



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOMEMBRANAS À BASE DE
Cúrcuma longa L., QUERCETINA, HIDROXIAPATITA E BLENDAS POLIMÉRICAS
PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

RAYANNE CORNELIO SILVA CARVALHO

**Orientadora: Prof^a Dr^a Deuzuíta dos Santos Freitas Viana
Coorientador: Prof^o Dr^o Vicente Galber Freitas Viana**

TERESINA/PI

2022

RAYANNE CORNELIO SILVA CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOMEMBRANAS À BASE DE
Cúrcuma longa L., QUERCETINA, HIDROXIAPATITA E BLENDAS POLIMÉRICAS
PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Instituto Federal do Piauí, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Caracterização e Processamento de Materiais

Orientadora: Prof^a Dr^a Deuzuíta dos Santos Freitas Viana

Coorientador: Prof^o Dr^o Vicente Galber Freitas Viana

TERESINA/PI

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Carvalho, Rayanne Cornelio Silva

C331d Desenvolvimento e caracterização de biomembranas à base de *Cúrcuma longa* L., Quercetina, Hidroxiapatita e Blenda polimérica para regeneração óssea / Rayanne Cornelio Silva Carvalho. — 2022.
57 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Instituto Federal do Piauí, Campus Teresina Central, 2022.

Orientador : Prof. Dra. Deuzuíta dos Santos Freitas Viana.

Co-orientador: Prof. Dr. Vicente Galber Freitas Viana.

1. Biomembranas. 2. Materiais bioativos. 3. Regeneração óssea. I. Título.

CDD - 620.1

Elaborado por Sindya Santos Melo CRB 3/1085

RAYANNE CORNELIO SILVA CARVALHO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOMEMBRANAS À BASE DE
Cúrcuma longa L., QUERCETINA, HIDROXIAPATITA E BLENDAS POLIMÉRICAS PARA
REGENERAÇÃO ÓSSEA

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Materiais do Instituto Federal do Piauí, como
parte integrante dos requisitos para a obtenção
de aprovação para a pesquisa de mestrado.

Área de concentração: Caracterização e
Processamento de Materiais

Aprovada em: 04/ 03/ 2022.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª Dr^a Deuzuíta dos Santos Freitas Viana (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^a Dr^a Maura Célia Cunha e Silva
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^º Dr^º Haroldo Reis Alves de Macêdo
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

TERESINA/PI

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a bondade imerecida de Deus, o qual me proporcionou a vida e viabilizou a conquista de vários objetivos os quais estimei em minha trajetória e também as todas as oportunidades que eu pude ter ao longo desses anos.

Agradeço à minha orientadora Prof^a Dr^a Deuzuita Freitas Viana por ser tão gentil e amorosa e também por toda sua experiência e profissionalismo por me orientar com eficiência. Também agradeço ao Prof^o Dr^o Vicente Galber Freitas Viana, por sua paciência e tamanha inteligência para suprir minhas dúvidas no laboratório agradeço por todo apoio que me ofereceu na realização deste estudo, sua dedicação, sua amizade, e seu entusiasmo científico o qual me transmitiu.

Agradeço ao Prof^o Dr^o Gilvan Moreira da Paz pela dedicação em fornecer, o apoio necessário e suas excelentes sugestões, para o andamento eficiente da pesquisa.

Dedico meus sinceros agradecimentos ao Msc Francílio de Oliveira secretário do PPGEM, o qual, sempre foi disposto a dar a motivação necessária para que eu me mantivesse na ativa e cumprindo meus prazos.

Aos professores e aos profissionais que contribuíram significativamente com minha pesquisa ao Prof^o Dr^o Reis, Prof^o Dr^o Jurecir, Prof^o Dr^o Marcelo Ventura, Prof^o Dr^o Haroldo Neres, André (Técnico do Laboratório), Prof^o Dr^a Marina, Prof^o Dr^o Haroldo Reis, Msc^o Rafael (UESPI) e Prof^o Genilton Torres.

Agradeço a Universidade Federal pelo apoio nas análises de DRX, e ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Piauí-IFPI, pela educação de excelência e pela estrutura proporcionada. Agradeço ao atendimento da psicóloga Msc^o Erostides Alencar, pela excelente qualidade do seu atendimento.

Também agradeço o apoio financeiro da Capes. Quanto às empresas que apoiaram meu projeto, agradeço imensamente a PVP S/A e ao Grupo SoFerro.

*“Para ser grande, sê inteiro: nada Teu
exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa.
Põe quanto és No mínimo que fazes. Assim
em cada lago a lua toda Brilha, porque
alta vive” Ricardo Reis-heterônimo
(Fernando Pessoa)*

RESUMO

O uso de biocomponentes promove a absorção biológica das biomembranas no organismo contribuindo no processo de regeneração. A incorporação da *Cúrcuma longa* L., (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp) nas biomembranas favorece a capacidade osteoingrativa, pelo processo de mimetização na matriz extracelular natural do osso, de modo a possibilitar a ligação e a proliferação celular óssea. As biomembranas foram preparadas pelo processo de evaporação de solvente, favorecendo boa morfologia e miscibilidade em 5 diferentes tipos de proporções, sendo, portanto: B00, B01, B02, B03 e B04, as quais apresentaram-se homogêneas e lisas. No processo de obtenção das biomembranas notou-se a banda característica de cada biocomposto, sugerindo, que não houve reação química entre os componentes, mantendo-se, portanto, os compostos fitoquímicos e bioativos preservados na formulação das biomembranas. O TG, DSC e DRX dos componentes bioativos: QUER, CUR e HAp, sugeriu a pureza dos referidos biocomponentes. Tratando-se da difratometria das biomembranas notou-se a miscibilidade e incorporação eficiente na matriz polimérica. No grau de intumescimento a biomembrana B03 apresentou uma estabilidade maior, por demonstrar um G.I de quase 220% em 24h. Observou-se na biomembrana B04 uma perda de massa constante e progressiva, apresentando uma maior estabilidade em sua degradação. O ângulo de molhamento foi menor do que 90° indicando que o material obtido é hidrofílico. Todas as biomembranas (B01, B02, B03 e B04) analisadas demonstraram potencial eficiente como biomaterial. Na tensão superficial todas as biomembranas apresentaram boa capacidade de adesão. O teste de bioatividade foi feito mediante a avaliação de toxicidade frente a *Artêmia* salina, o qual confirmou a atoxicidade das biomembranas.

Palavras-chaves: Biomembranas; Materiais Bioativos; Regeneração Óssea.

ABSTRACT

The use of biocomponents promotes the biological absorption of biomembranes in the body contributing to the regeneration process. The incorporation of *Curcuma longa* L., (CUR), quercetin (QUER), hydroxyapatite (HAp) in biomembranes favors the osteoingrative capacity, by the mimicking the natural extracellular matrix of bone to enable bone cell attachment and bone cell proliferation. The biomembranes were prepared by the solvent evaporation process of solvent, favoring good morphology and miscibility in 5 different ratios, B00, B01, B02, B03 and B04, which were homogeneous and smooth. In the process of obtaining the biomembranes it was noted the characteristic band of each biocomposite, suggesting that there was no chemical reaction between the components, keeping, therefore, the phytochemical and bioactive compounds were preserved in the formulation of biomembranes. The TG, DSC and XRD of the bioactive components: QUER, CUR and HAp, suggested the purity of these biocomponents. Regarding the diffractometry of the biomembranes, it was noted the miscibility and into the polymeric matrix. In the degree of intumescence, the biomembrane B03 presented a higher stability, by demonstrating a G.I of almost 220% in 24h. It was observed in biomembrane B04 showed a constant and progressive loss of mass, showing greater stability in its degradation. The wetting angle was less than 90° indicating that the material obtained is hydrophilic. All biomembranes (B01, B02, B03 and B04) analyzed showed efficient potential as biomaterial. As biomaterial. In surface tension, all biomembranes showed good adhesion capacity. The bioactivity test was performed by evaluating the toxicity through *Artemia salina*, which confirmed the atoxicity of biomembranes.

Key-words: Biomembranes; Bioactive Materials; Bone Regeneration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2 – Reação de polimerização para obtenção do poliestireno (PS).	20
Figura 3 – Rizomas da <i>Cúrcuma longa</i> L.	23
Figura 4 – Curcuminoide: Principal componente encontrada na <i>Cúrcuma longa</i> L. . .	23
Figura 5 – Estrutura química da quercetina.	24
Figura 6 – Estrutura química da hidroxiapatita.	25
Figura 7 – Processamento das biomembranas.	29
Figura 8 – Fluxograma das análises utilizando o UV-Vis.	30
Figura 9 – Fluxograma das Análises Térmicas.	30
Figura 10 – Teste de toxicidade: (A) - Aquário adaptado para eclosão dos ovos das <i>Artêmias</i> salina e (B) - Amostras imersas em solução salina para verificação de toxicidade.	33
Figura 11 – Amostras das biomembranas (B01-A), (B02-B), (B03-C) e (B04-D).	35
Figura 12 – Espectros de absorção na região do UV/Vis para a <i>Cúrcuma longa</i> L., quercetina e hidroxiapatita.	36
Figura 13 – Espectros de absorção na região do UV/Vis para a biomembrana (B01), biomembrana (B02), biomembrana (B03) e biomembrana (B04).	37
Figura 14 – Espectros de absorção na região do UV/Vis para os sobrenadantes da biomembrana (B01), biomembrana (B02), biomembrana (B03) e biomembrana (B04).	37
Figura 15 – Curvas TG/DTG da <i>Cúrcuma longa</i> L., (CUR), quercetina (QUER) e hidroxiapatita (HAp) em diferentes taxas de aquecimento: (a) TG; (b) DTG.	39
Figura 16 – Curvas TG/DTG das biomembranas B00, B01, B02, B03 e B04 em diferentes taxas de aquecimento: (a) TG; (b) DTG.	39
Figura 17 – Curva de DSC da <i>Cúrcuma longa</i> L. (CUR), quercetina (QUER) e hidroxiapatita (HAp).	41
Figura 18 – Curva de DSC referente às biomembranas: B00, B01, B02, B03 e B04.	41
Figura 19 – Difrátograma da <i>Cúrcuma longa</i> L. (CUR)-(A), hidroxiapatita (HAp) (B) e quercetina (QUER)- (C).	42
Figura 20 – Difrátograma das biomembranas: (B00), (B01), (B02), (B03) e (B04).	43
Figura 21 – Grau de intumescimento (G.I) das biomembranas.	44
Figura 22 – Grau de absorção (A) das biomembranas.	45
Figura 23 – Ângulo de contato entre uma gota de água destilada e a biomembrana na superfície plana horizontal.	46
Figura 24 – Ângulo de contato usando água destilada na superfície das biomembranas: B00, B01, B02, B03 e B04.	47
Figura 25 – Tensão superficial.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das biomembranas Cúrcuma longa L. (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp) e blenda polimérica: pectina (PEC) e poliestireno (PS) .	28
Tabela 2 – Energia superficial da água, formamida e glicerol.	33
Tabela 3 – Porcentagem de <i>Artêmias</i> salinas vivas no teste de toxicidade.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al₂O₃	Alumina
B00	Biomembrana-Blenda 100%
B01	Biomembrana 01
B02	Biomembrana 02
B03	Biomembrana 03
B04	Biomembrana 04
Ca(OH)₂	Hidróxido de Cálcio
cm	Centímetros
CUR	<i>Cúrcuma longa</i> L.
DTG	Termogravimetria Derivada
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DMSO	Dimetilsulfóxido
H₃PO₄	Ácido Fosfórico
HAp	Hidroxiapatita
IFPI	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí
M	Concentração Molar
NFκB	Fator nuclear kappa β
nm	Nanômetros
PBS	Solução Salina Tamponada
PEC	Pectina
PS	Poliestireno
QUER	Quercetina
TG	Análise Termogravimétrica
UFPI	Universidade Federal do Piauí
ZrO₂	Zircônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	15
1.1.1	Geral	15
1.1.2	Específicos	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	BIOMATERIAIS E SUAS APLICAÇÕES	16
2.1.1	Propriedades dos biomateriais	17
2.2	COMPÓSITOS: FORMULAÇÃO E APLICAÇÃO DAS BIOMEMBRANAS	18
2.2.1	Blenda Polimérica	19
2.2.1.1	Poliestireno (PS)	20
2.2.1.2	Pectina (PEC)	21
2.2.2	Compostos fitoquímicos e bioativos	22
2.2.2.1	<i>Cúrcuma longa</i> L. (CUR)	22
2.2.2.2	Quercetina (QUER)	24
2.2.2.3	Hidroxiapatita (HAp)	25
2.3	TOXICIDADE	26
2.3.1	Teste de toxicidade frente à <i>Artêmia salina</i>	26
3	METODOLOGIA	28
3.1	SÍNTESE E OBTENÇÃO DA HIDROXIAPATITA (HAp)	28
3.2	PROCESSAMENTO E OBTENÇÃO DAS BIOMEMBRANAS	28
3.3	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS BIOMEMBRANAS E DAS SOLUÇÕES SOBRENADANTE	29
3.3.1	Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-Vis)	29
3.4	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E DAS BIOMEMBRANAS	30
3.4.1	Análises térmicas	30
3.4.1.1	Termogravimetria (TG/DTG)	31
3.4.1.2	Calorimetria Exploratória Diferencial DSC	31
3.4.2	Difratometria de Raio-X (DRX)	31
3.4.2.1	Difratometria de Raio-X (DRX): materiais bioativos	31
3.4.2.2	Difratometria de Raio-X (DRX): biomembranas	31
3.4.3	Grau de intumescimento (G.I) e grau de absorção das biomembranas (A)	31
3.4.4	Teste de molhabilidade e ângulo de contato	32
3.4.5	Tensão Superficial	32

3.5	AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADE	33
3.5.1	Teste de toxicidade frente à <i>Artêmia</i> salina	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
4.1	OBTENÇÃO DAS BIOMEMBRANAS	35
4.2	ESPECTROSCOPIA UV-Vis: COMPOSTOS BIOATIVOS, BIOMEMBRANAS E SOBRENADANTE	35
4.3	ANÁLISES TÉRMICAS	38
4.3.1	Termogravimetria (TG/DTG): Compostos bioativos e biomembranas . .	38
4.3.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC): Compostos bioativos e biomembranas	40
4.4	DIFRAÇÃO DE RAIO-X	42
4.4.1	Análise da microestrutura dos componentes bioativos	42
4.4.2	Análise da microestrutura dos componentes biomembranas	43
4.5	GRAU DE INTUMESCIMENTO (G.I) E GRAU DE ABSORÇÃO DAS BIOMEMBRANAS (A)	43
4.6	TESTE DE MOLHABILIDADE E ÂNGULO DE CONTATO	46
4.7	TENSÃO SUPERFICIAL	47
4.8	AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADE	48
4.8.1	Teste de toxicidade	48
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de pesquisas em biomateriais promove o avanço de estudos na viabilidade e aplicação na área médica, seu uso é crescente pois as propriedades que os compõem garantem ao organismo, excelente biocompatibilidade com os tecidos (SILVA et al., 2020). A caracterização estrutural de biomateriais é importante no preparo de *scaffolds*, biofilmes e biomembranas amplamente utilizados na bioengenharia. Muitas vezes eles são biodegradáveis e alguns são bioabsorvíveis, o que significa que são eliminados gradualmente do corpo após cumprir uma função (SILVA, 2019).

Os polímeros sintéticos apresentam grande estabilidade e afinidade com os componentes celulares e ainda uma elevada resistência mecânica. Estes polímeros exibem propriedades que podem ser reproduzidas a nível molecular e a sua taxa de degradação pode ser alterada, para atender a requisitos específicos (SOUSA et al., 2012). O desenvolvimento de blendas poliméricas na obtenção de biomembranas possui tendência progressiva, principalmente devido ao desenvolvimento e aplicação na área química, ciência e engenharia dos materiais e ciências biológicas (LEALLI e MEROLLI, 2009).

Os compostos fenólicos, encontrados na *Cúrcuma longa* L., atuam no sistema biológico de modo a inibir o metabolismo do ácido araquidônico, capaz de induzir apoptose e alterando a expressão gênica, estimulando a atividade celular (PAIVA, 2015). Os flavonóis da quercetina possuem constituintes biologicamente ativos, os quais auxiliam na promoção e preservação da saúde óssea. Sua bioatividade no sistema esquelético ocorre por meio de várias vias de sinalização e expressão gênica envolvidos na ativação de enzimas (VAZ et al., 2020).

A hidroxiapatita é um componente mineral natural encontrada de maneira abundante no sistema esquelético (SOUSA et al., 2012). A similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos faz da hidroxiapatita um dos materiais mais notórios para o uso de biomateriais em regeneração óssea. A hidroxiapatita induz a formação de poros nas biomembranas, contribuindo de maneira significativa a capacidade de adesão ao sistema óssea (RIBEIRO, 2007). As biomembranas devem ter função instantânea após a implantação e ter como peculiaridade a capacidade de integração e remodelação com o organismo.

A *Cúrcuma longa* L., (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp) são materiais bioativos com capacidades osteoingrativas. Estes compostos bioativos incorporados nas biomembranas devem mimetizar a matriz extracelular natural do osso, de modo a possibilitar a ligação e a proliferação celular. A biocompatibilidade, ausência de toxicidade do biodispositivo ou seus produtos de degradação são as características mais importantes para aplicação de biomateriais (PIRES et al., 2015).

