

INSTITUTO FEDERAL DE
EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PIAUI



PPGEM

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

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

INGRID ÉLEN BORGES LEAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS PHB/ ALOE VERA/BIXINA
PARA POSSÍVEIS APLICAÇÕES NA REPARAÇÃO TECIDUAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

TERESINA-PI

2019

INGRID ÉLEN BORGES LEAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS PHB/ ALOE VERA/BIXINA
PARA POSSÍVEIS APLICAÇÕES NA REPARAÇÃO TECIDUAL**

Defesa de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, Campus Teresina Central, como requisito para obtenção do título de mestre em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Processamento e caracterização de biomateriais

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Meneses Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Vicente Galber Freitas Viana

TERESINA-PI

2019

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

Leal, Ingrid Élen Borges

L435o Obtenção e caracterização de membranas phb/aloe vera/bixina para possíveis aplicações na reparação tecidual / Ingrid Élen Borges Leal. - 2019. 47 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Instituto Federal do Piauí, Campus Teresina Central, 2019.

Orientador : Prof Dr. Luiz Fernando Mendes Carvalho.

1. Biomaterial. 2. Poli(hidroxibutirato). 3. Aloe vera. Bixina. 4. Cicatrização. I. Título.

CDD - 620.1

Elaborado por Tanize Maria Sales CRB 3/1024

INGRID ÉLEN BORGES LEAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS PHB/ ALOE VERA/BIXINA
PARA POSSÍVEIS APLICAÇÕES NA REPARAÇÃO TECIDUAL**

Defesa de Mestrado apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI, como requisito para obtenção do título de mestre em Engenharia de Materiais.

Aprovado em: _____ de _____ de _____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Fernando Meneses Carvalho
(Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI

Prof. Dr. Vicente Galber Freitas Viana
(Coorientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI
Avaliador interno

Prof. Dr. Márcio Cleto Soares de Moura
Universidade Federal do Piauí - UFPI
Avaliador externo

AGRADECIMENTOS

Além de me propiciar conviver com quão maravilhosas pessoas, compartilhando felicidades, a Deus agradeço, primeiramente, por todas as minhas vitórias.

A minha gratidão eterna aos meus pais, Laura e Leal, que sempre prezaram por uma vida pautada na fé, decência, honestidade, caráter, estudo e família como requisitos indispensáveis para evoluir como pessoa digna.

Aos meus irmãos, Lauro e Emily, pelo companheirismo, carinho, e por serem meus exemplos diários.

A meu noivo, Rodrigo Augusto, por todo amor, incentivo e compreensão.

Aos meus colegas de mestrado, em especial, Francisco Mayron, agradeço não só pelo conhecimento compartilhado, mas, acima de tudo, pela troca de experiências de vida, de ensinamentos.

A meu Orientador, Luiz Fernando, e ao meu Coorientador, Vicente Galber, pela disponibilidade e paciência, além da imprescindível orientação para o desenvolvimento e conclusão dessa pesquisa.

Meu profundo agradecimento a estes que são meus exemplos de vida!

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos”.

Freidrich Niezsche

RESUMO

Biomateriais são substâncias que interagem com sistemas biológicos, para tratar, aumentar ou substituir quaisquer tecidos e/ou órgão que deixaram de ter suas funções, como no processo de cicatrização tecidual. Uma das descobertas mais recentes nessa área é o bipolímero polihidroxibutirato (PHB), fabricado a partir do bagaço da cana-de-açúcar, este pode estar associado a diversos biomateriais, como a Bixina, carotenoide dicarboxílico antioxidante encontrado na espécie *Bixa orellana* L, e a *Aloe vera*, planta de origem africana usada medicinalmente. Objetivou-se preparar membranas de PHB/*Aloe vera*/BIXINA visando uma possível aplicação para auxiliar no processo de cicatrização tecidual. As membranas foram sintetizadas e caracterizadas físico-químicas. Para avaliação da capacidade de absorção das membranas foram submetidas à imersão em água deionizada e solução fisiológica (0,9%). Os ensaios de MEV mostraram a presença de estruturas com aspecto irregular e porosas. Os resultados obtidos por DR-X mostraram picos entre 17,9 a 30,6, sugere que a substância tem característica semicristalina, e os dados obtidos por DSC mostraram que a fusão da bixina ocorre próximo a 200 °C. Quanto à absorção de água e solução fisiológica, a membrana M1, no ensaio de absorção de água, apresentou aumento da massa após 3 horas comparada à massa inicial, e M3, apresentou maior capacidade de absorção de solução fisiológica após 3 horas comparada à massa inicial. Observou-se, ainda, que as membranas apresentaram maior capacidade de absorção e maior degradação em meio à água deionizada.

