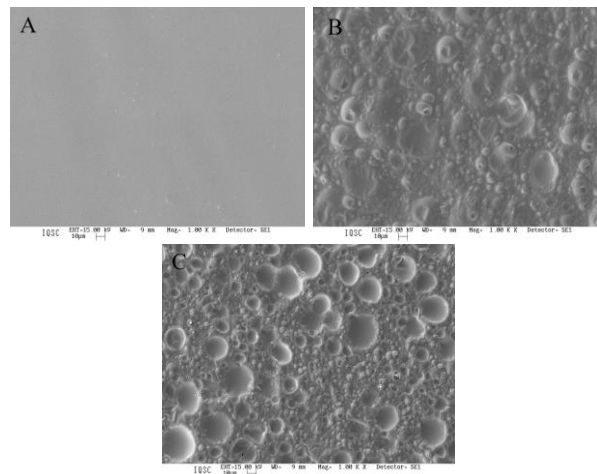


Figura 5: (A) Fotomicrografias QG0C; (B) QG1C e (C) QG2C. Aumento de 1000x.

Discussão

Todas as misturas de quitosana:gelatina:óleo caracterizadas por ensaios reológicos oscilatórios mostraram uma região viscoelástica linear até pelo menos 10% de deformação.

Em todos os casos foi observada a dependência dos módulos em relação à frequência (Figura 1). Todos apresentaram um aumento nos módulos com G'' apresentando uma menor dependência da frequência, enquanto G' uma maior dependência. Este comportamento, que é predominantemente viscoso a baixas frequências, mostrou uma inversão dos módulos a frequências ao redor de 1 rad s^{-1} , passando-se a ter um comportamento elástico ($G' > G''$).

Esta região é característica na ocorrência de enovelamentos físicos em materiais poliméricos. Neste caso, isso pode ser atribuído ao efeito das gotas de óleo estando rodeadas e empacotadas pelos biopolímeros, quitosana e gelatina, bem como por reestruturação da rede formada entre macromoléculas [7].

A varredura dos módulos em função da temperatura (Figura 2, Tabela 1), a 1,0 Hz, inicia-se com $G' > G''$ e ambos os módulos diminuem com o aumento da temperatura como normalmente é observado para sistemas poliméricos em solução. Uma inversão dos módulos ($G'' > G'$) é observada em função da concentração de óleo, ou seja, quanto maior a presença de óleo maior a temperatura necessária para que a rede tridimensional formada pela mistura seja modificada e predomine o módulo viscoso. Mesmo após o sistema ficar predominantemente viscoso, o aumento de temperatura promove uma nova inversão nos módulos para as amostras que contém óleo conferindo ao sistema novamente um comportamento elástico.

Os ensaios de fluxo mostram que o óleo de copaíba tem um comportamento Newtoniano, contudo, para as amostras de quitosana:gelatina a viscosidade é dependente da concentração de óleo, tendo-se um aumento da viscosidade com o aumento da concentração e à medida que aumenta-se a taxa de cisalhamento a viscosidade diminui (pseudoplasticidade). Esse comportamento das emulsões pode ser atribuído à formação de uma estrutura de gotículas que se rompem com o aumento da taxa de cisalhamento.

A pseudoplasticidade observada segue o modelo de Cross, tendo-se um aumento exponencial da viscosidade a zero de cisalhamento (η_0) com o aumento do conteúdo de óleo. O aumento nos valores de m do modelo de Cross mostrados na Tabela 2 indica uma maior dependência da viscosidade em relação à taxa de cisalhamento. Esse aumento de viscosidade com o aumento do conteúdo de óleo, a baixas taxas de cisalhamento, está associado à capacidade de polissacarídeos de estabilizar as gotículas de óleo na emulsão e a sua capacidade de promover a formação de uma rede do gel de quitosana:gelatina:óleo em meio aquoso [7,8].

A partir dessas amostras foram obtidas membranas cujas fotomicrografias mostram uma estrutura lisa, contínua para membranas de quitosana:gelatina. A presença de óleo causa descontinuidades associadas com a formação de vesículas com contornos melhor definidos de acordo com o aumento da concentração do óleo.

Conclusão

A presença de óleo de copaíba na mistura de quitosana:gelatina confere ao sistema um comportamento predominantemente elástico, necessitando de uma temperatura maior para a conversão de um sistema elástico a viscoso. A viscosidade é maior na presença de óleo devido a formação de gotículas de óleo dentro do sistema quitosana:gelatina na rede da emulsão. As membranas obtidas mostram vesículas dos biopolímeros que envolvem o óleo.

Referências

- [1] Dhillon GS, Kaur S, Sarma SJ, Brar SK, Verma M, Surampalli RY. Recent development in applications of important biopolymer chitosan in biomedicine, pharmaceuticals and personal care products. *Current Tissue Engineering*. 2013; 2(1):20-40.
- [2] Gavhane YN, Gurav AS, Yadav AV. Chitosan and its applications: a review of literature. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2013; 4(1):312-331.
- [3] Gómez-Guillén MC, Giménez B, López-Caballero ME, Montero MP. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids*. 2011; 25:1813-1827.
- [4] Leandro LM, Vargas FS, Barbosa PCS, Neves JKO, Silva JA, Veiga-Junior VF. Chemistry and biological activities of terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*. 2012; 17:3866-3889.
- [5] Horn MM, Martins VCA, Plepis AMG. Interaction of anionic collagen with chitosan: effect on thermal and morphological characteristics. *Carbohydrate Polymers*. 2009; 77:239-243.
- [6] Rao MA. Flow and functional models for rheological properties of fluid foods. Em: M.A. Rao, editor. Springer. New York; 2014. p. 27-36.
- [7] Calero N, Muñoz J, Cox PW, Heuer A, Guerrero A. Influence of chitosan concentration on the stability, microstructure and rheological properties of O/W emulsions formulated with high-oleic sunflower oil and potato protein. *Food Hydrocolloids*. 2013; 30:152-162.
- [8] McClements DJ. Food emulsions: principles, practices, and techniques. 2ª ed. Boca Raton: CRC Press, 2005.