Em vista disso, o objetivo do desenvolvimento e caracterização das biomembranas à base de *Cúrcuma longa* L., quercetina, hidroxiapatita e blenda polimérica pelo método de evaporação

de solvente para regeneração óssea é um excelente candidato para atuação na área da ortopedia. De acordo com Cobo et al. (2021), a utilização deste método promove excelente morfologia, boa miscibilidade e estabilidade térmica favorável para uso clínico. Estas características podem influenciar nas propriedades mecânicas, térmicas e com a permeabilidade do biomaterial (SILVA, 2019).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Desenvolver biomembranas a base de *Cúrcuma longa* L. (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp), e blenda polimérica para regeneração óssea.

1.1.2 Específicos

- Sintetizar e caracterizar a hidroxiapatita (HAp);
- Caracterizar as substâncias bioativas (*Cúrcuma longa* L. (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp), através de técnicas espectroscópicas, termogravimétricas e difratométricas;
- Caracterizar as biomembranas através de técnicas termogravimétricas e difratométricas;
- Analisar o grau de intumescimento e absorção das biomembranas;
- Caracterizar o grau de molhabilidade através do ângulo de contato e tensão superficial das biomembranas;
- Avaliar a toxicidade das biomembranas através de técnicas in vitro pelo teste de toxicidade frente à *Artêmia* salina.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BIOMATERIAIS E SUAS APLICAÇÕES

Biomateriais é um termo que designa os materiais que constituem partes de implantes médicos, dispositivos extracorpóreos e descartáveis que são utilizados amplamente nos aspectos relacionados ao cuidado com a saúde (RODRIGUES, 2016). Na maioria dos casos, um biomaterial é qualquer dispositivo biocompatível, natural ou artificial, cuja característica comum de suas aplicações é seu uso em contato direto com tecidos do organismo (RIBEIRO, 2007). O biomaterial para ser eficaz, precisa fornecer ao meio biológico meios de integração apropriada e específica para a sua aplicação.

Os biomateriais são derivados de várias fontes, tais como, polímeros biológicos, polímeros sintéticos, metais, cerâmicas e compósitos (RIBEIRO, 2007). Os compósitos são obtidos pela incorporação de materiais de origem distintas, visando otimizar e aumentar a tolerância do dispositivo e potencializar sua aplicação em tecidos vivos, a ciência avançou no uso de compósitos, que propiciem uma maior compatibilidade (SILVA, 2019).

Os materiais cerâmicos podem ser totalmente cristalinos, parcialmente cristalinos ou totalmente amorfos na estrutura atômica. Mecanicamente, devido suas fortes ligações químicas as cerâmicas são tipicamente rígidas e duras. Os materiais cerâmicos são compostos inorgânicos, não metálicos, refratários e policristalinos (OLIVEIRA et al., 2019). A superfície reativa dos materiais cerâmicos, favorecem sua interação com o organismo, pois quando estas cerâmicas são inseridas no meio biológico elas se integram com o tecido por meio de uma reação de troca iônica, os mecanismos são favoráveis para promover uma ligação química direta com o tecido hospedeiro (RIBEIRO, 2007).

Os polímeros são muito versáteis e são amplamente usados em aplicações biomédicas. São classificados em naturais e sintéticos dependendo de seus monômeros e de sua organização molecular. Possuem flexibilidade, formas estruturais variadas e fácil fabricação (OLIVEIRA et al., 2019). O seu principal critério para uso dos polímeros em biomateriais são utilizar compostos bioativos, ter compatibilidade de fabricação, esterilização, resistência química e rigidez e terem a capacidade de estabilidade controlada (RIBEIRO, 2007).

As características mais importantes para selecionar um material para utilização médica são biocompatibilidade, ausência de efeitos nocivos ou tóxicos para o organismo e propriedades biomecânicas capazes de responderem às solicitações dinâmicas e estáticas. O biomaterial deve ser capaz de interagir com o organismo, mantendo sua estrutura e propriedades, sem provocar alterações no meio fisiológico envolvente (SILVA, 2019). O quadro 01, apresenta a constituição geral dos biomateriais e suas aplicações na medicina regenerativa.

Quadro 1 - Constituição geral dos biomateriais e suas aplicações.

TIPO	ORIGEM	EXEMPLOS	APLICAÇÕES
Biocerâmicas	Natural	Aço inoxidável, titânio, ligas de cromo-cobalto.	Placas ósseas, parafusos, pinos, grampos, juntas.
Cerâmicos	Sintético	Óxido de alumínio, dióxido de titânio, hidroxiapatita.	Implantes de tecido duro para locais de alta compressão.
Biocerâmicas	Natural	Biovidros, cerâmica de vidro, fosfato de cálcio, zircônia, alumina.	Implante na cabeça do fêmur e acetábulo, revestimentos de implantes de liga, preenchimento de defeitos ósseos.
Poliméricos	Sintético	PMMA, PVC, teflon, dacron, nylon, PS.	Implantes de tecidos moles, sistemas de entrega, entre em contato lentes, placas ósseas, osso cimento, obturações dentárias, tecido.
Blenda Polimérica	Sintética/ Natural	Polissacarídeos/PS, ABS/PC, PS/PPS, ABS/PVC	Isoladores elétricos, biomembranas para regeneração de tecido ósseo.
Compósitos	Natural/ Sintético	Processo de obtenção de biomembranas com cerâmica, polissacarídeo e polímero sintético.	Regeneração de tecido ósseo, cicatrização de tecido conjuntivo.

Fonte: VASIF e NESRIN (2018) com adaptações.

Os materiais metálicos são compostos por um ou mais elementos, tais como o ferro, cobre, zinco e titânio, e muitas vezes também podem ser estruturados com elementos não metálicos, por exemplo o carbono, nitrogênio e oxigênio. Átomos em metais e suas ligas são organizados de maneira muito ordenada. Os fluidos dos tecidos corporais proporcionam um ambiente agressivo para implantes metálicos, pois contêm elementos reativos no organismo. Além disso, diferentes partes do corpo têm diferentes valores de pH e concentrações de oxigênio (TELES, 2021).

O desenvolvimento de biomateriais promove o avanço de estudos sobre a viabilidade e aplicação das pesquisas. Na área médica, seu uso é crescente pois as propriedades que os compõem garantem ao organismo, excelente biocompatibilidade com os tecidos (SILVA et al., 2020). O processo de obtenção na estruturação dos biomateriais se baseia no aperfeiçoamento e investigação de um material já existente ou pela modificação da sua composição química, e de suas características físicas e mecânicas (PIRES et al., 2015).

2.1.1 Propriedades dos biomateriais

Os biomateriais podem ser classificados em categorias distintas, levando em consideração o tipo de interação que promoverá no sistema. Os materiais para uso biológico são devidamente projetados com as especificidades inerentes do organismo. A caracterização das propriedades dos biomateriais se dá por meio de técnicas instrumentais experimentais baseadas na combinação de métodos teóricos e experimentais (MITIĆ et al., 2017). A caracterização estrutural de biomateriais é importante no preparo de scaffolds, biofilmes e biomembranas amplamente

utilizados na bioengenharia. Muitas vezes eles são biodegradáveis e alguns são bioabsorvíveis, o que significa que são eliminados gradualmente do corpo após cumprir sua função (SILVA, 2019).

As aplicações clínicas são definidas mediante o comportamento biológico destes materiais no organismo. A eficiência do biomaterial está na sua biocompatibilidade, propriedades físico-químicas compatíveis com as do tecido que substituirá e propriedades mecânicas adequadas (LEALLI e MEROLLI, 2009). A biocompatibilidade atua na capacidade de interação com os tecidos, ou seja, é a habilidade de um material desencadear uma resposta adequada, numa aplicação específica (PIRES et al., 2015). Os biomateriais devem ter função instantânea após a implantação e ter como peculiaridade a capacidade de integração e remodelação com o organismo.

Nos biomateriais observa-se a formação de uma união direta e firme entre a superfície do material e os tecidos onde é implantado, para que ocorram as interações dentro do meio celular, de modo a favorecer a proliferação e a produção da matriz extracelular natural (SILVA et al., 2020). O equilíbrio adequado entre as características mecânicas e as microestruturais no que diz respeito a porosidade é capaz de garantir a infiltração das células e sua vascularização, tornando-se, fundamental para se obter um projeto útil em bioengenharia (MITIĆ et al., 2017).

Os materiais bioativos utilizados na substituição de tecidos ósseos possuem normalmente em sua composição químicas de Cálcio e Fósforo superficiais, os quais promovem uma ligação físico-química com o tecido ósseo envolvente (SILVA et al., 2020). É importante estabelecer uma justificativa sobre o tamanho do poro, sendo suficientemente grande para permitir a migração da célula para a estrutura, porém deve ser pequeno o suficiente para determinar sua alta especificidade, capaz de reduzir a densidade do ligante para valores adequados de ligação das células as biomembranas (LEALLI e MEROLLI, 2009).

2.2 COMPÓSITOS: FORMULAÇÃO E APLICAÇÃO DAS BIOMEMBRANAS

Um material compósito é a combinação de materiais que pertencem a classes diferentes, focando na obtenção de melhores propriedades e desempenho. Podendo ser classificados em dois tipos: matriz e reforço. A matriz por sua vez pode conter cerâmica, polímeros e metais, os quais conferem ao material propriedades mecânicas, físicas e químicas. A fase dispersa ou reforço, geralmente se enquadra em materiais bioativos, fibrosos ou particulados que servem como agentes que visam potencializar o desempenho do biomaterial, através de interação favorável entre implante e tecido vivo por meio da interface, adesão e proliferação celular (PIRES et al., 2015).

O desenvolvimento de biocompósitos vem promovendo grandes avanços no ramo da engenharia de tecido, tais pesquisas envolvem composições de diferentes concentrações permitindo uma maior especificidade para reagir no organismo (RIBEIRO, 2020). As biomembranas como materiais compósitos têm sido amplamente utilizadas como dispositivos médicos, devido

sua maior biodegradabilidade e eficiência na atuação no organismo, pois a incorporação de materiais de diferentes classes na matriz polimérica, incorpora mais funcionalidades favorecendo o mecanismo reacional dentro do tecido (LOPES, 2017).

A estrutura de um biomaterial para regeneração óssea é fator chave para uso clínico. Os estudos com materiais visando a regeneração são progressivos e visam preencher todos os requisitos com condições ideais para uso, Muñoz et al., (2019), comparou a resposta tecidual subcutânea de hidroxiapatita comercial e da obtida da diáfise do fêmur bovino inserida no biomaterial com diferentes concentrações de nitrato de zinco hexa-hidratado. Os estudos de Brassolatti et al., (2021) avaliaram o comportamento de dois tipos distintos de biomaterial, direcionado aos aspectos morfológicos em defeitos ósseos. A formulação das biomembranas promoveram respostas biológicas necessárias para a regeneração óssea.

A ligação microestrutural entre os sistemas biológicos apatita-colágeno é a base para o desenvolvimento de compósitos com a finalidade de substituir tecidos ósseos. Os compósitos de matriz polimérica, contendo partículas de componentes bioativos, apresentam-se como excelentes candidatos para promover a regeneração e substituição óssea (PIRES et al., 2015). A utilização de biomateriais no reparo de partes danificadas do tecido ósseo tem revolucionado a ortopedia, Moreira et al., (2012) analisou as propriedades biomecânicas de blendas poliméricas, obtidas a partir de um polissacarídeo, o compósito demonstrou ação efetiva no preenchimento de defeitos ósseos.

2.2.1 Blenda Polimérica

As blendas poliméricas constituem dois ou mais polímeros. A mistura entre os polímeros traz a possibilidade do melhoramento das propriedades físicas e biológicas por meio das interações químicas entre os polímeros envolvidos (SOUSA et al., 2012). Misturas ou blendas tratam-se de uma abordagem que representa uma das áreas com mais rápido crescimento na ciência dos polímeros e têm como objetivo obter características novas através da combinação de propriedades de polímeros distintos (OLIVEIRA et al., 2019).

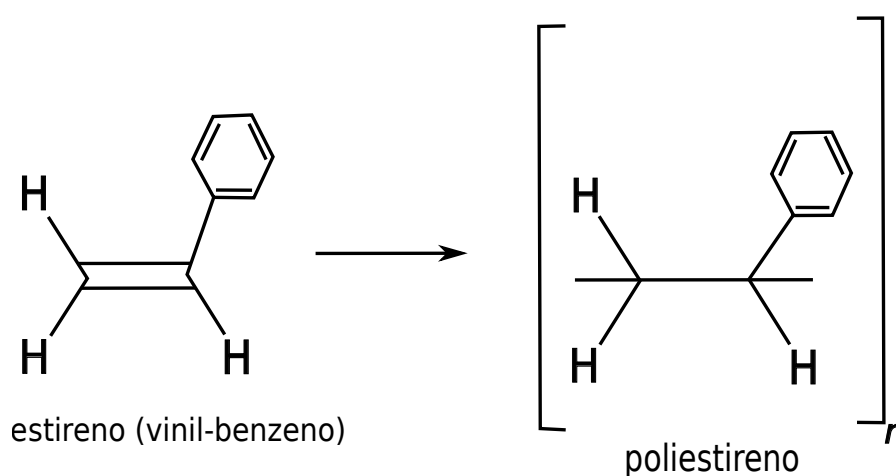
Os polímeros sintéticos apresentam grande estabilidade e afinidade com os componentes celulares e ainda uma elevada resistência mecânica. Estes polímeros exibem propriedades que podem ser reproduzidas a nível molecular e a sua taxa de degradação pode ser alterada, para atender a requisitos específicos de aplicações diferentes (SOFIA e BATISTA, 2013). O desenvolvimento de blendas poliméricas na obtenção de biomembranas é devido sua relativa facilidade de obtenção de novos materiais com características desejadas, com custo relativamente baixo pela combinação de propriedades de interesse dos polímeros utilizados.

Os constituintes poliméricos são largamente utilizados na indústria médica por contribuir em especial na área de implantes devido a facilidade do manuseio. Baixa densidade e boa biocompatibilidade. O polietileno, poliuretano, polimetilmetacrilato de metila e politetrafluoretileno, são notoriamente usados na indústria (MOREIRA et al., 2012).

2.2.1.1 Poliestireno (PS)

O processo de obtenção do poliestireno se dá por meio da reação de polimerização, onde os monômeros reagem entre si, de modo a combinar suas moléculas, estruturando moléculas maiores as quais são definidas pela repetição de uma unidade básica (figura 1). O monômero para a produção do PS, é o estireno, trata-se de um hidrocarboneto aromático de fórmula molecular $-C_8H_8-$ (PEREIRA et al., 2020). Sua estrutura química proporciona rigidez ao composto devido a presença de anéis aromáticos em suas cadeias laterais, classificando como polímero vítreo (MORAES et al., 2014).

Figura 2 – Reação de polimerização para obtenção do poliestireno (PS).



Fonte: PEREIRA et al., (2020), com adaptações.

O poliestireno é um polímero do tipo não biodegradável, tem natureza hidrofóbica e estrutura semicristalina. Sua atuação na área médica é devida sua versatilidade além de possuir um baixo custo de produção (SANTOS et al., 2010). Podendo ser usado como plastificante na obtenção de biomembranas, o poliestireno usado como uma substância incorporada tem propriedades de melhoramento da flexibilidade do material e de sua funcionalidade.

Tratando-se de uma resina termoplástica, o poliestireno é fusível e reciclável, formado através dos mecanismos de polimerização por adição do monômero estireno (CANEVAROLO, 2002). O referido polímero tem atraído grande interesse na ciência dos polímeros por causa do seu processamento e excelentes propriedades, tais como resistência térmica, baixa densidade, excelente durabilidade mecânica e conveniência de processamento e moldagem (MANSOUR, 2013).

A desvantagem do poliestireno é ser pouco resistente a impactos, para aumentar sua utilidade e visando melhorar suas características, são incorporados outros polímeros de natureza natural ou sintética em sua estrutura (SOUSA, 2021). Uma vez que o grau de plastificação do polímero está diretamente relacionado à estrutura química do plastificante, uma mudança

no tipo e na quantidade irá afetar as propriedades finais dos filmes no desenvolvimento das biomembranas.

As microfibras de poliestireno são citocompatíveis, além disso, não é reabsorvível proporcionando às biomembranas uma superfície eficiente para a infiltração, propagação e proliferação celular (ALVES et al., 2018). O uso de polímeros sintéticos conjugados com outros materiais, promove o melhoramento das propriedades mecânicas e biológicas, aumentando de modo eficiente sua biocompatibilidade e bioatividade (MANSOUR, 2013).

2.2.1.2 Pectina (PEC)

Os polissacarídeos são uma classe de biopolímeros constituídos por monômeros de açúcares simples (SAVI et al., 2017). Os monômeros (monossacarídeos) estão ligados entre si por ligações o-glicosídicas, conferindo aos polissacarídeos a capacidade de formar polímeros lineares e ramificados. Estes polímeros podem ser obtidos de diferentes fontes: microbiana, animal e vegetal (SOFIA e BATISTA, 2013).

Os polissacarídeos têm notoriedade para aplicações na bioengenharia, principalmente devido à sua biodegradabilidade e semelhança com a matriz extracelular, as quais propiciam a adesão celular. Os polímeros naturais são uma das opções mais atraentes, principalmente devido a versatilidade química, por promoverem eficazes interações celulares e excelente biocompatibilidade (NUNES et al., 2017).

Sua principal característica, além de sua abundância e fácil obtenção é a biodegradabilidade, a biocompatibilidade e a atividade biológica. Desse modo, é importante salientar que, muitos polissacarídeos possuem uma série de propriedades reológicas atrativas como, por exemplo, a capacidade de gelificar em certas condições físicas e químicas (SAVI et al., 2017).