Palavras-chave: Biomaterial. Poli(hidroxibutirato). *Aloe vera*. Bixina. Cicatrização

ABSTRACT

Biomaterials are substances that interact with biological systems to treat, increase or replace any tissues and / or organs that cease to have their functions, as in the tissue healing process. One of the most recent discoveries in this area is the polyhydroxybutyrate (PHB) bipolymer, made from sugarcane bagasse, which may be associated with several biomaterials, such as Bixina, an antioxidant dicarboxylic carotenoid found in the *Bixa orellana* L species, and Aloe vera, a plant of African origin used medicinally. The objective was to prepare PHB / Aloe vera / BIXINA membranes for a possible application to aid in the tissue healing process. The membranes were synthesized and characterized physico-chemical. To evaluate the absorption capacity of the membranes, they were immersed in deionized water and physiological solution (0.9%). SEM tests showed the presence of irregular and porous structures. The results obtained by DR-X showed peaks between 17.9 and 30.6, suggesting that the substance has a semicrystalline characteristic, and the data obtained by DSC showed that the bixin fusion occurs near 200 °C. As for the water absorption and physiological solution, the M1 membrane in the water absorption test showed an increase in mass after 3 hours compared to the initial mass, and M3 presented a higher capacity of absorption of physiological solution after 3 hours compared to the initial mass. It was also observed that the membranes presented greater capacity of absorption and greater degradation in the middle of the deionized water.

Keywords: Biomaterial. Poly(hydroxybutyrate). *Aloe vera*. Bixin. Healing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1- Constituintes das folhas de <i>Aloe vera</i>	16
Figura 3.2 - Fotos de urucum (<i>Bixa Orellana</i> L): (a) árvore com cachos (frutos maduros); (b) fruto aberto com sementes exposta.....	19
Figura 3.3 - Estrutura da Bixina.....	20
Figura 4.1- Bixina em pó	22
Figura 4.2 - Fluxograma da síntese da Bixina	23
Figura 4.3- Fluxograma da preparação da proporção P100.....	24
Figura 4.4 -Fluxograma da preparação da proporção P50/H50.	24
Figura 4.5 - Preparação das membranas de PHB/ <i>Aloe vera</i> /Bixina.....	25
Figura 5.1 - Cromatograma, obtido por CLAE, do padrão de bixina.....	28
Figura 5.2 – Espectro UV-vis da Bixina diluída em CHCl ₃ (P.A).....	29
Figura 5.3 - Curva de TG da bixina	31
Figura 5.4 - Curva de DSC da bixina.....	32
Figura 5.5 – Membranas de PHB/ <i>Aloe vera</i> /BIXINA: A) P80/B15/A5; B) P70/B20/A10 e C) P60/B25/A15	33
Figura 5.6 – Proporções para controle A) P100 e B) P50B50	33
Figura 5.7 – Microscopia óptica com aumento de 10X das membranas de PHB/ <i>Aloe vera</i> /Bixina: A) P100; B) P50/B50; C) P80/B15/A5 D) P70/B20/A10; E) P60/B25/A15.	34
Figura 5.8 – Morfologia da superfície das amostras: (A) PHB e (B) BIXINA	36
Figura 5.9 - Espectro de difração de raios- X da bixina.....	37
Figura 5.10 - Espectro de difração das membranas de PHB/BIXINA.....	38
Figura 5.11- Espectro de difração das membranas de PHB/ <i>Aloe vera</i> /BIXINA.....	38
Figura 5.12 - Absorção de água nas proporções P100, P50/B50, P80/B15/A5, P70/B20/A15, P60/B25/A15	39
Figura 5.13 - Absorção em solução fisiológica (0,9%) nas membranas com desvio padrão (±DP).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1- Propriedades farmacológicas da <i>Aloe vera</i>	17
Tabela 4.1 - Propriedades físico-químicas e mecânicas do PHB.....	21
Tabela 4.2– Composição das membranas: PHB, Bixina e <i>Aloe vera</i>	23
Tabela 5.1 - Composição Química da bixina pela Espectrometria de Fluorescência de Raios-X - FRX	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	GERAL	12
2.2	ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1	BIOMATERIAIS.....	13
3.2	POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB)	14
3.3	ALOE VERA.....	15
3.4	BIXA ORELLANA L.	18
4	METODOLOGIA	21
4.1	OBTENÇÃO DO POLIHIDROXIBUTIRATO - PHB	21
4.2	OBTENÇÃO DA ALOE VERA	21
4.3	EXTRAÇÃO DA BIXINA.....	21
4.4	PROCESSAMENTO DAS MEMBRANAS	23
4.5	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	25
4.5.1	Microscopia Ótica - MO	25
4.5.2	Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV.....	25
4.5.3	Fluorescência de Raios-X - FRX	26
4.5.4	Difração de Raio-X - DRX	26
4.5.5	Análise Termogravimétrica - TGA	26
4.5.6	Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC	26
4.5.7	Capacidade de Absorção das Membranas.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BIXINA.....	28
5.1.1	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC.....	28
5.1.2	Análise por Espectrofotometria UV/Visível	29
5.1.3	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X – FRX	29
5.2	OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS.....	32
5.3	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS MEMBRANAS	34
5.4	ENSAIOS DE ABSORÇÃO EM ÁGUA E SOLUÇÃO FISIOLÓGICA	39
6	CONCLUSÕES	41
	REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Os avanços alcançados na área da Saúde, aliados à Engenharia e a outros ramos da Ciência, motivados principalmente pelo aumento da expectativa e da qualidade de vida, têm possibilitado o desenvolvimento de técnicas que buscam restabelecer as funções totais ou parciais do órgão e do tecido que sofreu algum tipo de mutilação ou foi acometido por alguma doença (RODRIGUES, 2013).

Oréfice; Pereira; Mansur (2012) enfatiza que essas técnicas devem apresentar maior versatilidade e menor incompatibilidade com os tecidos humanos, oferecendo assim, menor risco aos pacientes após substituição total ou parcial do tecido, sendo os implantes constituídos por biomateriais uma excelente escolha. Os biomateriais têm a capacidade de apresentar uma resposta adequada a uma situação específica. Entretanto, nem todos os materiais são adequados para serem usados com esse desiderato. O material deve ser aceito pelos tecidos que estão próximos e pelas demais partes do corpo, ou seja, deve ser biocompatível, não devendo produzir irritação, infecções ou alergia no organismo humano.

A medicina atual preocupa-se em desenvolver biomateriais tendo como base as plantas medicinais para desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos levando em consideração a necessidade do reconhecimento das terapias populares como parte integrante dos sistemas de saúde (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2011).

No que se refere a estudos científicos, uma das descobertas mais recentes nessa área biomateriais é o bipolímero polihidroxibutirato (PHB), que pode ser fabricado a partir do bagaço da cana-de-açúcar, espécie vegetal largamente cultivada e explorada em todo o Brasil. Este é obtido por meio da ação de bactérias que se alimentam do bagaço e formam dentro de si o polímero ratifica Ramalho (2009). O PHB pode estar associado a diversos biomateriais com propriedades importantes na cicatrização tecidual e reparação óssea, como a Hidroxiapatita, colágeno e bixina (REIS et al., 2012; MONTEIRO et al., 2016; SOUSA et al., 2016a).

A Bixina, um composto extraído do urucum (*Bixaorellana L.*), uma planta nativa da América Tropical, apresenta grande potencial para ser usada em membranas poliméricas biodegradáveis e biocompatíveis, devido às propriedades antioxidante, antimicrobiana e antitumoral (YUSÁ-MARCO et al., 2008; ZHANG; ZHONG, 2013; MUTHUKUMAR et al., 2014; SANTOS et al., 2014). Amplamente utilizada nas comunidades aborígenes do Brasil, já teve diversas das suas funções

terapêuticas comprovadas academicamente, porém são raros os estudos direcionados à cicatrização cutânea.

Assim como a *Bixa orellana* L., a *Aloe vera*, conhecida no Brasil como “babosa”, é usada medicinalmente há muito tempo. Essa planta de origem africana pertence à família das Liliáceas, do gênero *Aloe sp* existem mais de 500 espécies. Embora a *Aloe vera* se origine em clima quente e seco da África, a planta é facilmente adaptável e ocorre naturalmente em todo o mundo. O nome “babosa” foi dado devido à consistência viscosa (baba) da mucilagem de suas folhas. Essa mucilagem, ou gel, conforme os estudos realizados por Bach; Lopes (2007) apresentam princípios ativos ricos em tecidos orgânicos, enzimas, vitaminas, sais minerais e aminoácidos essenciais para o ser humano.

Desta forma, o PHB, BIXINA e *Aloe vera* apresentam características que os apontam como matérias-primas promissoras para produção de um biomaterial capaz de auxiliar no processo cicatricial, proporcionando uma maior qualidade de vida aos pacientes acometidos por alguma lesão tecidual, além de ser um tratamento menos oneroso para o Estado. Tais benefícios influenciarão diretamente nas pesquisas voltadas na melhoria do processo cicatricial e na produção de biomateriais de baixo custo com ações mais abrangentes, dando ênfase à ação conjunta do PHB, *Aloe vera* e BIXINA, tendo em vista que esta é uma interação inédita e pouco explorada no contexto de pesquisas mundiais.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Preparar membranas de PHB/*Aloe vera*/BIXINA visando uma possível aplicação para auxiliar no processo de cicatrização tecidual.

2.2 ESPECÍFICOS

- Obter membranas de PHB/*Aloe vera*/BIXINA em diferentes proporções;
- Realizar caracterizações químicas, térmicas e difração de raios X das membranas obtidas;
- Analisar a absorção dos diferentes tipos de membranas de PHB/ *Aloe vera*/Bixina em solução de água e solução fisiológica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BIOMATERIAIS

Biomateriais são substâncias destinadas a interagir com o sistema biológico. Esses materiais podem ser aplicados na área médica, odontológica, engenharia de tecidos, fármacos, dentre outras, devido à biocompatibilidade e a capacidade de dissolução no interior dos organismos (WRIGHT, 1989; OLIVEIRA et al., 2010; PIRES et al., 2015). SILVA et al.(2010) enfatiza que o somatório de adequadas propriedades físico-químicas, morfológicas, químicas e mecânicas interferem na capacidade de interação com um tecido de origem natural podendo induzir a sua regeneração.

Esses dispositivos resumem-se em qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou não, que não sejam drogas ou fármacos, utilizados em aplicações biomédicas e que interagem com sistemas biológicos, que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (PIRES et al., 2015).