A pectina pertence a classe de polímeros biodegradáveis de fonte renovável com grande potencial de aproveitamento, trata-se de um polissacarídeo encontrado na parede celular primária e regiões intercelulares de plantas e frutos. A estrutura química da molécula de pectina define suas propriedades funcionais, em que a presença de ramificações permite a retenção de água do composto (SANTOS et al., 2010). A isto somam-se a facilidade de processamento em formas diversas, tais como filmes, partículas, fibras, cápsulas e a disponibilidade. Sua reatividade se dá pela presença de grupos hidroxilo.

O potencial da pectina, evidencia-se tanto por seu uso isolado como também em misturas com outros polímeros, enquanto biomaterial, abrange a fabricação de scaffolds, revestimentos de superfícies de dispositivos biomédicos e produção de sistemas de liberação controlada de moléculas terapêuticas tem sido bastante usado na produção de sistemas de liberação controlada de fármacos (SCIENA et al., 2017).

A pectina tem sido objeto de estudo, na preparação de sistemas de entrega de fármacos, devido à facilidade com que pode sofrer degradação enzimática (COIMBRA, 2010). Na

regeneração óssea a grande vantagem está na aplicação em implantes ósseos, uma vez que podem ser direcionados fármacos para um local de defeito ósseo, com o objetivo de promover a osteointegração e osteoindução (MOREIRA et al., 2012).

2.2.2 Compostos fitoquímicos e bioativos

O termo fitoquímico, referem-se a compostos encontrados em vegetais que têm efeito ativo na melhora do organismo devido seu mecanismo reacional no meio celular, portanto, os compostos fitoquímicos presentes nos alimentos proporcionam benefícios, tais como, atividades antioxidante e anti-inflamatória. Tais compostos apresentam grande potencial na prevenção de doenças, por neutralizarem a ação dos radicais livres (OLIVEIRA et al., 2020).

A resolução RDC n. 243/2018, define substância bioativa como um nutriente ou não nutriente consumido normalmente como componente de um alimento, o qual possui ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano. Tratando-se dos compostos bioativos, são nutrientes os quais interferem positivamente na saúde (EBERT et al., 2021).

2.2.2.1 *Cúrcuma longa* L. (CUR)

A *Cúrcuma longa* L., faz parte da classe de plantas com porte de arbustos perene endêmico da Índia (SUETH-SANTIAGO et al., 2015). Seus registros estão presentes desde a antiguidade, onde alguns primórdios das civilizações a usavam como especiaria. De acordo com Susana (2018), atualmente encontra-se o Açafrão mais predominantemente como cultivo humano.

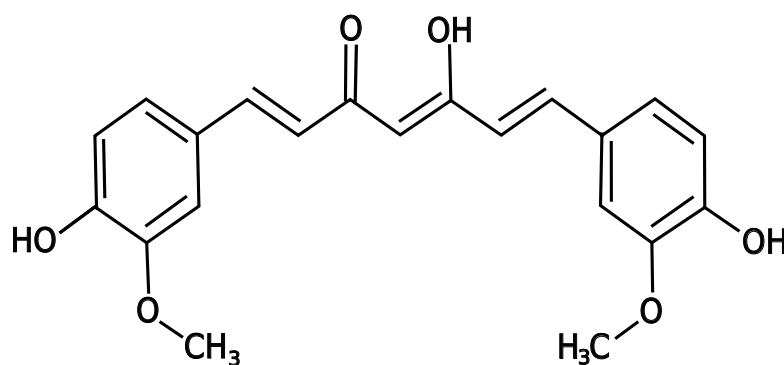
Podendo ser consumido fresco, os rizomas do Açafrão-da-Índia, foram isoladas pela primeira vez há mais de 200 anos, também conhecido como diferuloilmetano, trata-se do pigmento amarelo encontrado no turmérico (SUSANA, 2018). A fim de conservá-lo o rizoma (figura 2) é desidratado e moído, o resultado do processo será um pó dourado, conhecido como também como turmérico, suas aplicações vão desde a culinária, medicina e rituais religiosos (MANIGLIA e TAPIA-BLÁCIDO, 2019).

Figura 3 – Rizomas da *Cúrcuma longa* L.

Fonte: Autoria Própria (2021).

A análise dos componentes presentes na planta através da espectroscopia Raman constatou-se a presença de concentração significativa de curcuminóides na raiz, não detectando a presença da substância no broto (LIMA, 2020). A concentração mais alta da substância do corante foi encontrada no núcleo da raiz da *Cúrcuma longa* L., a parte externa encontrou-se, porém, em menor quantidade.

A principal molécula encontrada no turmerico é o curcuminóide (figura 3). Sendo responsável pela atividade biológica, segundo os estudos de Amalraj et al., (2017), os compostos fenólicos encontrados são essenciais para saúde, proporcionando benefícios para o tratamento de várias patologias, seu mecanismo reativo age diretamente no processo de regeneração do organismo (RIZZI et al., 2017).

Figura 4 – Curcuminóide: Principal componente encontrada na *Cúrcuma longa* L.

Fonte: (AMALRAJ et al., 2017.)

A molécula encontrada na *Cúrcuma longa* L. possui pleiotropia, o que explica a capacidade do curcuminóide em deter vários mecanismos de ação que atuam desde a alteração das atividades enzimáticas, modulação de fatores de desenvolvimento e servindo de cofatores na ação enzimática (PAIVA, 2015).

Pesquisas utilizando o extrato do rizoma identificaram atividade antioxidante devido a concentração na molécula de grupos hidroxilo, sendo, portanto, o β -dicetona e um grupo dicetona, atuando como eliminador ou catalisador da estruturação de radicais hidróxi nas reações dentro da molécula (BOIKESS, 2015; ITOKAWA et al., 2008; AMALRAJ et al., 2017).

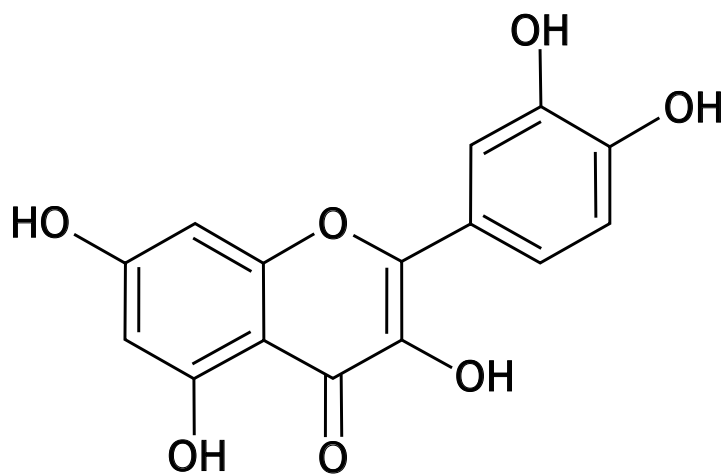
Estruturalmente o curcuminóide exibe um tautomerismo ceto-enólico, como predominância da forma ceto em pH de 3 a 7, possuindo uma estrutura β - dicetona, atuando como potente doador de prótons. Em pH acima de 8 a forma enólica do curcuminóide predomina, atuando como doador de elétrons, assim como a maioria dos antioxidantes fenólicos. É praticamente insolúvel em água. Apresenta solubilidade em etanol, clorofórmio, acetona, acetato de etila dentre outros solventes orgânicos (PAIVA, 2015).

A *Cúrcuma longa* L, é estável em pH ácido, em meio neutro ou alcalino apresenta instabilidade sofrendo rápida degradação hidrolítica. A principal atuação deste composto fenólico no sistema biológico é sua capacidade antioxidante com atividade antitumoral e antimutagênica, inibidor do metabolismo do ácido araquidônico, capaz de induzir apoptose e alterar a expressão gênica, inibindo a atividade do fator de transcrição NF κ B, estimulando a atividade celular (PAIVA, 2015).

2.2.2.2 Quercetina (QUER)

A quercetina possui baixa massa molar estruturada em uma base constituída por dois anéis aromáticos ligados através de um anel pirano (figura 4). Também denominada de 3, 5 ,7, 3'-4'-pentahidroxiflavona é um dos flavonóis mais comuns encontrados em frutos, vegetais e folhas. Atualmente essas moléculas têm atraído o desenvolvimento de muitas pesquisas, devido sua notoriedade em atividades biológicas, físicas, químicas e farmacológica (SIMÕES et al., 2013).

Figura 5 – Estrutura química da quercetina.



Fonte: (VAZ et al., 2020)

A quercetina apresenta atividade antioxidante, protege o DNA, apresentando atividade antitumoral, anticarcinogenica, antiinflamatória e osteointegrativa (BERNARDI et al., 2017). Devido sua estrutura química, a quercetina possui instabilidade dependendo diretamente da variação do pH, sofrendo auto-oxidação em soluções orgânicas e aquosas que apresentam pH superior a 8,0. Em meio ácido, com valores de pH abaixo de 5,0, a quercetina encontra-se neutra ou em forma catiônica. Já acima de pH 4,0 ocorrerá a dissociação dos grupos hidroxila (SILVA, 2011).

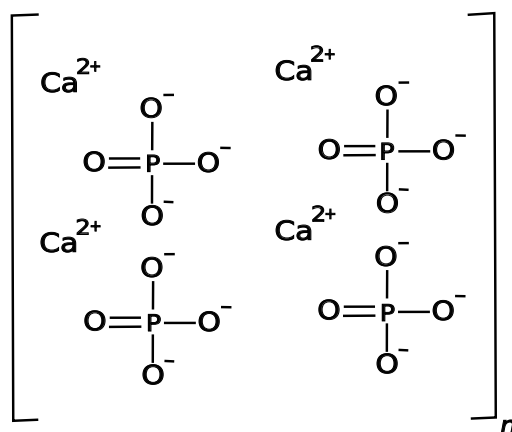
Os flavonóis possuem constituintes biologicamente ativos, os quais auxiliam na promoção e preservação da saúde óssea. Atua diretamente na prevenção da perda óssea quanto na terapia complementar para condições de alto estresse oxidativo ou inflação prolongada. Seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios no sistema esquelético ocorrem por meio de várias vias de sinalização e expressão gênica envolvidos na ativação de enzimas (VAZ et al., 2020).

2.2.2.3 Hidroxiapatita (HAp)

A hidroxiapatita é um componente mineral natural encontrado de maneira abundante no sistema esquelético. Pertence à família das apatitas, termo que define um grupo de compostos os quais possuem estruturas similares, porém não apresentam necessariamente a mesma composição (SOUSA, 2012). Ocorre raramente na natureza com sua estrutura química similar à fluorapatita. Essa similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos faz da hidroxiapatita um dos materiais mais notórios para o uso de biomateriais em regeneração óssea.

A estrutura molecular da hidroxiapatita (figura 5), permite substituições iônicas de Ca^{2+} , PO_4^{3-} e OH^- por outros grupos, tal rearranjo afeta diretamente os parâmetros de rede, morfologia do cristal, cristalinidade, solubilidade, propriedades espectrais de absorção no infravermelho e a estabilidade térmica (ARAÚJO, 2016). A hidroxiapatita é utilizada para envolver materiais metálicos tais como titânio e ligas de titânio, os quais suas propriedades bioativas auxiliam na osseointegração entre metal e osso.

Figura 6 – Estrutura química da hidroxiapatita.



Fonte: (ARAÚJO, 2016).

A integração promovida pelos mecanismos da hidroxiapatita no organismo, impulsiona a proliferação de osteócitos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo que as células não se diferem entre a hidroxiapatita e a superfície óssea, o que indica a notável similaridade química superficial (RIBEIRO, 2007). Sua bioatividade favorece o crescimento e proliferação de células ósseas bem como capacidade osteocondutora. A fixação mecânica de implantes usando a HAp é de 5 a 7 vezes superior à dos implantes sem a aplicação superficial. Sua principal atuação é de preservação do substrato de modo a prevenir seu contato com fluidos biológicos, além disso promover a ancoragem dos tecidos (OLIVEIRA et al., 2019).

Devido à falta de disponibilidade de doadores, rejeições imunogênicas, e restrições causadas por instabilidade mecânica, tornou a forma de obtenção sintética muito atrativa. Suas propriedades biocompatíveis são viáveis para atribuir sua utilização em várias pesquisas principalmente no ramo da regeneração óssea (LIU et al., 2018). A diferença notória entre a hidroxiapatita sintetizada e o mineral ósseo é a alta cristalinidade e a ausência de carbonato. Resultando em uma taxa de biodegradação relativamente menor quando comparada ao mineral ósseo nanocristalino (ARAÚJO, 2016).

2.3 TOXICIDADE

A análise da toxicidade estuda os efeitos nocivos decorrentes de interações de substâncias químicas com o organismo. O agente tóxico é uma substância química capaz de causar dano ao organismo (SILVA, 2013). Tratando-se das biomembranas é interessante que suas propriedades tenham uma resposta favorável de não toxicidade e a biodegradabilidade eficiente, uma vez que a primeira, permite que o organismo degrade o substrato ao passo que ocorre o processo de regeneração e as próprias células do corpo substituam a construção de tecido projetada, contribuindo para a construção e recuperação do tecido. O segundo critério, permite dizer que os subprodutos de sua degradação não devem ser nocivos, podendo ser liberados pelo corpo sem intervenção de outros órgãos (SILVA et al., 2020).

2.3.1 Teste de toxicidade frente à *Artêmia salina*

A *Artêmia salina* é um microcrustáceo, o qual pode ser observado a olho nu, possuem uma ampla distribuição geográfica e habitam ambientes salinos, tais como lagos de sal e lagoas costeiras. Sua principal atuação no meio ambiente, é sua habilidade de filtração, uma vez que bombeiam água do mar de onde selecionam partículas para sua alimentação (KALCÍKOVÁ et al., 2012). O teste em bioensaios preliminares para a determinação de toxicidade, é realizado com os náplios das *Artêmias salina*, sendo considerado tóxico o extrato que induz a mortalidade maior ou igual a 30% (SAGRAMENTO et al., 2014).

A análise de toxicidade, usando as *Artêmia salina* é muito ampla, pois dão resultados satisfatórios para análises de infecciosidade, nutrição, ecotoxicologia e toxicidade. O procedimento experimental é relativamente rápido e de baixo custo, além de não precisar de condições

específicas para manuseio, podendo ser feito em laboratórios de pequeno porte (KALCÍKOVÁ et al., 2012). O teste com este microcrustáceo é usado como rota de triagem inicial de toxicidade in vivo de extratos, frações e compostos refinados, permitindo discriminar amostras de alta toxicidade (RÍOS et al., 2017).

O teste de toxicidade usando as *Artêmias* salinas, segundo os resultados de Hamza et al., (2018), foi favorável para verificar a eficácia de um biotensoativo glicolípido, o referido surfactante atuou como inibidor de biofilme patógeno, seus resultados foram promissores, protegendo a *Artêmias* salinas contra infecções.

Tratando-se de biomembranas e sua eficácia no organismo, Silva (2019) utilizou o extrato de suas biomembranas em diferentes concentrações de polihidroxibutirato/norbixina/hidroxiapatita para que os microcrustáceos ficassem submersos em solução, nesse diz respeito, à contagem das larvas mortas e vivas na determinação de citotoxicidade.

A letalidade das *Artêmias* salina, foi útil na discussão dos resultados de toxicidade, Gonçalves (2019), utilizou o teste para verificação do pó da Hidroxiapatita, nanotubos de carbono e de membranas de polihidroxibutirato e polihidroxibutirato/nanotubos de carbono/hidroxiapatita, fazendo um gráfico da cinética de letalidade das larvas. Nos estudos de Sousa et al., (2021), utilizou-se o teste usando os microcrustáceos para verificação de melhor análise citotóxica de suas membranas de quitosana incorporada com líquido da castanha de caju, comparando com o teste de *Allium Cepa*. A análise preliminar in vitro da citotoxicidade é importante para determinar a concentração em que um composto é capaz de inviabilizar a proliferação celular e analisar a necessidade de ser realizado um teste in vivo ou não, por isso vem sendo frequentemente utilizado na literatura.

3 METODOLOGIA

Para o processamento das biomembranas, foi utilizado a *Cúrcuma longa* L. em pó, a qual foi adquirida em uma farmácia de manipulação. O poliestireno foi cedido de uma indústria. Ambos atuantes na cidade de Teresina-PI. A quercetina foi cedido de uma indústria atuante na cidade de Parnaíba-PI. Devido ao período de pandemia (COVID-19), ressalta-se que foram seguidos os protocolos de segurança em todo o processo para conclusão deste trabalho.

3.1 SÍNTESE E OBTENÇÃO DA HIDROXIAPATITA (HAP)

O processo de síntese foi realizado, segundo a metodologia de Camargo et al., (2014), com adaptações. Portanto, preparou-se uma solução de hidróxido de cálcio, utilizando 18,72 g de Ca(OH)_2 em 500 mL de água destilada. A solução ácida, foi preparada, a partir de 10 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4), em 300 mL de água destilada. Tais volumes, correspondem a proporção de 5:3 entre o Ca(OH)_2 e o H_3PO_4 . A solução do hidróxido de cálcio foi colocada em um béquer de 1000 mL, o qual, foi submetido ao aquecimento e agitação mecânica. A substância foi mantida sob agitação constante em todo o procedimento e maturação.

Visando manter o pH entre 9,5 - 10, gotejou-se uma solução de hidróxido de amônio (NH_4OH) 3M. Após a etapa de maturação, a suspensão foi filtrada desprezando o sobrenadante, a parte sólida foi seca em estufa a 120 °C por 12 horas. A última etapa foi a calcinação à 1100 °C por 2 horas. Durante todo o processo foram mantidas as condições de limpeza e assepsia do local para evitar contaminações no produto obtido.