A ciência dos biomateriais tem apresentado grande evolução, graças ao desenvolvimento científico e tecnológico multidisciplinar de diversas áreas como Medicina, Odontologia, Biologia, Engenharia, Física e Química (OLIVEIRA et al., 2010). Nesse sentido, a escolha de um material para ser usado como biomaterial depende da análise de uma série de requisitos, tais como: a biocompatibilidade, efeito do ambiente orgânico no material e efeito do material no organismo, a biodegradabilidade, fenômeno em que o material é degradado ou solubilizado em fluidos tissulares, desaparecendo do sítio de implantação, bem como a velocidade de degradação do material (TABATA, 2009).

Ademais, quando em meios biológicos precisam evitar a formação de trombos como resultado do contato entre o sangue e o biomaterial, não induzir resposta imunológica adversa, possuir caráter atóxico, não carcinogênico e não perturbar o fluxo sanguíneo, e ainda não produzir resposta inflamatória aguda ou crônica que impeça a diferenciação própria dos tecidos adjacentes (CARVALHO et al., 2010).

3.2 POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB)

Os polihidroxicanoatos (PHAs) são uma classe de poliésteres de origem natural e principal fonte de reserva de carbono e energia para muitos microorganismos, eles são totalmente biodegradáveis e biocompatíveis. Estes PHAs têm chamado atenção devida suas propriedades físicas similares aos dos polietilenos e polipropilenos (SEEBACH; FRITZ, 1999; GALEGO; MIGUENS; SÁNCHEZ, 2002; CHEN, 2009).

Os PHAs apresentam estrutura química composta por átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, sendo classificadas pela quantidade de átomos de carbono que constituem o grupo funcional R podendo apresentar cadeias curtas, como PHB, médias ou longas. O PHB é um PHA de cadeia curta com CH_3 no radical R sendo o melhor estudado entre mais de 100 tipos variados de PHAs (CHEN, 2009).

No Brasil, a produção de PHB foi desenvolvida por uma *joint venture* entre a Coopersucar (Cooperativa dos Produtores de Cana-de-açúcar do Estado de São Paulo), o IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas) e pelo ICB (Instituto de Ciências Biomédicas da USP). Essa produção encontrou condições excepcionalmente favoráveis no Brasil devido às características da indústria de açúcar e álcool, bastante desenvolvida durante o programa PROALCOOL. A disposição de açúcar a baixos preços e grandes quantidades, que é utilizado como substrato para o crescimento das bactérias do PHB, é uma das principais características que favorecem a produção desse polímero (QUENTAL et al., 2010).

O PHB é um membro importante da família dos polihidroxicanoatos, produzido a partir de microorganismos da cana de açúcar, é um polímero poliéster saturado linear, parcialmente cristalino, com a característica única de ser um termoplástico sintético biodegradável, que tem sido largamente empregado como matriz em sistemas biológicos (ROA et al., 2010; YANG et al., 2010; HAFUKA et al., 2011). Polímeros desta natureza segundo Oréfice; Pereira; Mansur (2012), quando implantados em sistemas vivos, tem a capacidade de se degradar não necessitando de cirurgias posteriores para sua remoção do corpo, além de não causarem efeitos indesejáveis, a longo prazo, pois apresentam redução da massa molar quando em contato com o ambiente corpóreo.

As principais propriedades do polímero PHB são: constituição totalmente apolar; insolubilidade em água; cristalização em torno de 55-80%; temperatura de transição vítrea de aproximadamente 4°C e a de fusão, 175°C ; baixa estabilidade

térmica com diminuição na massa molecular acima de 170°C; degradação total em uma única etapa entre 225 e 300°C em análise termogravimétrica (COUTINHO et al., 2007).

Quanto à aplicação como biomaterial, materiais termoplásticos sintéticos biodegradáveis como o PHB, tem sido utilizado em suturas, como dispositivos de distribuição controlada de fármacos, na fixação de dispositivos ortopédicos (parafusos e placas de osteossíntese), na prevenção de adesão, como matriz para engenharia de tecidos (suportar crescimento de novos tecidos, guiar a resposta tissular, favorecer a fixação e proliferação celular, controlar a resposta inflamatória e imunológica) (REIS et al., 2012).

Esposito *et al.* (2010) estudaram a influência de blendas de poli (p-dioxanona (PPD) / Polihidroxibutirato (PHB) na adesão celular e crescimento de fibrocondrócitos isolados de meniscos de joelhos de coelhos albinos, observando que os fibrocondrócitos podem responder a alterações no substrato, modificando o perfil fenotípico, além de, não apresentarem citotoxicidade e permitirem a adesão e proliferação dos fibrocondrócitos.

Sousa *et al.* (2016) estudou os efeitos genotóxicos de membranas de PHB / norbixina / etilenoglicol por meio do teste do micronúcleo e ensaio cometa em 15 animais da raça *Rattus norvegicus* demonstrando que o biomaterial não apresenta efeitos genotóxicos.

3.3 ALOE VERA

O gênero *Aloe* possui mais de 400 espécies, dentre elas, a mais cultivada é a babosa, nome científico *Aloe vera*, sinonímia *Aloe barbadensis* Miller, que pertencente à família *Xanthorrhoeaceae*. A denominação ‘aloe’ deriva do grego, alóe, do árabe, alloeh e do hebraico, halal, apresentando o mesmo significado nos três casos, que corresponde à “substância amarga e brilhante”, enquanto ‘vera’ significa verdadeira (BACH; LOPES, 2007; PARENTE et al., 2013).