3.2 PROCESSAMENTO E OBTENÇÃO DAS BIOMEMBRANAS

A formulação das biomembranas foi mediante a incorporação da *Cúrcuma longa* L. (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp) na Blenda polimérica (PS/PEC). A metodologia para obtenção das biomembranas baseou-se no método de evaporação de solvente. A tabela 01 descreve o desenvolvimento das biomembranas em seu processo de obtenção.

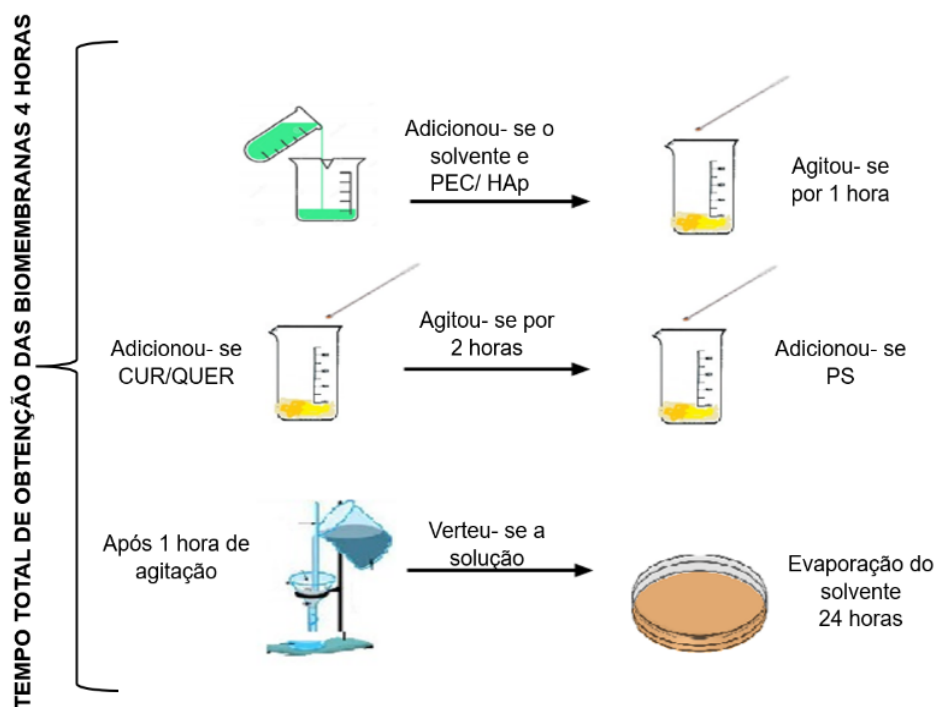
Tabela 1 – Composição das biomembranas *Cúrcuma longa* L. (CUR), quercetina (QUER), hidroxiapatita (HAp) e blenda polimérica: pectina (PEC) e poliestireno (PS) .

BIOMEMBRANA	COMPOSIÇÃO (%)		
	CUR/QUER	HAp	BLENDA
B00	-	-	100
B01	4	-	96
B02	-	5	95
B03	2	3	95
B04	4	3	93

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Para a obtenção das biomembranas, adicionou-se o solvente no béquer e os respectivos materiais sob agitação na mesa agitadora em 90 rpm durante 4 horas no total, visando garantir a solubilização dos componentes. Por fim, a solução das biomembranas foram vertidas em placas de petri para a evaporação do solvente (figura 06).

Figura 7 – Processamento das biomembranas.



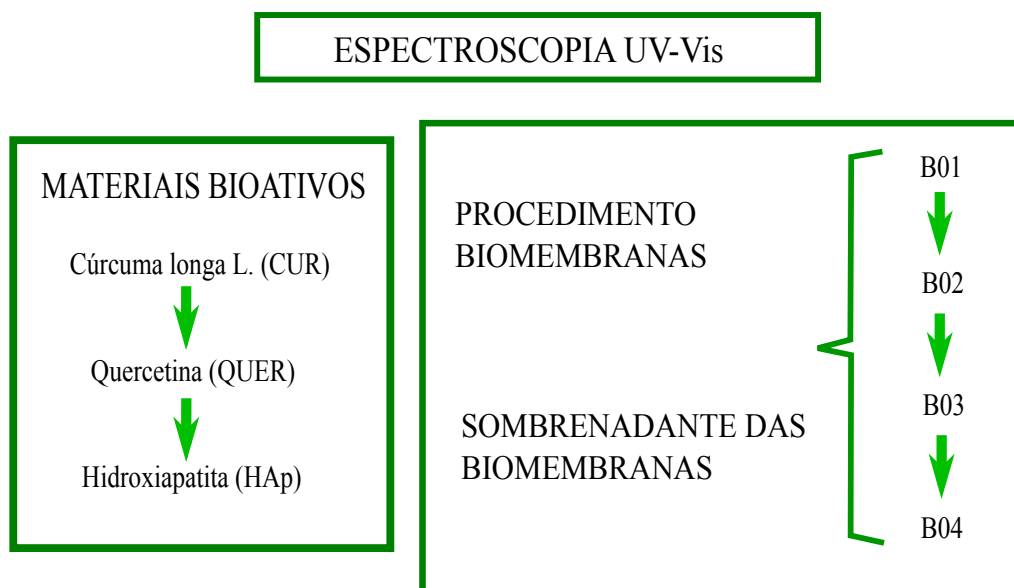
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DAS BIOMEMBRANAS E DAS SOLUÇÕES SOBRENADANTE

3.3.1 Espectroscopia no Ultravioleta Visível (UV-Vis)

Utilizou-se o espectrofotômetro UV-Vis modelo Cary 300. As soluções foram dispersas em cubetas de quartzo com tampa, de 1 cm de caminho óptico. Para a determinação dos espectros, foi utilizado o intervalo de varredura de 240 nm a 600 nm, com tempo de integração de 0,5 segundos. O fluxograma (figura 07) mostra as análises espectroscópicas feitas no equipamento.

Figura 8 – Fluxograma das análises utilizando o UV-Vis.



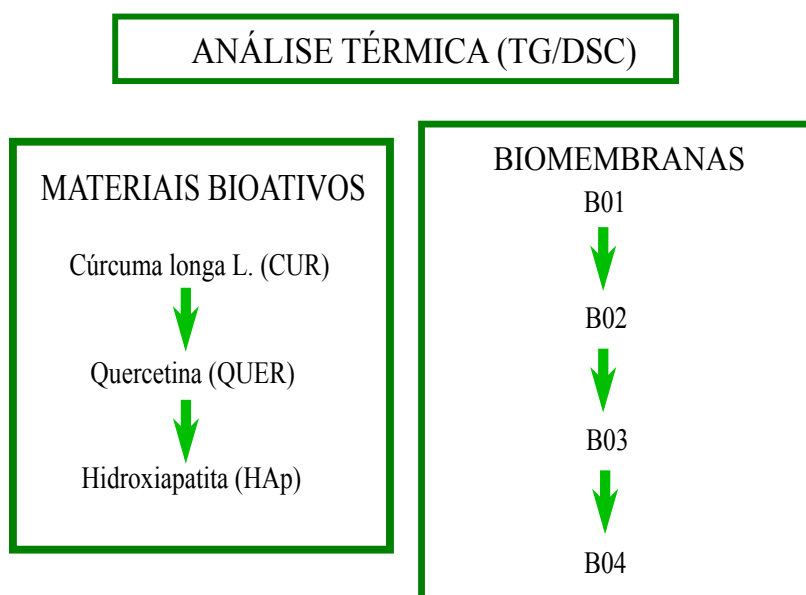
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E DAS BIOMEMBRANAS

3.4.1 Análises térmicas

A avaliação da estabilidade térmica das amostras (figura 08) foi analisada por termogravimetria (TG), e análise calorimetria diferencial exploratória (DSC).

Figura 9 – Fluxograma das Análises Térmicas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

3.4.1.1 Termogravimetria (TG/DTG)

Utilizou-se o equipamento da marca SCHIMADZU®-modelo TGA 51H THERMOGRAVIMETRIC ANALYZER, sob atmosfera de nitrogênio (Fluxo de 50 mL/min) com taxa de aquecimento de 10 °C/min com temperatura de 25 °C a 1200 °C

3.4.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial DSC

A gravimetria derivada foi obtida simultaneamente no aparelho TA INSTRUMENTOS®, marca SHIMADZU, modelo DSC-60 PLUS DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETER. Utilizando a razão de aquecimento de 10 °C/min, no intervalo entre 25 °C a 600 °C, com atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min. As análises realizadas estão organizadas no fluxograma. O equipamento pertence ao Instituto Federal do Piauí-*campus* Teresina Central.

3.4.2 Difratometria de Raio-X (DRX)

3.4.2.1 Difratometria de Raio-X (DRX): materiais bioativos

As amostras dos materiais bioativos foram caracterizadas no equipamento Labx-XRD 600, da Shimadzu, com radiação $Cu - K\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), e ângulo de 2θ no intervalo entre 5° a 75°, com taxa de varredura de 2°/min. O equipamento pertence a Universidade Federal do Piauí-*campus* Ministro Petrônio Portela.

3.4.2.2 Difratometria de Raio-X (DRX): biomembranas

Na caracterização das amostras das biomembranas utilizou-se um difratômetro da Shimadzu® modelo XRD-6000, com um detector de radiação PIXcel/3D. A fonte de radiação de $Cu - K\alpha = 0,154 \text{ nm}$, operando com uma voltagem de 40 kV e com uma corrente de 30 mA. A velocidade adotada de varredura foi de 0,014°/min para valores de 2θ entre 10° e 90° a uma taxa de 2°/min.

3.4.3 Grau de intumescimento (G.I) e grau de absorção das biomembranas (A)

O grau de intumescimento (G.I), e a capacidade de absorção das biomembranas foi obtido por meio da imersão das biomembranas em solução tampão fosfato-salino (PBS) com pH 6,4 a uma temperatura de 37°C.

A análise do grau de intumescimento ocorreu durante 24 horas, de acordo com a metodologia proposta por Wattanutchariya e Changkowchai (2014). Cada biomembrana, foi cortada com dimensões de 1,0cm × 1,0cm. Primeiramente, colocou-as na estufa com 40°C de temperatura, por 12 horas. Antes da imersão, pesou-se as amostras secas e após colocou-as imersas em 30 mL de solução PBS.

O intumescimento foi monitorado até que a massa da amostra pesada alcançasse o equilíbrio. As amostras foram pesadas nos intervalos de tempo de 30 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas e 24 horas. Para realizar as pesagens, as amostras foram removidas da solução e secas ligeiramente em papel absorvente para eliminar o excesso de PBS.

A análise dos dados e verificação do grau de intumescimento foi determinado (em porcentagem) usando a equação (I). Tal que: grau de intumescimento (%) = (massa inicial da amostra) em grama (g), massa intumescida (sendo nos diferentes tempos da amostra) em grama (g).

$$G.I = \frac{\text{massa inicial da amostra} - \text{massa intumescida}}{\text{massa inicial da amostra}} \cdot 100\% \quad (3.1)$$

A análise da capacidade de absorção das biomembranas ocorreu, no total de 144 horas, de acordo com a metodologia proposta por Wattanutchariya & Changkowchai, (2014). Padronizou-se as amostras de acordo com o teste de intumescimento. As amostras foram pesadas nos intervalos de tempo de 30 minutos, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas e 144 horas. Para realizar as pesagens, as amostras foram removidas da solução e secas ligeiramente em papel absorvente para eliminar o excesso de PBS.

Para a discussão dos resultados calculou-se a porcentagem em massa segundo a equação (3.2). Onde: A_{massa} é a porcentagem de absorção para cada amostra, massa após secagem e antes da imersão, em gramas (g) e massa antes da imersão é a massa da amostra, em gramas (g), após a imersão e secagem.

$$A_{(\text{água})} = \frac{\text{massa após imersão} - \text{massa antes da imersão}}{\text{massa antes da imersão}} \cdot 100\% \quad (3.2)$$

3.4.4 Teste de molhabilidade e ângulo de contato

Depositou-se uma gota de 10 μ L de água destilada, formamida e glicerol. As imagens foram captadas com uma microcâmera e como software o Windows Movie Maker. O cálculo do ângulo de contato foi realizado com base na técnica da gota séssil. O ângulo formado pelo líquido foi assistido em intervalos de tempo (t) de 10 segundos em 10 segundos, com início do t = 0 segundos e término t = 60 segundos. O software utilizado para calcular o ângulo de contato foi o Surftens versão DEMO.

3.4.5 Tensão Superficial

Para a determinação da energia livre de superfície, utilizou-se a medida do ângulo de contato com líquidos de teste com tensão superficial conhecida e polaridade diferentes, sendo, portanto, formamida, glicerol e água destilada. Baseando-se no método da média geométrica desenvolvido por Fowkes, realizou-se as medidas da tensão superficial das amostras, a tensão superficial foi calculada usando a equação de Fowkes (equação 3.3).

$$\left(\frac{1 + \cos \theta}{2}\right) x \left(\frac{y_l}{\sqrt{y_l^d}}\right) = \sqrt{y_s^p} x \sqrt{\frac{\sqrt{y_l^p}}{\sqrt{y_l^d}} + \sqrt{y_s^d}} \quad (3.3)$$

Na tabela 02 são apresentados os líquidos com sua respectiva energia superficial-energia líquido-sólido. Através da equação de Fowkes, observa-se a relação linear do cosseno do ângulo com as coordenadas da tensão superficial do líquido com o ar e as coordenadas da tensão da amostra com o líquido-ar, a saber: y_l^d (coordenada dispersiva da tensão superficial do líquido), y_l^p (coordenada polar da tensão superficial do líquido), y_s^d (coordenada dispersiva da tensão superficial do sólido em análise), y_s^p (coordenada polar da tensão superficial do sólido em análise).

Tabela 2 – Energia superficial da água, formamida e glicerol.

Líquidos	$y(\text{mJ/m}^2)$	$y^p(\text{mJ/m}^2)$	$y^d(\text{mJ/m}^2)$
Água	72,8	51,0	21,8
Formamida	58,2	18,7	39,5
Glicerol	63,4	26,2	372

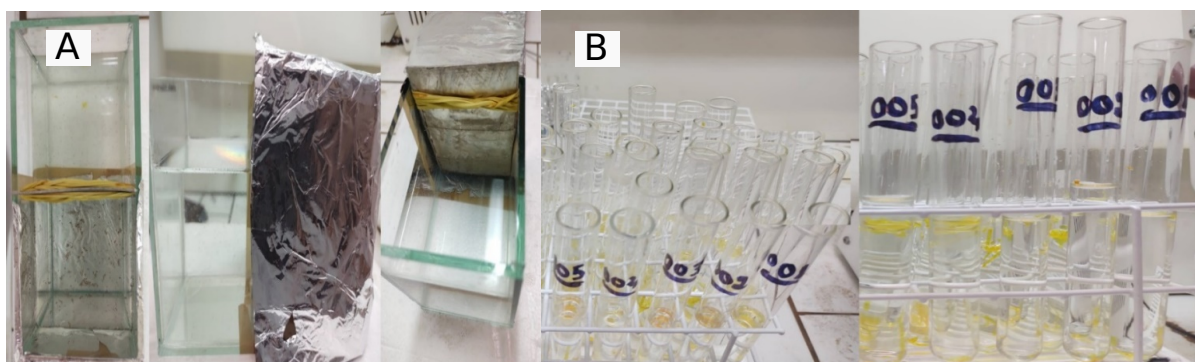
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

3.5 AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADE

3.5.1 Teste de toxicidade frente à *Artêmia salina*

O ensaio de toxicidade frente à *Artêmia salina*, foi realizado conforme McLaughlin et al., (1998), com adaptações. Para eclosão dos ovos, utilizou-se água do mar (pH 8,2). Usou-se um aquário adaptado, para os ovos serem imersos na água do mar, durante 48 horas para eclodir sob iluminação constante (figura 9-A).

Figura 10 – Teste de toxicidade: (A) - Aquário adaptado para eclosão dos ovos das *Artêmias salina* e (B) - Amostras imersas em solução salina para verificação de toxicidade.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

As membranas por serem insolúveis em água, foram picotadas e imersas na água do mar, etanol e CHCl_3 (figura 9-B). As larvas ficaram expostas às soluções das amostras por 24 horas.

As amostras, B00, B01, B02, B03 e B04, foram submetidas ao teste em quintuplicata, como apresenta a figura 10. Em cada tubo de ensaio, usou-se 0,1 mL de DMSO, em 10 mL de água do mar e 10 larvas. Após 24 horas de exposição, foi feita a contagem das larvas vivas e mortas em placas de petri, sendo consideradas vivas todas aquelas que apresentaram qualquer tipo de movimento.

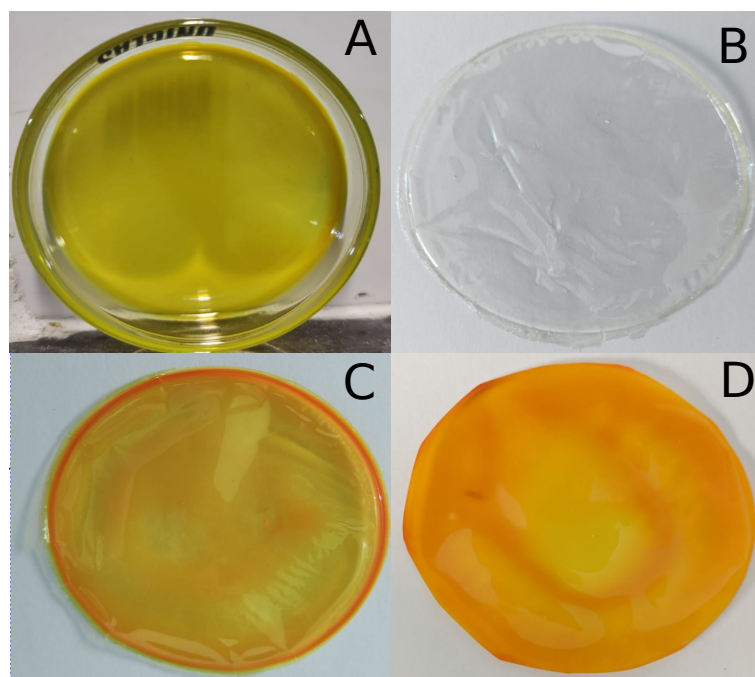
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 OBTENÇÃO DAS BIOMEMBRANAS

As biomembranas foram produzidas mediante a mistura de componentes bioativos (CUR/QUER/HAp/Blenda), pelo método de evaporação de solvente. De acordo com Cobo et al., (2021), a utilização deste método promove excelente morfologia, boa miscibilidade e estabilidade térmica favorável para uso clínico.

Os biocomponentes demonstraram miscibilidade na incorporação com o solvente. As biomembranas (figura 10), apresentaram-se homogêneas, lisas, com ausência de bolhas, não apresentaram rachaduras, capacidade de adesão e hidrofiliidade. Este resultado corrobora com Silva (2019), onde aponta que estas características podem influenciar nas propriedades mecânicas, térmicas e com a permeabilidade do biomaterial.

Figura 11 – Amostras das biomembranas (B01-A), (B02-B), (B03-C) e (B04-D).

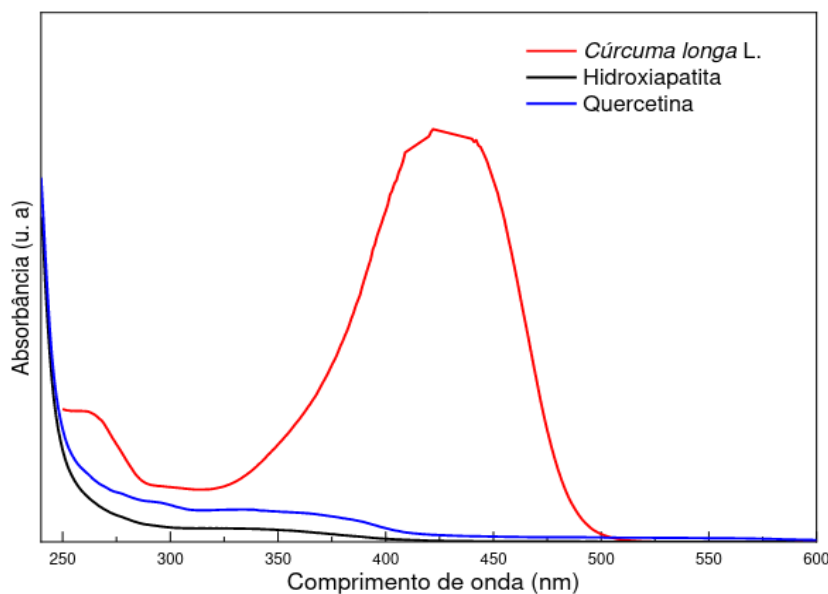


Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

4.2 ESPECTROSCOPIA UV-VIS: COMPOSTOS BIOATIVOS, BIOMEMBRANAS E SOBRENADANTE

O espectro eletrônico da *Cúrcuma longa* L. (CUR), obteve uma banda de alta intensidade na faixa entre 350 nm – 475 nm, com absorção máxima em 420 nm e uma banda de absorção fraca em 262 nm (figura 11). Este resultado corrobora com Dhakal et al., (2016), onde atribui a absorção máxima é devido ao dipolo eletrônico o qual permitiu a excitação do tipo $\pi - \pi^*$ do seu sistema de ressonância.

Figura 12 – Espectros de absorção na região do UV/Vis para a *Cúrcuma longa* L., quercetina e hidroxiapatita.



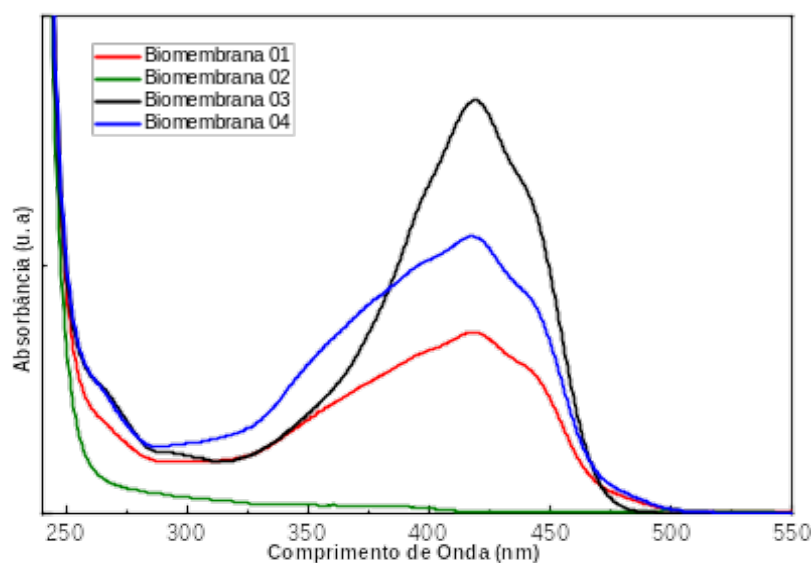
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

O espectro da hidroxiapatita foi observado na faixa entre 400 nm - 300 nm e outra faixa entre 275 nm – 250 nm. Na (figura 12) as biomembranas B02, B03 e B04 mostraram bandas entre 250 nm - 275 nm, evidenciando a presença da HAp. Este resultado está de acordo com Araújo (2010), o qual sintetizou a hidroxiapatita pelo método de precipitação aquosa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e H_3PO_4 com temperatura de calcinação em 1100 °C.

A quercetina apresentou duas bandas características de absorção no UV-Vis. A banda de absorção numa faixa larga entre 300 nm – 400 nm. Outra faixa discreta na banda entre 260 nm – 280 nm. No teste de verificação nos estudos de Bernardi et al., (2017), a quercetina apresenta uma faixa espectral correspondente à porção do sistema conjugado. De acordo com Zhou e Tang (2018) as bandas com picos discretos de absorção correspondem as transições eletrônicas dos anéis do flavonoide, que representam o sistema cinamol e o sistema benzoil.

Referente ao processo de obtenção das biomembranas (figura 12), notou-se as bandas características de cada composto bioativo presente em sua formulação.

Figura 13 – Espectros de absorção na região do UV/Vis para a biomembrana (B01), biomembrana (B02), biomembrana (B03) e biomembrana (B04).

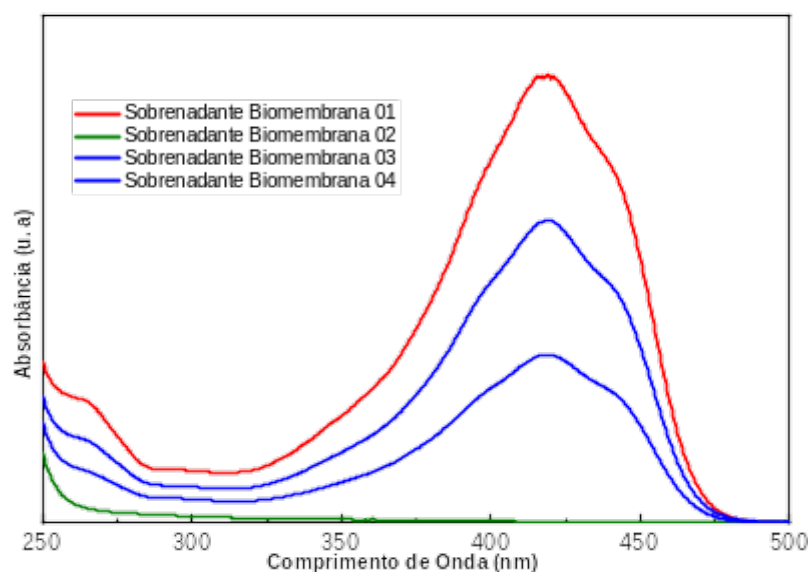


Fonte: Elaborado pelo autor, 2021

Na biomembrana 03 houve um deslocamento da banda larga de absorção máxima. O pico de absorção máximo foi notado em 420 nm correspondente a *Cúrcuma longa* L. A banda de absorção da quercetina manteve-se entre 260 nm - 280 nm. As demais biomembranas B01, B02 e B04 mantiveram a banda máxima de absorção preservadas.

O sobrenadante das amostras, mantiveram as bandas de absorção dos compostos bioativos inalteradas, confirmando a dispersão da biomembrana na solução salina (figura 13).

Figura 14 – Espectros de absorção na região do UV/Vis para os sobrenadantes da biomembrana (B01), biomembrana (B02), biomembrana (B03) e biomembrana (B04).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

4.3 ANÁLISES TÉRMICAS

4.3.1 Termogravimetria (TG/DTG): Compostos bioativos e biomembranas

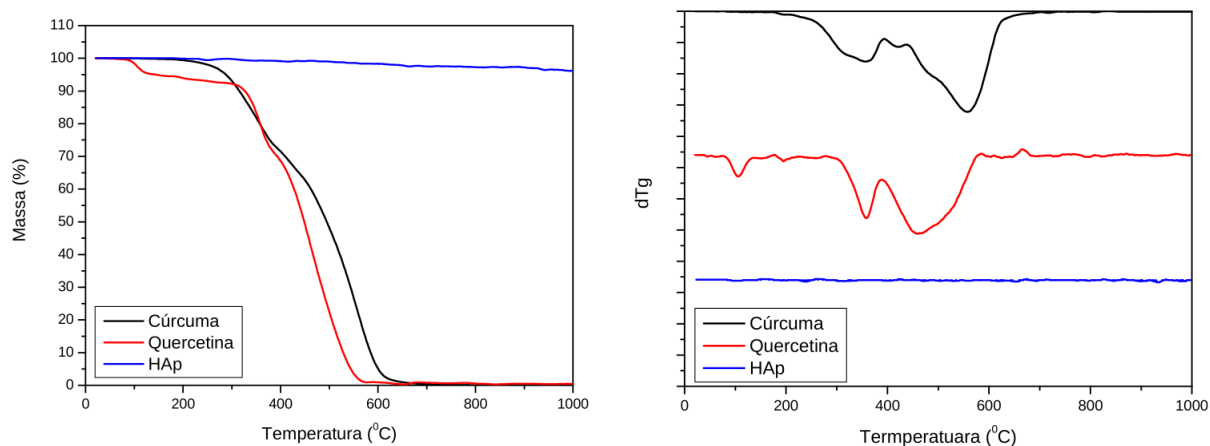
A *Cúrcuma longa* L., permaneceu termicamente estável em torno de 198 °C, e sua total decomposição em 594,6 °C. Tais resultados corroboram com Vaz et al., (2020), onde a *Cúrcuma longa* L. (CUR), permaneceu termicamente estável até 200 °C (figura 14).

Os eventos térmicos para a CUR, de acordo com a DTG ocorreram em três principais eventos de degradação, sendo na faixa entre 184,52 °C a 198,55 °C com perda de massa a 0,24% e o segundo com 25,8% de perda de massa entre 331 °C a 378,4° e o terceiro evento de 525,6 °C a 594,6 °C com 74,3% de perda de massa. Este resultado corrobora com Chen et al., (2014), onde aponta que o primeiro estágio da degradação são reações de desidratação, o segundo evento refere-se a decomposição de grupos substituintes do curcuminoide, e o terceiro evento a decomposição dos anéis benzenos.

A derivada termogravimétrica (DTG) da quercetina de maneira similar a *Cúrcuma longa* L., demonstrou 3 eventos principais de perda de massa (figura 14). Na faixa entre 104,1 °C a 115,5 °C com 4,3% perda de massa, podendo ser atribuído a perda de água na amostra. Outro evento em 350,7 °C a 368,5 °C com 20,4% de perda de massa e o terceiro evento em 470,1°C a 527,3°C, com 77,1% de perda de massa. De acordo com Vaz et al., (2020), os hidratos de quercetina ocorrem devido às ligações de hidrogênio intermoleculares entre as moléculas de água de hidratação do flavonoide.

A hidroxiapatita, apresentou estabilidade térmica confirmado no DTG (figura 14). Na faixa de 250 °C a 450 °C corresponde à transição térmica principal, na faixa de temperatura em 550 °C mostra uma perda de massa contínua, outra perda de massa entre 200 °C – 400 °C é devido a remoção de água da rede. Este resultado está de acordo com Mystiridou et al., 2021, o qual associa à decomposição de íons fosfato de hidrogênio (HPO_4^{-2}) em íons de pirofosfato ($\text{P}_2\text{O}_7^{-4}$). Em 600° a 900° notou-se uma leve perda de massa, de acordo com Santos (2019), esta última perda é atribuída à condensação de grupos hidroxilas com saída de água da HAp.

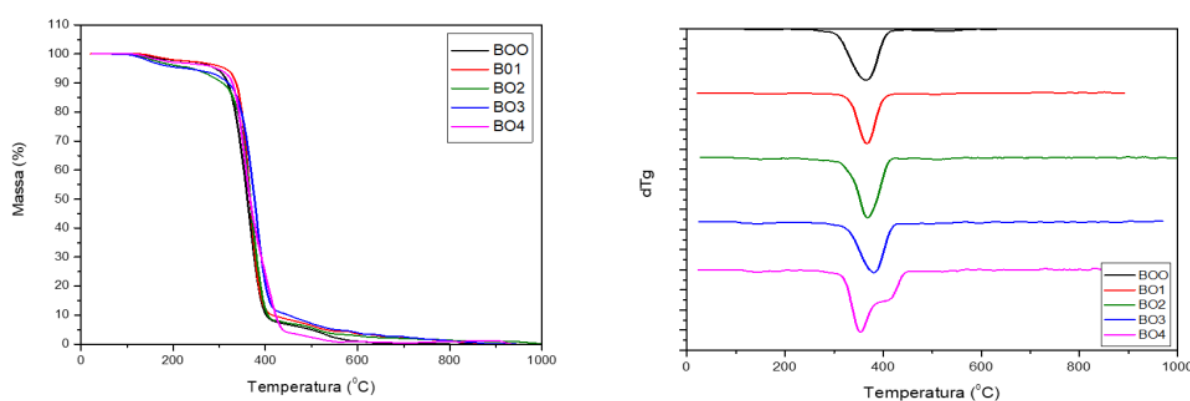
Figura 15 – Curvas TG/DTG da *Cúrcuma longa* L., (CUR), quercetina (QUER) e hidroxiapatita (HAp) em diferentes taxas de aquecimento: (a) TG; (b) DTG.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

As curvas TG/DTG das biomembranas (figura 15): B00, B01, B02, B03 e B04 em diferentes taxas de aquecimento. Os eventos térmicos para a B00, de acordo com a DTG ocorreram em uma etapa principal de degradação. Este resultado corrobora com Jesus et al., 2019 o qual atribuí a degradação principal a quebra de ligações em carbono saturados e insaturados dos polímeros inseridos da blenda polimérica. No termograma a B00 houve 2 perdas graduais de massa, este resultado corrobora com Andreani (2005), onde aponta que as duas perdas graduais correspondem à perda de água e a degradação da blenda (PEC/PS).

Figura 16 – Curvas TG/DTG das biomembranas B00, B01, B02, B03 e B04 em diferentes taxas de aquecimento: (a) TG; (b) DTG.



Fonte: Dados da Pesquisa (2021).

As biomembrana B01, B02 e B03 apresentam perfis de degradação no DTG semelhantes. A B01 apresentou o pico térmico máximo na DTG em 368°C, este resultado condiz com Santos (2019), o qual corresponde ao estágio inicial de decomposição da *Cúrcuma longa* L. A B02, apresentou um pico máximo de degradação em 369 °C, corroborando com Mateus (2017), o qual associa as perdas de massa a partir de 300 °C a eventos de vaporização da água da cristalização

da HAp. A B03, apresentou uma perda de massa de 2,2% de 102 °C a 280 °C. Entre 280 °C e 330 °C há uma leve perda de massa gradual. Em 330 °C a 400°C houve uma perda gradual de 5,7% até 180 °C, a DTG apresenta um pico de degradação máximo em 379°C, o aumento da estabilidade térmica sugeriu-se a incorporação dos compostos bioativos.

A biomembrana B04 apresenta dois picos máximos de degradação no DTG. O pico maior de degradação ocorreu em 352 °C, sugeriu-se que seja devido a degradação do polímero, e o pico de menor intensidade ao processo em 414 °C, corrobora com Santos (2019) o qual atribui a condensação dos grupos hidroxila com saída de água da molécula de HAp.

As biomembranas B03 e B04 tem picos máximos de degradação no DTG diferentes. Sugeriu-se que seja devido a maior concentração de CUR/QUER. Todas as biomembranas analisadas picos máximos de degradação similares entre si. De acordo com Dos e Rigon (2013) e Andreani (2005), os eventos similares de perda de massa em biomembranas caracterizando processos de desidratação, sugere a confirmação da capacidade hidrofílica das biomembranas, bem como caracteriza a miscibilidade entre os biocompostos presentes na amostra.