Como a *Aloe vera* é uma planta originária de regiões desérticas, ela consegue sobreviver bem em habitats hostis, dessa forma, adaptou-se de forma satisfatória a diversas outras regiões do mundo, especialmente ao Cerrado brasileiro. É uma planta perene, cujo tronco com aproximadamente um metro sustenta um tipo de bulbo que desabrocha cerca de cinquenta folhas suculentas, carnudas, cerosas, de cor verde, com margem serrada e levemente espinhosa, com

o formato de lanças que crescem numa formação de roseta, podendo crescer até 75 cm e pesar até 2,3 kg. Após a raspagem da folha, obtém-se um gel mucilaginoso, conhecido como gel de *Aloe vera* (PARENTE et al., 2013).

Cabe ressaltar que, o cultivo da babosa no Brasil é economicamente viável. Há cada 8.592 unidades, produzidas em um ano de atividade, é gerado um potencial de rendimento de 30.000 litros/ano, além da possibilidade de redução de custos com a adoção de um sistema de obtenção de mudas, com custos significativamente mais baixos (BACH; LOPES, 2007).

O parênquima de reserva, o gel, observado na figura 3.1, é constituído substancialmente por 98,5% de água e mais de 200 compostos distribuídos entre polissacarídeos, taninos, enzimas, lipídios, aminoácidos e vitaminas (CHOI; CHUNG, 2003). Dentre eles, os polissacarídeos compõem mais de 60% da fração sólida do gel, no qual os monômeros manose e glicose constituem aproximadamente 70% da porção polissacarídica (FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014; CHINI et al., 2017).

Figura 3.1- Constituintes das folhas de *Aloe vera*



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

O uso medicinal da *Aloe vera* pelo homem remonta a milhares de anos antes da Era Cristã. Desenhos da planta em paredes dos antigos templos egípcios mostram que a sua polpa foi usada externamente no tratamento de queimaduras,

úlceras e infecções parasitárias da pele. Muitas pesquisas têm ressaltado que essas potencialidades farmacológicas da *A. vera* (Tabela 3.1) com componentes isolados a partir do gel, como por exemplo, as propriedades imunoestimulantes, antivirais e anti-inflamatórias que são atribuídas à acemanana, um polissacarídeo incorporado em diversos produtos indicados para cicatrização de lesões, queimaduras, feridas crônicas e úlceras. Segundo esses estudos, o mecanismo de ação da imunoestimulação é descrito através da atividade coadjuvante, na produção de anticorpos específicos e no aumento da expressão de citocinas, que por sua vez aumentam a proliferação de fibroblastos em cultura e estimulam a atividade fagocítica dos macrófagos (CHOW et al., 2005).

Tabela 3.1- Propriedades farmacológicas da *Aloe vera*

COMPONENTES	PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS
Polissacarídeos	Cicatrização, imunoestimulação, ação antiviral e anticâncer;
Glicoproteínas	Cicatrização, proliferação celular e ação antialérgica;
Fitoesteróis	Angiogênese, cicatrização e ação anti-inflamatória

Fonte: Adaptado de Choi; Chung (2003).

Segundo a literatura, o processamento de folhas de *A. vera* para a obtenção do gel pode ser realizado em três etapas (GODINHO, 2014):

- Processamento preliminar – Consiste na coleta, limpeza, sanitização, remoção da casca das folhas e a trituração da polpa da planta;
- Processamento intermediário – Abrange a redução dos microrganismos, o controle microbiológico e físico-químico, a estabilização e ainda descoloração do gel;
- Processamento final – Envolve os métodos de concentração e secagem do produto final.

Uma revisão mais recente conclui que a evidência cumulativa apóia o uso de *Aloe vera* para a cura de queimaduras de primeiro a segundo grau. A administração de *Aloe* influencia a composição de colágeno (mais tipo III) e aumenta a ligação cruzada de colágeno para a contração da ferida e melhora a força de ruptura. Também aumenta a síntese de ácido hialurônico tecido de granulação de uma ferida cicatricial (PARENTE et al., 2013).

Ramos; Pimentel (2011) observaram que o uso tópico da *Aloe vera* desempenha o papel de fornecer mais oxigênio, aumentando a vascularização e a quantidade de colágeno para que a cicatrização aconteça. Na cicatrização, com seu uso, o tecido é desinflamado, ocorre à multiplicação das células epiteliais e, por fim, é remodelado, ou seja, completamente cicatrizado.

Freitas; Rodrigues; Gaspi (2014) realizaram um levantamento bibliográfico de artigos que evidenciassem a atividade farmacológica da *Aloe vera* observando efeitos antineoplásica, antimicrobiana, anti-inflamatória e imunomodulatória através de estudos *in vitro* e *in vivo*, entretanto, na cicatrização de feridas, os resultados merecem maiores estudos.