4.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC): Compostos bioativos e biomembranas

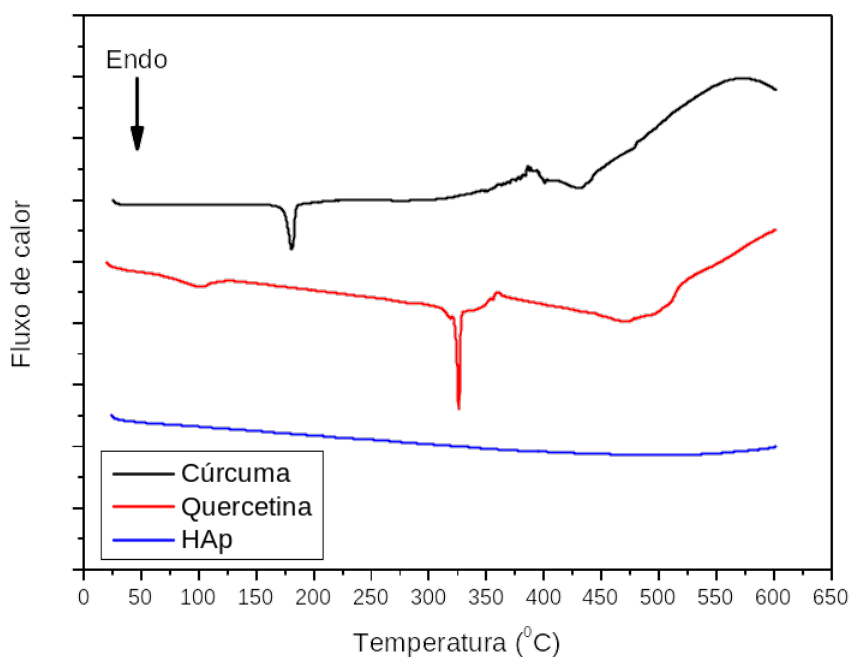
O termograma das curvas de DSC, apresenta dois picos endotérmicos a 145,1 °C e 182,1°C, apresentando um pico agudo endotérmico a 172,74 °C indicando a natureza cristalina do fármaco puro, e um pico exotérmico em aproximadamente 199,5 °C indicando o início de sua decomposição térmica, estes resultados corroboram com as pesquisas de Moura et al., (2020), Yohanna et al., (2015) e Silva et al., (2014). O pico endotérmico em 182,1°C no DSC é atribuído a fusão da CUR.

A quercetina apresentou um pico endotérmico na faixa de temperatura 99°C a 125°C, correspondendo a liberação de água da rede cristalina. Desse modo, a temperatura máxima do pico foi mais alta do que o ponto de ebulição da água, tratando-se da ligação de hidrogênio, as moléculas de água são fortemente retidas pelos cristais de quercetina (VAZ et al., 2020).

O termograma da hidroxiapatita apresentou um pico endotérmico (figura 16), mostra um pico acentuado com a faixa de temperatura em 52,74°C aproximadamente, ocasionado pela perda de água, a qual, fica absorvida na molécula (SOUSA et al., 2012). A remoção de água da amostra é exibida pelo evento endotérmico discreto próximo de 50°C. O evento em 177°C de acordo com Skwarek et al., (2017), é devido a liberação de água quimicamente ligada proveniente da cristalização da hidroxiapatita.

Não houve mudança no pico de entalpia de fusão todos apresentaram pico exotérmico (figura 16). Ambrósio et al., (2009) em seus estudos destacou que não houve observação na redução no pico de fusão, o que seria um forte indicativo de miscibilidade dos componentes das biomembranas.

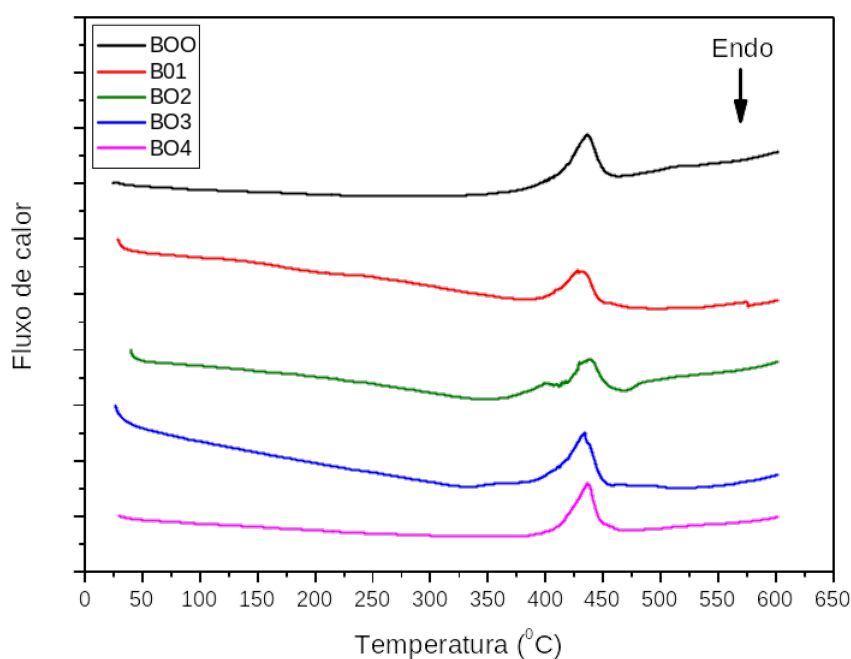
Figura 17 – Curva de DSC da *Cúrcuma longa* L. (CUR), quercetina (QUER) e hidroxiapatita (HAp).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

As biomembranas apresentaram picos exotérmicos (figura 17) na faixa de temperatura de 400 °C a 460 °C, correspondente a degradação dos materiais. Este resultado corrobora com Santos (2018), onde confirma que os picos de degradação estão relacionados com as modificações das cadeias poliméricas devido as reações de despolimerização e decomposição térmica.

Figura 18 – Curva de DSC referente às biomembranas: B00, B01, B02, B03 e B04.



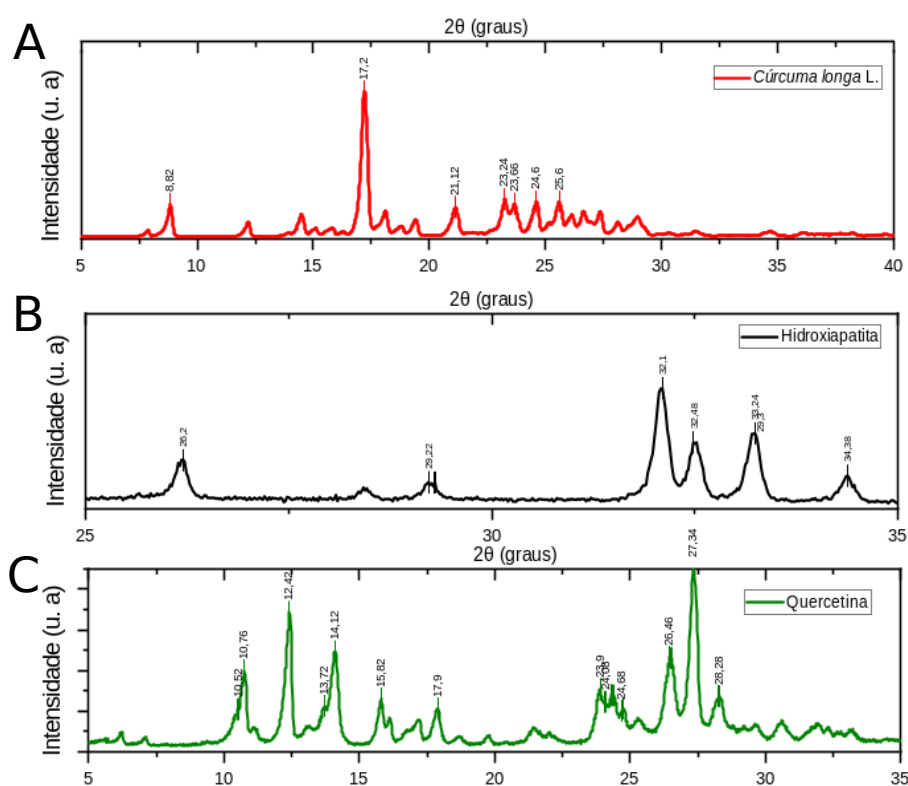
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

4.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

4.4.1 Análise da microestrutura dos componentes bioativos

A estrutura cristalina dos componentes bioativos das biomembranas estão apresentadas na figura 18. O difratograma de raios-X, (figura 18-A) apresenta os picos característicos da *Cúrcuma longa* L. (CUR), os quais, apontam valores no ângulo 2θ em $7,96^\circ$, $8,90^\circ$, $12,26^\circ$, $14,54^\circ$ e $17,24^\circ$. Este resultado corrobora com Singh et al. (2014), o qual aponta para a presença de curcumina na forma cristalina (SINGH et al., 2014).

Figura 19 – Difratograma da *Cúrcuma longa* L. (CUR)-(A), hidroxiapatita (HAp) (B) e quercetina (QUER)- (C).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

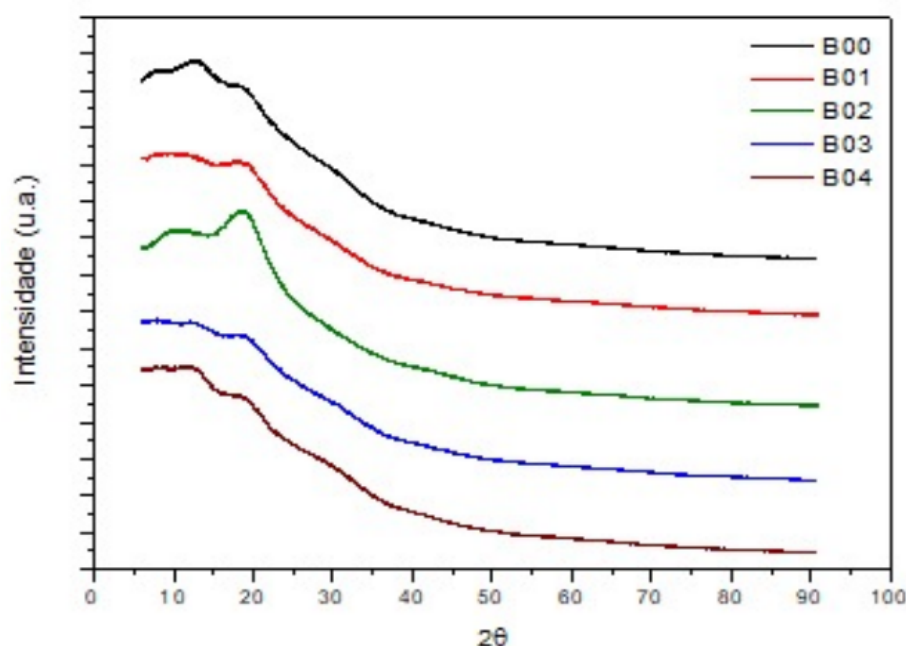
A figura 18-B, expõem os picos característicos referentes a (QUER). Apresentaram com picos em 2θ igual a $14,12^\circ$; $15,82^\circ$; $23,9^\circ$; $24,3^\circ$ e $26,4^\circ$. Este resultado corrobora com Eulálio (2016), onde evidenciou a natureza cristalina deste flavonóide.

De acordo com o difratograma apresentado na figura 18-C observou-se na amostra apenas a fase cristalina da hidroxiapatita, identificado em $25,9^\circ$; $31,6^\circ$; $32,9^\circ$ e $33,9^\circ$. De acordo com a literatura, os referidos ângulos correspondem com às reflexões dos planos (002), (002), (121) e (112) (JEFFERSON et al., 2017).

4.4.2 Análise da microestrutura dos componentes biomembranas

Os índices de cristalinidade das biomembranas: B00, B01, B02, B03 e B04 estão apresentados na figura 19. Comparando com os picos das estruturas dos componentes bioativos das estruturas difratométricas notou-se que os picos correspondentes as biomembranas com os compostos bioativos estão deslocados para ângulos menores. Este resultado corrobora com os estudos de Costa (2014), o qual justifica o deslocamento do ângulo como um indicativo de intercalação do fármaco.

Figura 20 – Difratoograma das biomembranas: (B00), (B01), (B02), (B03) e (B04).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

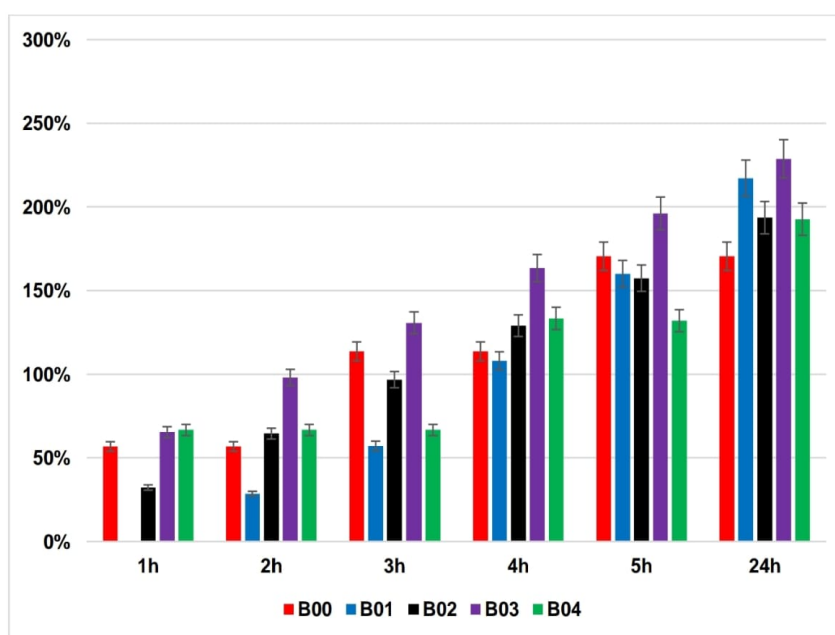
Nas biomembranas incorporadas com os componentes bioativos praticamente não alterou sua estrutura cristalina, em relação a amostra contendo apenas a matriz polimérica. Este resultado corrobora com Pereira (2008), onde em seus estudos notou morfologias difratométricas distintas quando comparados com componentes puros, o que sugeriu que as interações entre os polímeros são suficientes para garantir a miscibilidade do sistema. Devido a impossibilidade de deconvolução dos picos, uma vez que os resultados difratométricos não confirmaram a cristalinidade das misturas, o deslocamento dos picos sugeriu a miscibilidade dos componentes dentro da matriz polimérica (OLIVEIRA, 2018).

4.5 GRAU DE INTUMESCIMENTO (G.I) E GRAU DE ABSORÇÃO DAS BIOMEMBRANAS (A)

Na figura 20 apresenta os resultados do grau de intumescimento (G.I) das biomembranas, imersas na solução PBS. Nota-se que todas as biomembranas apresentaram alta capacidade de

retenção da solução, no intervalo de tempo do teste, pois absorveram mais do que o seu próprio peso, com valores de G.I maiores que 100%. O intumescimento evidencia o mecanismo de liberação, o qual provocará a erosão da matriz polimérica hidrofílica, caracterizando a liberação do componente bioativo no organismo (RODRIGUES, 2016).

Figura 21 – Grau de intumescimento (G.I) das biomembranas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

A biomembrana B00, apresentou um intumescimento inicial de 50% após 1 hora. Em 3 horas de análise observou-se um G.I, acima de 100%. Mantendo-se constante até as 5 horas onde marcou acima de 150%. A viabilidade do uso de blendas poliméricas está diretamente relacionada com a capacidade de absorção que ela promove no sistema matricial. A solubilidade da pectina aumenta com a redução do seu peso molecular (SEIDI et al., 2021).

A B01, apresentou um intumescimento inicial após 2 horas depois do início da análise, com intumescimento de 50%. Em 4 horas de análise o G.I acima de 100%. Marcando 24 horas após o início do teste o grau de intumescimento estava acima de 200%. Em 24 horas de análise marcou a intumescência acima de 200%. Os poros facilitam a permeação e subsequente retenção de água na matriz polimérica. Esta retenção pode ser entendida como consequência do intumescimento no filme, que gera um inchaço no interior da biomembranas (RAYMUNDO, 2017).

Na amostra B02, seu G.I, foi de 50% em 1 horas de análise. Em 2 horas de análise com 105%, constante até 3 horas após o início do teste. De modo que, em 24 horas a B02 apresentou-se superior de 180%. A biomembrana B03, não apresentou G.I em 1 hora de teste. Em 3 horas de análise marcou 140% acima de seu peso, mantendo-se constante. Observou-se em 24 horas que a B03 apresentou o G.I de 220%. Sistemas matriciais hidrofílicos, são caracterizados como solúveis,

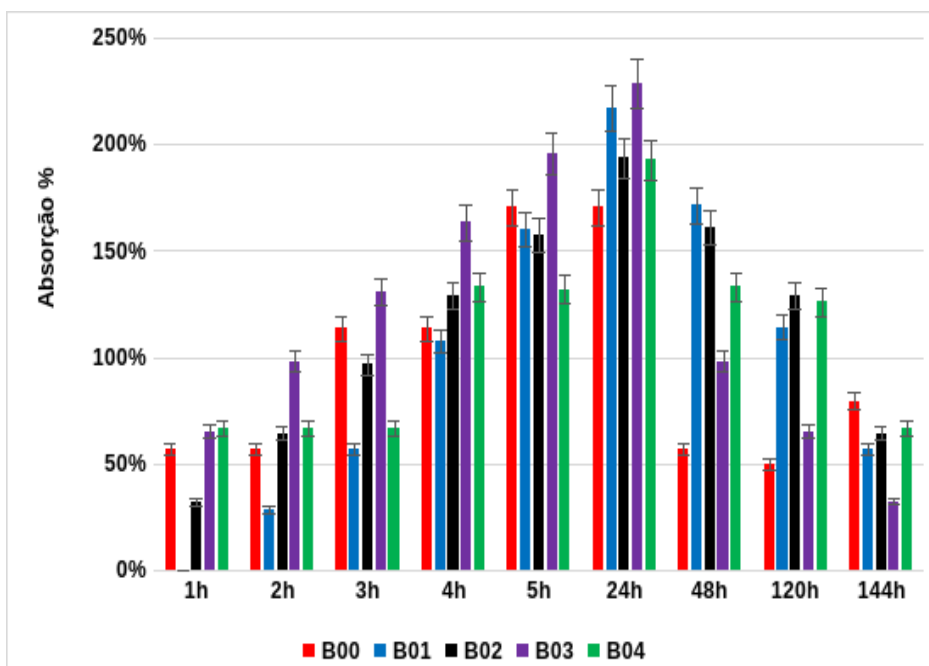
favorecendo a interação da biomembranas no organismo como um bioadesivo (RODRIGUES, 2016)

Na biomembrana B04, o seu G.I em 1 hora de teste foi acima de 50%, mantendo-se constante. Em 4 horas de análise seu intumescimento marcou em torno de 140%. Sua marca de intumescimento em 24 horas apresentou um intumescimento aproximado em 190%. De acordo com Silva (2019), a permeabilidade das biomembranas é influenciada diretamente por sua composição química bioativa.

O teste de absorção de água analisou todo o processo de intumescimento até a perda gradual de massa, averiguando a degradação das biomembranas através da pesagem final. O biomaterial com características bioabsorvíveis e hidroliticamente degradáveis, tendem a serem biocompatíveis por favorecer a hidrólise no organismo (RAYMUNDO, 2017).

A análise foi feita nas cinco biomembranas sendo, portanto, B00, B01, B02, B03 e B04. Os valores obtidos para a perda de massa foram medidos, antes, durante e após a imersão em PBS pH 6,4. Os valores obtidos no intervalo de tempo estipulado para o teste estão dispostos na figura 21, em forma de gráfico.

Figura 22 – Grau de absorção (A) das biomembranas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

As biomembranas B00, B01, B02, B03 e B04 apresentaram características de intumescência até a marca de 24 horas após o início do teste. Após este intervalo de tempo, notou-se a perda gradual de massa das amostras. A absorção de água nas biomembranas foi medida para ver a quantidade que pode ser absorvida, dependendo, portanto, da hidrofilicidade da biomembrana.

A biomembrana B00, diminui o peso em torno de 100% após às 24 horas de observação,

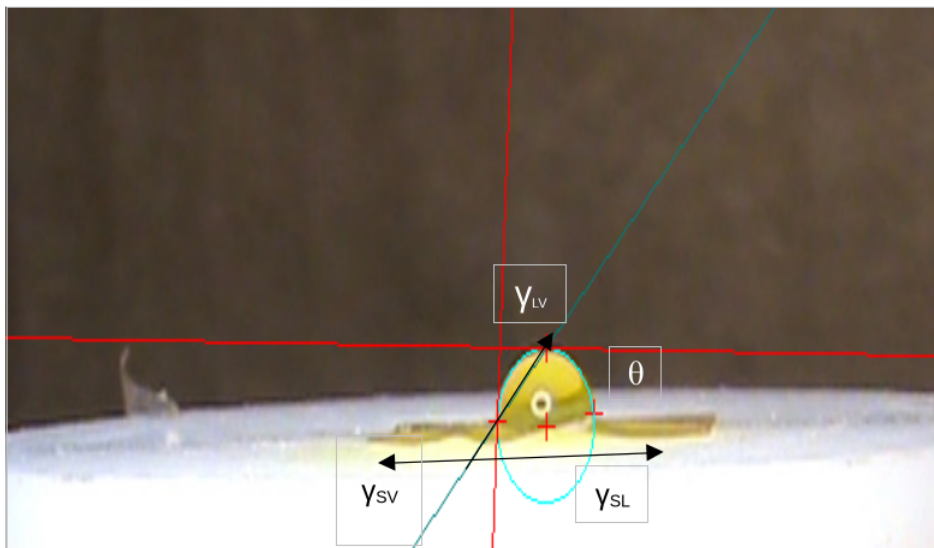
finalizando em 144 horas com 80% acima de seu peso inicial. As biomembranas B02 e B04 em 144 horas de teste apresentaram grau de absorção equiparadas marcando 70% acima de seu peso inicial. De acordo com Bortolin et al., (2012) a porosidade contribui para uma maior retenção de água, a qual faz parte da morfologia das biomembranas.

Na B03, observou-se uma perca progressiva de grau de absorção no intervalo de tempo entre 48 horas a 144 horas, finalizando com 40% acima de seu peso inicial. Fernandes (2009), destacou que as diferentes absorções, é resultado das interações iônicas, as quais, ocorrem na solução de PBS em pH 6,4. Assim, justifica-se que as biomembranas têm afinidade com estruturas polares.

4.6 TESTE DE MOLHABILIDADE E ÂNGULO DE CONTATO

Os resultados observados na análise de molhabilidade estão descritos na figura 22. Nota-se a interação entre a superfície das biomembranas B00, B01, B02, B03 e B04 e a deposição de gota de água destilada, realizou-se as medições em quintuplicata, para obtenção da média dos ângulos de contato (figura 22).

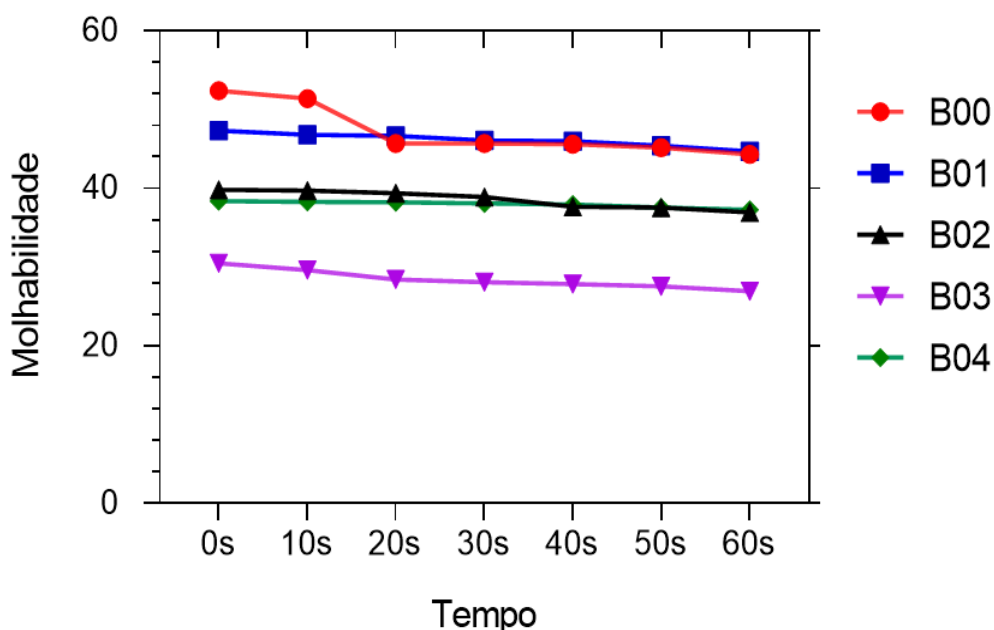
Figura 23 – Ângulo de contato entre uma gota de água destilada e a biomembrana na superfície plana horizontal.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Na figura 23, abrange o gráfico com os dados do contato entre a superfície das biomembranas e o líquido gotejado (água destilada). A afinidade entre o líquido com a amostra, apresenta o grau de penetração e o espalhamento do líquido sobre a biomembrana, formando ângulos diretamente proporcionais em relação ao tempo.

Figura 24 – Ângulo de contato usando água destilada na superfície das biomembranas: B00, B01, B02, B03 e B04.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Notou-se que em todas as amostras, que o ângulo de contato permaneceu menor que 90° , o que indica a hidrofilicidade das biomembranas. A biomembrana B03, apresentou o menor ângulo de contato, o que contribui para uma melhor adesão. Este resultado corrobora com os estudos de Lima e Fernandes (2020), o qual enfatizou que as moléculas da superfície de um sólido são influenciadas por forças moleculares não balanceadas e, portanto, possuem energia adicional, em contraste com as moléculas dentro de um líquido.

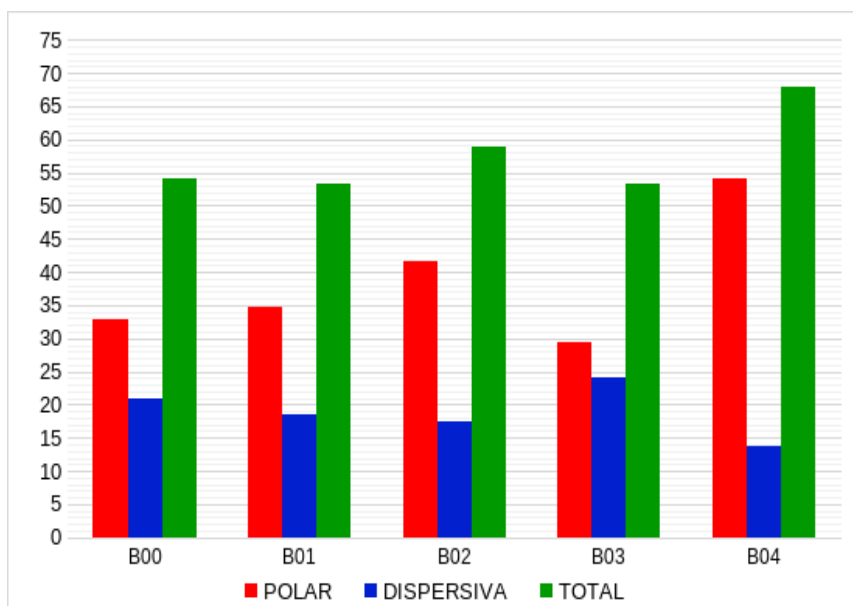
De acordo com, Farias et al., (2011) um dos parâmetros importantes para a biocompatibilidade de um biomaterial é a hidrofilicidade da superfície, o qual contribui com a adesão, desse modo, as membranas puras e incorporadas apontam viabilidade para utilização como biomaterial. Todas as biomembranas apresentadas nesta análise apontam ângulos de contato capazes de favorecer adesão em contato com o organismo, de acordo com Lima e Fernandes (2001), a adesão é definida pela mudança de energia livre quando dois materiais entram em contato.

4.7 TENSÃO SUPERFICIAL

A energia de superfície abrange a interação química que ocorre na superfície. Na figura 24, observa-se no gráfico, a componente polar maior do que a componente dispersiva nas amostras B00, B01, B02, B03 e B04, confirmando a hidrofilicidade das biomembranas. Este resultado corrobora com Sousa (2019) o qual destacou em suas pesquisas que a componente dispersiva quando fica maior que a componente polar está relacionado com o caráter hidrofóbico

o que está diretamente relacionado quando a superfície do sistema tem sempre excesso de energia comparado com seu interior e os átomos superficiais têm energias mais alta que os internos que estão rodeados de vizinhos.

Figura 25 – Tensão superficial.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Somando os componentes dispersivos com os polares, encontra-se a tensão superficial total de cada filme como apresenta a figura 24. Avaliar os índices de tensões de interface entre a biomembrana e fluidos corpóreos são significativos para caracterização de sua compatibilidade com o sistema biológico (SANTOS, 2021). Os níveis de tensão superficial fornecem informações importantes para as biomembranas como dispositivo biomédico. De acordo com Pinto et al., (2019) a componente polar maior do que a componente dispersiva torna os filmes capazes de fornecer melhores níveis de adesão entre substrato e tecido.

4.8 AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADE

4.8.1 Teste de toxicidade

Os compostos bioativos presentes nas biomembranas, são componentes atóxicos, o sobrenadante das amostras submetidas ao teste de citotoxicidade foi analisado para verificação da dispersão da biomembrana em meio aquoso e para avaliar se havia os compostos bioativos presentes na solução salina.

A tabela 3 mostra o número de *Artêmias* salinas vivas. A contagem foi feita mediante a porcentagem em relação ao número controle de microcrustáceos. O teste foi feito em quintuplicata. Os resultados observados referente a taxa de mortalidade para as biomembranas foram, respectivamente, B00 com 2%, B01 com 0%, B02 com 2%, B03 com 2% e B04 com 4% de

mortes em sua totalidade. De acordo com, Sacramento et al. (2014), é considerado tóxico o produto que induz a maior mortalidade ou apresente um percentual igual ou superior a 30%.

Tabela 3 – Porcentagem de *Artêmias* salinas vivas no teste de toxicidade.

	B00		B01		B02		B03		B04	
TUBOS	V	%	V	%	V	%	V	%	V	%
1	10	100	10	100	9	90	10	100	8	100
2	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
3	9	90	10	100	10	100	9	90	10	100
4	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
5	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
Total	49	98	50	100	49	98	49	98	48	96

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

A B00, a qual compõem-se apenas da matriz polimérica, houve 2% de morte em sua totalidade. Santos et al (2010), aponta que a atuação médica com o uso do poliestireno, é devido seu processamento e excelentes propriedades e além disso é inerte e não tóxico ao sistema biológico podendo ser usado como matriz. A pectina, é um polissacarídeo, agindo no organismo como um excelente carreador de fármaco, de acordo com Moreira et al., (2012), o biopolímero não possui toxicidade, podendo atuar em biomembranas com o objetivo de promover a osteointegração e osteoindução.

Na biomembrana B01, não houve mortes, a referida composição é quercetina e *Cúrcuma longa* L. De acordo com os estudos de Filho et al., (2009), usando o extrato de *Cúrcuma longa* L., as concentrações testadas do extrato não mostraram letalidade frente a *Artêmia* salina. A quercetina não apresentou toxicidade frente ao microcrustáceo nas concentrações apontadas na pesquisa entre 8 a 80 $\mu\text{g/ml}$, não foram testadas concentrações maiores devido à baixa solubilidade dos extratos (BARREIROS, 2005) e (SALGUEIRO et al., 2016).

As biomembranas B02, B03 e B04 contém hidroxiapatita em sua composição, e a taxa de morte foram abaixo de 5% em sua totalidade. Gonçalves (2019) analisou a citotoxicidade da hidroxiapatita, ela apresentou ausência de toxicidade in vitro.

As biomembranas apresentaram caráter não tóxico. De acordo com Freire et al., (2018), o ensaio de letalidade de *Artêmia* salina é utilizado em estudos de novas moléculas bioativas, uma vez que são compostos tóxicos as larvas e este teste preliminar além de rápido, confiável é simples na determinação da bioatividade dos compostos.

Estudos de Filho et al., (2009), usando o extrato de *Cúrcuma longa* L., não mostraram letalidade frente a *Artêmia* salina. A quercetina não apresentou toxicidade frente ao microcrustáceo nas concentrações apontadas na pesquisa entre 8 a 80 $\mu\text{g/ml}$, não foram testadas concentrações maiores devido à baixa solubilidade dos extratos (SALGUEIRO et al., 2016). Sobre a toxicidade da hidroxiapatita, Gonçalves (2019) apontou que em suas análises houve ausência de toxicidade in vitro.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta pesquisa, as cinco biomembranas desenvolvidas, apresentaram características homogêneas, lisas, com ausência de bolhas, e não apresentaram rachaduras.

Na espectroscopia UV-Vis: Os compostos bioativos foram caracterizados eficazmente pela obtenção das bandas no gráfico de absorção, para a *Cúrcuma longa* L. (CUR), obteve uma banda de alta intensidade na faixa entre 350 nm – 475 nm, com absorção máxima em 420nm, o espectro da hidroxiapatita foi observado na faixa entre 400 - 300 nm e outra faixa entre 275 nm – 250 nm, a quercetina apresentou duas bandas características de absorção, sendo uma absorção numa faixa larga entre 300 - 400 nm e outra com uma faixa discreta na banda entre 260 nm - 280 nm.

Referente ao processo de obtenção das biomembranas notou-se a banda característica de cada biocomposto, o que denota, que não houve reação química entre os componentes envolvidos, mantendo-se, portanto os compostos fitoquímicos e bioativos preservados na formulação da biomembranas.

O sobrenadante das amostras submetidas ao teste de citotoxicidade verificou a dispersão da referida biomembranas em meio aquoso, confirmando a presença dos biocompostos em solução.

A termogravimetria, gravimetria e difração de Raio-X da QUER, CUR e HAp, evidenciou características intrínsecas confirmando, portanto, a pureza dos referidos componentes como, destes compostos bioativos, fitoquímicos e biocerâmica.

Nas análises das biomembranas termogravimetria apontou uma maior estabilidade térmica da biomembranas B04. Na gravimetria notou-se que não houve mudança no pico de entalpia de fusão, visto que todas as biomembranas apresentaram pico exotérmico, sendo um forte indicativo de miscibilidade dos componentes da biomembranas.

Os testes bioativos confirmaram a atoxicidade das biomembranas bem como sua capacidade hidrofílica.

No grau de intumescimento a biomembranas B03 apresentou uma estabilidade maior, por demonstrar um G.I de quase 220% em 24h.

No grau de absorção a biomembranas B03 foi a amostra que houve um maior decréscimo de massa no intervalo entre 24h – 48h, mantendo sua perda de massa progressiva até o final do teste em 144h. Observou-se a biomembranas B04 uma perda de massa constante e progressiva, apresentando uma maior estabilidade em sua degradação. O ângulo de molhamento foi menor do que 90° indicando que o material obtido é hidrofílico. Tal fato ajuda a explicar que a absorção de água na biomembranas não é apenas devido a porosidade do biomaterial, mas também deve-se a natureza química da blenda polimérica.