3.4 BIXA ORELLANA L.

A *Bixa orellana* L, planta nativa da América Tropical, é um arbusto nativo do Brasil, conhecido por urucum, e de outras regiões tropicais do planeta, onde recebe a denominação internacional de annatto sendo largamente utilizado em várias partes do mundo em escala industrial, por conferir coloração atraente a uma extensa gama de produtos manufaturados. O annatto é uma mistura de pigmentos de coloração amarelo-alaranjada em consequência da presença de vários carotenoides, com predominância absoluta de um atípico, conhecido como bixina. Os maiores produtores mundiais de anato são Peru, Brasil e Quênia

As sementes são numerosas (Figura 3.2), são angulares, com 3 a 4 mm de comprimento, cobertos com uma substância resinosa de coloração vermelho alaranjada, a qual torna-se seca, dura e de coloração escura com o amadurecimento (FRANCO et al., 2001).

No Brasil é inegável que as preocupações relacionadas ao impacto da utilização de corantes sintéticos sobre a saúde direcionam as atenções para o uso daqueles de origem natural, pela crença de que estes sejam desprovidos de efeitos tóxicos. A não exigência da apresentação de dados aprofundados referentes a análises toxicológicas e químicas para o registro de aditivos alimentares derivados de fontes naturais, certamente torna as informações relativas a possíveis efeitos indesejáveis e/ou atividades farmacológicas decorrentes do seu uso, muito mais escassas do que se poderia prever diante da importância do tema. No Brasil, o uso do urucum é tão rotineiro que sua inocuidade sequer é questionada (TOCCHINI; MERCADANTE, 2001; GARCIA et al., 2012).

Figura 3.2 - Fotos de urucum (*Bixa Orellana* L): (a) árvore com cachos (frutos maduros); (b) fruto aberto com sementes exposta.

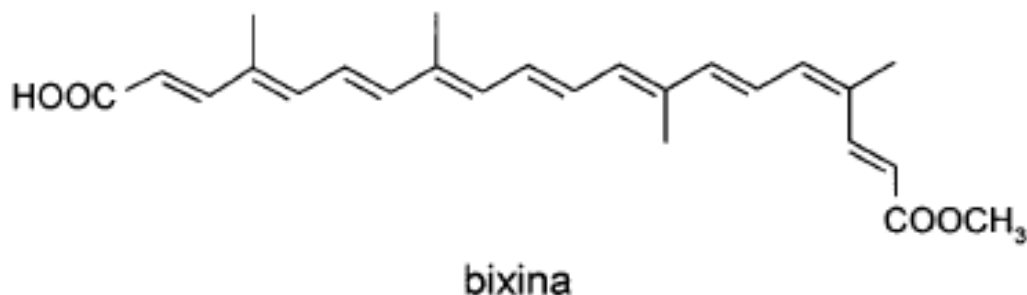


Fonte: Adaptado FRANCO *et.al.*, (2001).

A bixina (metil hidrogênio 9'-cis-6,6'-diapocaroteno- 6,6'-dioato, $C_{25}H_{30}O_4$, massa molar $394,5 \text{ g/mol}^{-1}$, (Figura 3.3) é um composto presente na casca da semente do urucum proveniente do fruto do urucuzeiro (*Bixa orellana* L) (GARCIA *et al.*, 2012).

Os primeiros relatos do isolamento da bixina datam de 1875, apesar da sua estrutura ter sido elucidada somente em 1961 com auxílio da espectroscopia de ressonância magnética nuclear. A bixina possui em uma extremidade da sua estrutura uma carboxila e uma metil carboxila (éster) na outra extremidade. Entre as carbonilas há nove duplas ligações conjugadas e quatro metilas ligadas à sua cadeia principal. Essa estrutura confere à bixina alta lipossolubilidade, sendo amplamente solúvel em diversos solventes orgânicos (TOCCHINI; MERCADANTE, 2001).

A cis-bixina é solúvel em diversos solventes orgânicos, porém não é solúvel em óleo vegetal. Quando aquecido, ocorre a isomerização para a trans-bixina que é mais estável e solúvel em óleo vegetal. Possui um hidrogênio ionizável com pK_a obtido por cálculos teóricos de 4,79. Seu ponto de fusão é 198°C (COSTA; CHAVES, 2005).

Figura 3.3 - Estrutura da Bixina

Fonte: Adaptado de Tocchini; Mercadante (2001).

Proposta da biossíntese de bixina a partir do licopeno por transformações enzimáticas com que essa molécula possua absorção apreciável na região do visível do espectro eletromagnético sendo o máximo de absorbância em clorofórmio observado em 503, 469 e 439 nm. Este composto é fracamente solúvel em água, porém plenamente solúvel em acetona, clorofórmio e soluções aquosas básicas (TOCCHINI; MERCADANTE, 2001).

A bixina é um composto natural capaz de combater diversas enfermidades. Silva e colaboradores verificaram a eficácia da bixina em reduzir o número de aberrações cromossômicas e inibir o aumento da peroxidação lipídica. Em um estudo em que foram avaliados corantes alimentícios naturais frente à proliferação celular, foi constatado que a bixina foi hábil na inibição de células tumorais humanas de câncer de colón, sistema nervoso central, estômago e células pulmonares (TOCCHINI; MERCADANTE, 2001; OLIVEIRA, 2005).