Todas as biomembranas (B01, B02, B03 e B04) analisadas demonstraram potencial eficiente como biomaterial. Porém, notou-se um destaque nos resultados de caracterização da B04, visto que além de apresentar atoxicidade, hidrofiliabilidade, também demonstrou notoriamente, estabilidade térmica e estabilidade de degradação como apontou o teste de absorção. Na tensão superficial todas as biomembranas apresentaram capacidades de adesão.

REFERÊNCIAS

- ALVES, T. et al. **Formulation and evaluation of thermoresponsive polymeric blend as a vaginal controlled delivery system.** Journal of Sol-Gel Science and Technology, 536–552. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10971-018-4662-6>>. Citado na página 21.
- AMALRAJ A., J. S. et al. **Preparation of a novel bioavailable curcuminoid formulation (cureittm) using Polar-Nonpolar-Sandwich (PNS) technology and its characterization and applications.** Materials Science and Engineering c, 75, 359–367. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.068>>. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 24.
- AMBRÓSIO, J. D. et al. **Caracterização térmica via dsc de blendas PBT/ABS/MGE em função das condições de processamento em extrusora com rosca dupla co-rotacional.** Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros, 10. 2009. Citado na página 40.
- ARAÚJO, d. T. S. et al. **Phosphates nanoparticles doped with zinc and manganese for sunscreens.** Materials Chemistry and Physics. 1071-1076. 2010. Citado na página 36.
- ARAÚJO, R. d. C. **Hidroxiapatitas organofuncionalizadas como sistemas para biorremediação de corante aniônico.** Dissertação de Mestrado Hidroxiapatitas organofuncionalizadas como sistemas para biorremediação de corante aniônico. 2016. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 26.
- BARREIROS, M. L. **Flavonoides e Terpenoides de três espécies do gênero Erythroxylum e suas atividades biológicas.** Tese de Doutorado. Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia. 2005. Citado na página 49.
- BERNARDI, F.; NICOLINI, K. P.; NICOLINI, J. **Uso de espectroscopia de ultravioleta visível (uv-vis) para a detecção de quercetina em plantas por meio da formação do complexo quercetina-alumínio.** *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, 29(3), 271–276. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.14450/2318%209312.v29.e3.a2017.pp271-276>>. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 36.
- BORTOLIN, A. et al. **Investigação do processo de absorção de água de hidrogéis de polissacarídeo: Efeito da carga iônica, presença de sais, concentrações de monômero e polissacarídeo.** *polímeros*. v. 22, n. 4, p. 311–317, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282012005000046>>. Citado na página 46.
- CAMARGO, C. L. et al. **Síntese de Hidroxiapatita por Precipitação em diferentes temperaturas.** XXIV Congresso Brasileiro de Engenheiro Biomédico. CBEB. 2014. Citado na página 28.
- CHEN Z., X. Y. et al. **Thermal degradation kinetics study of curcumin with nonlinear methods.** Food Chemistry. Science Direct. 2014. Citado na página 38.
- COBO, F. N. et al. **Estudo da miscibilidade de blendas de poli (ácido láctico)/poli (butileno adipato-co-tereftalato) preparadas pelo método de evaporação de solvente.** *Revista Matéria*. ISSN 15-17-7076. 2021. Citado na página 14.

COIMBRA, P. M. A. **Preparação e caracterização de sistemas de libertação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural**. Tese de Doutorado em Engenharia Química. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. 2010. Citado na página 21.

COSTA M., S. S. O. L. et al. **Análise das propriedades térmicas e mecânicas de estruturas tridimensionais de quitosana com a inclusão do fármaco curcumina**. Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Campina Grande Rua Aprígio Veloso, 882, Bodocongó, cep 58109-970, Campina Grande – Paraíba. 7469–7479. 2014. Citado na página 43.

DHAKAL, S.; CHAO, K.; SGMIDT W. QIN, J. K. M. C. D. **Evoluation of Turmeric powder adulterated with metanil yellow using FT-Rmam and FTIR Spectroscopy**. Foods. 2016. Citado na página 35.

DOS, G.; RIGON, R. **Matrizes de compósitos de PLDLA com hidroxiapatita obtidas por rotofiação para utilização em engenharia tecidual**. 2013. Citado na página 40.

EBERT, E. F. et al. **Capuchinha (*tropaeolum majus*) compostos bioativos e sua funcionalidade no organismo**. Research, Society and Development, v. 10, n. 16, e05101622623. 2021. Citado na página 22.

FARIAS, M. G.; LIMA, R. F. M. d.; CARVALHO, C. W. P. d. **Efeito do ângulo de contato e atividade de água em filmes de amido com polpa de fruta**. III Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita. SPC. 2011. Citado na página 47.

FILHO, C. R. M. d. S. et al. **Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata***. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2009. Citado na página 49.

FREIRE, F. E. C. et al. **Inhibitory activity of 3,4,5-tris(acetyloxy)benzoic acid against bacterial biofilms formation**. Revista Virtual de Química, 10(4), 767–777. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180056>>. Citado na página 49.

GONÇALVES, L. d. S. **Análise e aplicabilidade de um compósito a base de hidroxiapatita, nanotubos de carbono e polihidroxibutirato**. Dissertação. Instituto Federal do Piauí. 2019. Citado na página 49.

HAMZA, F.; KUMAR, A. R.; ZINJARDE, S. **Coculture induced improved production of biosurfactant by *Staphylococcus lentus* SZ2: Role in protecting *Artemia salina* against *vibrio harveyi***. Enzyme and Microbial Technology, 114 (March), 33–39. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.03.008>>. Citado na página 27.

JEFFERSON, W.; SOUSA, B. D.; BARBOSA, R. C. **Membranas de polihidroxibutirato com hidroxiapatita para utilização como biomaterial Membranes polyhydroxybutyrate with hydroxyapatite for use as biomaterials**. 2017. Citado na página 42.

JESUS, L. C. C. d. et al. **Thermal properties of recycled polystyrene composite reinforces with cellulose from sugarcane bagasse**. Revista Matéria. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1517-707620190003.0736>>. Citado na página 39.

KALČÍKOVÁ, G.; ZAGORC-KONČAN, J.; GOTVAJN, A. **Artemia salina acute immobilization test: a possible tool for aquatic ecotoxicity assessment**. *Water Science and Technology*, 66(4), 903–908. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2012.271>>. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 27.

LEALLI, P. T.; MEROLLI, A. **Fundamentals of biomaterials. Biomaterials in Hand Surgery**. Springer-Verlag. 2009. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 18.

LIMA, E. B. d. S. et al. **Intervention Protocol of the Orthopedics and Traumatology Department High-Complexity University Hospital**. RBO-REVISTA BRASILEIRA DE ORTOPEDIA. 2020. Citado na página 47.

LIMA, E. O. A. d. **Curcuma longa L.: Uma revisão sobre composição química e atividades biológicas in vitro**. Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia na Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2020. Citado na página 23.

LIU Y., C. K. et al. **Comparative Characterization of Melt Electrospun Fibers and Films Based on PLA-PHB Blends: Diffusion, Drug Release, and Structural Features**. *Macromolecular Symposia*, 381(1), 1–8. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/masy.201800130>>. Citado na página 26.

MANIGLIA, B. C.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. **Structural modification of fiber and starch in turmeric residue by chemical and mechanical treatment for production of biodegradable films**. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 507–516. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.206>>. Citado na página 22.

MANSOUR, S. A. **Study of thermal stabilization for polystyrene / carbon nanocomposites via TG/DSC techniques**. 579–583. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10973-012-2595-9>>. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 21.

MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L. **the use of biological assays to evaluate botanicals**. *drug information journal*, v. 32, p. 513–24, 1998. Citado na página 33.

MINISTRO., M. da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Diretoria Colegiada. Gabinete do. **Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº 243**, de 26 de Julho de 2018. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. 2018. Citado na página 22.

MITIĆ, et al. **Instrumental methods and techniques for structural and physicochemical characterization of biomaterials and bone tissue: A review**. *Materials Science and Engineering C*, 79, 930–949. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.127>>. Citado 2 vezes nas páginas 17 e 18.

MOREIRA, F. K. V.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. **Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends**. *Polymer Bulletin*, 69(5), 561–577. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00289-012-0750-x>>. Citado 3 vezes nas páginas 19, 22 e 49.

MOURA, A. d. et al. **Mechanochemical synthesis , characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative**. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 0123456789, 12–14. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10973-020-10000-w>>. Citado na página 40.

- MYSTIRIDOU, E.; PATSIDIS, A. C.; BOUROPOULOS, N. **Development and characterization of 3D printed multifunctional bioscaffolds based on PLA/PCL/HAp/BaTio₃ composites.** Applied Sciences (Switzerland), 11(9). 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/app11094253>>. Citado na página 38.
- NUNES, R. M. et al. **Avaliação da biocompatibilidade de um polissacarídeo de goma guar comparado a hilano G.F20.** Rev Bras Reumatol. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2017.07.575>>. Citado na página 21.
- OLIVEIRA, P. S.; FERNANDO, L.; JUNIOR, R. **Obtenção de scaffolds bioabsorvíveis a partir de blenda de PLGA e IR com adição de hidroxiapatita Obtaining bioabsorbable scaffolds from PLGA and IR blend with the addition of hydroxyapatite.** 2019. Citado 3 vezes nas páginas 16, 19 e 26.
- OLIVEIRA, R. d. S. et al. **Ação quimiopreventiva dos fitoquímicos por meio da regulação do fator de transcrição Nrf2:** Revisão Integrativa da Literatura. 2020. Citado na página 22.
- PAIVA, N. A. **Citotoxicidade de curcumina presente em nanopartículas de quitosana/sulfato de condroitina contendo lecitina.** Dissertação em Ciências de Materiais da Universidade de Brasília - UnB. 2015. Citado na página 13.
- PEREIRA, A. A. C. et al. **Estudo da solubilidade do Poliestireno (PS) e da Policaprolactona (PCL) em diferentes solventes orgânicos.** Engenharia no Século XXI - Volume 14, 1, 7969–7980. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.36229/978-65-86127-45-4.cap.04>>. Citado na página 20.
- PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, M. **Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado.** Química Nova, 38(7), 957–971. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>>. Citado na página 13.
- RAYMUNDO, A. J. V.; HOEZEL, S. C. S.; VOLKMER, T. M. **Use of eletrospinning technique for the obtainment of poly(- caprolactone) based scaffolds for use in tissue engineering.** Disciplinarum Scientia. v. 2, n. 2, p. 329–339, 2017. Citado 2 vezes nas páginas 44 e 45.
- RIBEIRO, A. A. **Biomateriais: Estudo da deposição de Hidroxiapatita por via polimérica sobre superfície de Ti cp modificado por feixe de laser.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas. São Paulo. 2007. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 16.
- RIZZI, E. S. et al. **Potencial cicatrizante da pomada de Sebastiania hispida (mart.) pax (euphorbiaceae) comparado ao laser de baixa potência.** Brazilian Journal of Biology, 77(3), 480–489. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1519-6984.16115>>. Citado na página 23.
- RODRIGUES, R. R. **Eletrólise e caracterização de Poli 92-hidroxietilmetacrilato contendo curcuminoides.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em materiais para engenharia. UNIFEI. 2016. Citado 2 vezes nas páginas 16 e 44.
- RÍOS, V. et al. **Methods for determining the biocompatibility of dental materials.** Revista Estomatología, 22(2), 7–12. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.25100/re.v22i2.5776>>. Citado na página 27.

- SAGRAMENTO, P. d. A. et al. **Avaliação do extrato da *Zeyheria tuberculosa* na perspectiva de um produto para cicatrização de feridas.** Revista Latino-Americana de Enfermagem, 22(1), 165–172. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0104-1169.3143.2385>>. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 49.
- SALGUEIRO, A. C. F. et al. **In vitro and in silico antioxidant and toxicological activities of *Achyrocline satureioides*.** Journal of Ethnopharmacology, 194, 6–14. 2016. Citado na página 49.
- SANTOS, G. G. d. S.; CAVALCANTI, S. M. O.; MARINHO, F. B. M. **Polímeros como biomateriais para o tecido cartilaginoso** *Polymers as biomaterials for cartilaginous tissue.* Revista de Ciências Médicas e Biológicas, ARTIGO DE REVISÃO 1677–5090, 367–373. 2010. Citado 3 vezes nas páginas 20, 21 e 49.
- SANTOS, L. J. d. C. **Síntese e caracterização de um composto formado por quitosana e extrato de (*Cinnamomum zeylanicum*) com potencial aplicação na regeneração tecidual.** Dissertação de Mestrado. Programa de pós Graduação em Engenharia de Materiais. IFPI. 2021. Citado na página 48.
- SANTOS, V. d. S. **Avaliação e caracterizações de biofilme comestível de carboximetilcelulose contendo *Curcuma longa* e nanopartículas de quitosana.** Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira-UNESP. 2019. Citado 3 vezes nas páginas 38, 39 e 40.
- SAVI P. D. R. S., d. et al. **Análise de Flavonoides Totais Presentes em Algumas Frutas e Hortaliças Convencionais e Orgânicas mais Consumidas na Região Sul do Brasil.** DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde, 12(1), 275–288. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.12957/demetra.2017.22391>>. Citado na página 21.
- SCIENA, C. R. et al. **Aumento da solubilidade da hidroxiapatita a partir do uso de polímeros biodegradáveis à base de amido e pectina.** IX Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. 2017. Citado na página 21.
- SEIDI, F. et al. **Chitosan-based blends for biomedical applications.** International Journal of Biological Macromolecules, 183, 1818–1850. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.003>>. Citado na página 44.
- SILVA, F. M. d. S. e. **Obtenção e caracterização de membranas de PHB/ Bixina/ Hidroxiapatita: Perspectivas de uso como biomaterial para a reparação óssea.** Dissertação. Instituto Federal do Piauí. 2019. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 14.
- SILVA, L. F. C. **Desenvolvimento de Microesferas Lipídicas contendo Quercetina para a Administração Pulmonar Visando o Tratamento de Asma.** Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina. 2011. Citado na página 25.
- SILVA, M. C. d. et al. **Análise das propriedades térmicas e mecânicas de estruturas tridimensionais de quitosana com a inclusão do fármaco curcumina.** 21º CBECIMAT- Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. 2014. Citado na página 40.
- SILVA, S. S. et al. **Biopolymer membranes intissue engineering.** *Biopolymer Membranes and Films.* p. 141–163, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818134-8.00006-7>>. Citado na página 13.

- SIMÕES, V. N. et al. **A. Síntese, caracterização e estudo das propriedades de um novo complexo mononuclear contendo quercetina e íon Ga(III).** *Química Nova*, 36(4), 495–501. 2013. Citado na página 24.
- SINGH, P. K. et al. **From micron to nano-curcumin by sophorolipid co-processing: Highly enhanced bioavailability, fluorescence, and anti-cancer efficacy.** *RSC Advances*, 4(104), 60334–60341. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/c4ra07300b>>. Citado na página 42.
- SKWAREK, E. et al. **Hydroxyapatite composites with multiwalled carbon nanotubes.** *adsorption science and technology*, 35(5–6), 534–544. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/0263617417700637>>. Citado na página 40.
- SOUSA, E. V. d. O. et al. **Caracterização de biomaterial à base de hidroxiapatita e biopolímeros para aplicação biomédica.** ISBN 978-85-62830-10-5. VII connepi. 2012. Citado na página 13.
- SOUSA, M. V. d. S.; PEREIRA T. F., M.; DE. MACÊDO, M. d. O. C. H. R. A. **Análise de testes toxicológicos Artêmia Salina e Allium cepa em membranas de quitosana com líquido da Castanha do Caju (LCC).** *brazilian Journal of Development*. ISSN: 2525-8761. 2021. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 27.
- SUETH-SANTIAGO, V. et al. **Curcumina, o pó dourado do açafrão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas.** *Química Nova*. 2015. Citado na página 22.
- SUSANA, M. C. **Curcumina: propriedades biológicas e aplicações terapêuticas.** Dissertação. Mestrado integrado em ciências farmacêuticas. Universidade de Lisboa. Faculdade de Farmácia. 2018. Citado na página 22.
- TELES, V. J. **Produção de intermediários a partir do reaproveitamento de alumínio e ferro provenientes da indústria de materiais metálicos.** Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de tecnologia, Departamento de Engenharia de Materiais, Natal, RN,. 2021. Citado na página 17.
- VASIF H. NESRIN, H. **Fundamentals of Biomaterials.** Springerlink. ISBN 978-1-4939-8856-3 (eBook). 1ª ed. 2018. XXII, 338 p. 204 illus., em cor. Recurso online. 2018. Citado na página 17.
- VAZ, G. R. et al. **Curcumin and Quercetin-Loaded Nanoemulsions: Physicochemical Compatibility Study and Validation of a Simultaneous Quantification Method.** 2020. Citado na página 13.
- WATTANUTCHARIYA, W. E.; CHANGKOWCHAI, W. **Characterization of porous scaffold from Chitosan-Gelatin/ hydroxyapatite for bone grafting.** *Proceedings of the International Multiconference of Engineers and Computer Scientists*. v. 2, p. 12–14, 2014. Citado na página 31.
- YOHANNA, J.; ELIANE, D. J.; CARVALHO, S. d. **Development and physicochemical properties of extract of morinda citrifolia linn / pectin-based membranes.** 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10973-015-4936-y>>. Citado na página 40.
- ZHOU, Y.; TANG, R. C. **Facile and eco-friendly fabrication of colored and bioactive silk materials using silver nanoparticles synthesized by two flavonoids.** *Polymers*, 10(4). 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/polym10040404.2018>>. Citado na página 36.