Recentemente, Pinzón-García et al. (2017) desenvolveram e patentearam uma nanofibra de bixina com um polímero biodegradável que demonstrou ser um material promissor quando empregado como curativos, uma vez que, a nanofibra foi capaz de acelerar a cicatrização de feridas de ratos diabéticos. Em 2010 pesquisadores da Universidade Federal de Viçosa patentearam uma pomada, a base de extrato do urucum, de uso tópico e oral para o auxílio na cicatrização da epiderme e das mucosas (SILVA; NACHTIGALL; STRINGHETA, 2009).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DO POLIHIDROXIBUTIRATO - PHB

O PHB foi fornecido pela empresa PHB Industrial S/A (Serrana, SP – Brasil) na forma de pó sem tratamento prévio, a tabela 4.1 apresenta as propriedades do polímero. O PHB foi preparado a partir da fermentação da sacarose por bactérias “*Alcaligenes eutrophus*”. A matriz PHB foi escolhida por ser um material totalmente biodegradável.

Tabela 4.1 - Propriedades físico-químicas e mecânicas do PHB

Propriedades	PHB
Temperatura de Fusão (°C) T _m	175
Cristalinidade (%)	80
Massa molecular (x 10 ⁵)	5
Temperatura de Transição Vitrea (°C) T _g	4
Densidade (g/cm ³)	1,25
Tensão de ruptura (Mpa)	40
Alongamento de Ruptura (%)	4

Fonte: Adaptado de Almeida (2005).

4.2 OBTENÇÃO DA ALOE VERA

Foram utilizadas folhas frescas de *Aloe vera* oriundas do município de Teresina/PI (Latitude): -05° 05' 21"; (Longitude): -42° 48' 07" com comprimento entre 30 e 40 cm, correspondendo as plantas de 4 anos de idade. Inicialmente, as folhas foram lavadas com água destilada para remoção da sujidade, em seguida, a pele foi cuidadosamente separada do parênquima por um bisturi, os filetes obtidos foram lavados extensivamente com água destilada para remover os exsudados de suas superfícies. Foram armazenados 400 mL do gel da *Aloe vera* em um béquer e previamente congelados para posterior liofilização.

4.3 EXTRAÇÃO DA BIXINA

A matéria-prima denominada bixina (Figura) foi extraída de sementes do urucum (*Bixa orellana L.*) adquirida no município de Agricolândia – PI (Latitude): 05°

47' 56" S e (Longitude): 42° 40' 08" W, conforme procedimento adaptado do método descrito por (BARBOSA-FILHO et al., 1998).

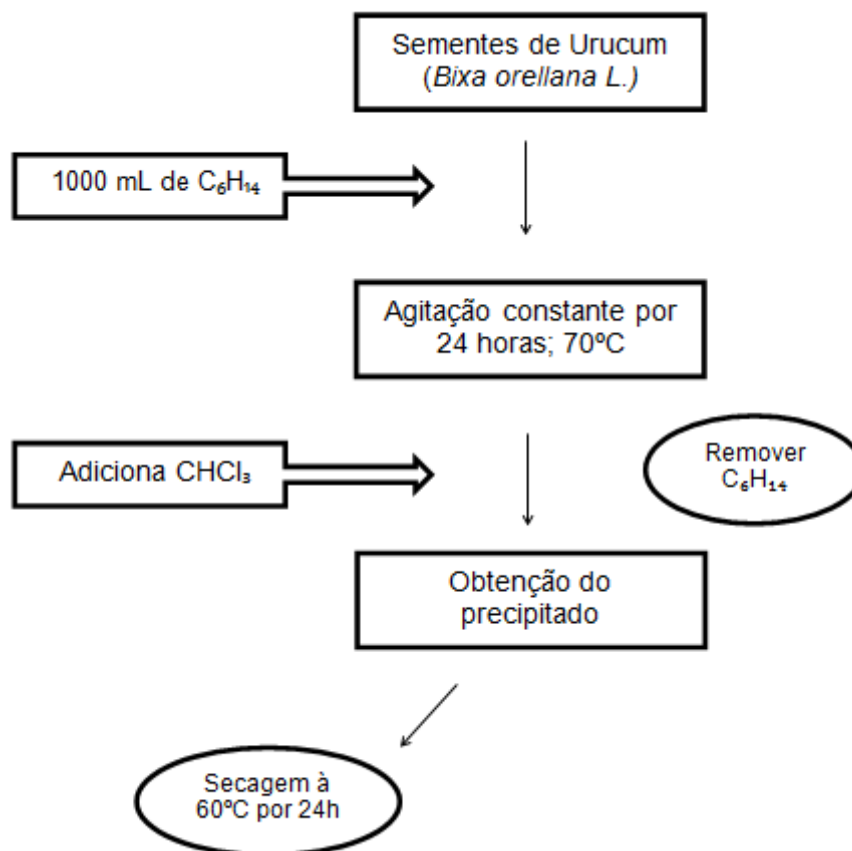
Aproximadamente 200 g de sementes de urucum, previamente limpas de resíduos de folhas e cascas, foram adicionadas em extrator Soxhlet com 1000 mL de hexano (C_6H_{14}) sob agitação constante, por 24 horas. Após este período o hexano foi removido e em seguida, adicionou-o clorofórmio ($CHCl_3$) a 70°C durante 24 horas. Depois, o precipitado foi filtrado e seco em estufa a 60°C por 24 horas, ver Figura 4.2.

Figura 4.1 - Bixina em pó



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Figura 4.2 - Fluxograma da síntese da Bixina



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

4.4 PROCESSAMENTO DAS MEMBRANAS

As membranas de PHB/Aloe vera/Bixina foram preparadas pelo processo de evaporação de solvente (*solution casting*). As composições das membranas com a matriz PHB e suas respectivas concentrações estão descritas na Tabela.

Tabela 4.2– Composição das membranas: PHB, Bixina e Aloe vera.

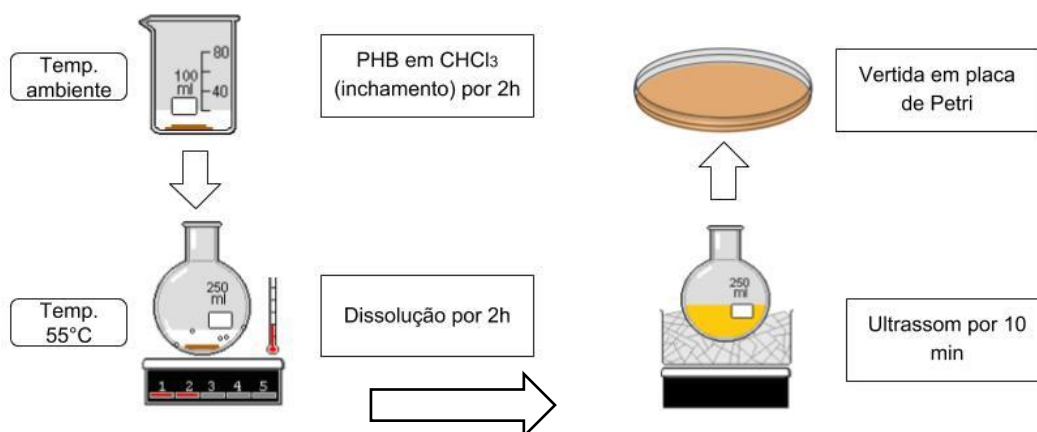
Membrana	Composição (PHB/Bixina/Aloe vera)
P100	100% / 0% / 0%
P50/B50	50% / 50% / 0%
P80/B15/A5	80% / 15% / 5%
P70/B20/A10	70% / 20% / 10%
P60/B25/A15	60% / 25% / 15%

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Inicialmente, o PHB foi imerso em clorofórmio por 2 h para inchamento. Em seguida, a mistura permaneceu em aquecimento a 55°C sob agitação constante por

igual período. No P100, contendo somente PHB, após temperatura ambiente, a mistura permaneceu por 10 minutos em ultrassom e filtrado em papel filtro quantitativo faixa preta. Em seguida, vertida na placa de Petri por um período de 24 horas e coberta com papel alumínio (figura 4.3).

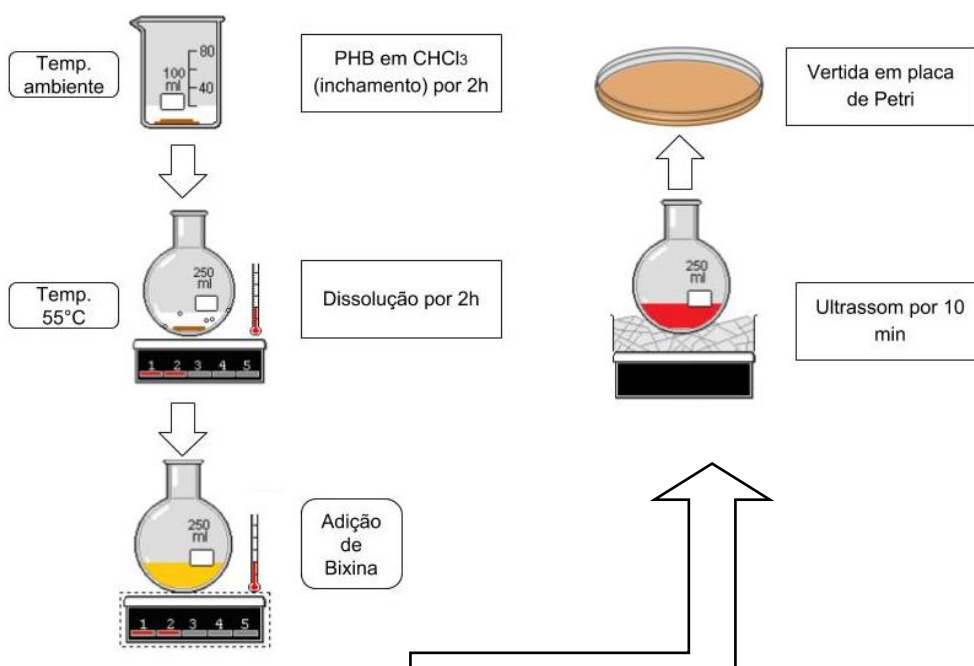
Figura 4.3 - Fluxograma da preparação da proporção P100.



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Para a confecção do P50/B50 (PHB/BIX) seguiu as mesmas condições de preparação de P100 apenas adicionou Bixina antes da etapa do Ultrassom, figura 4.4.

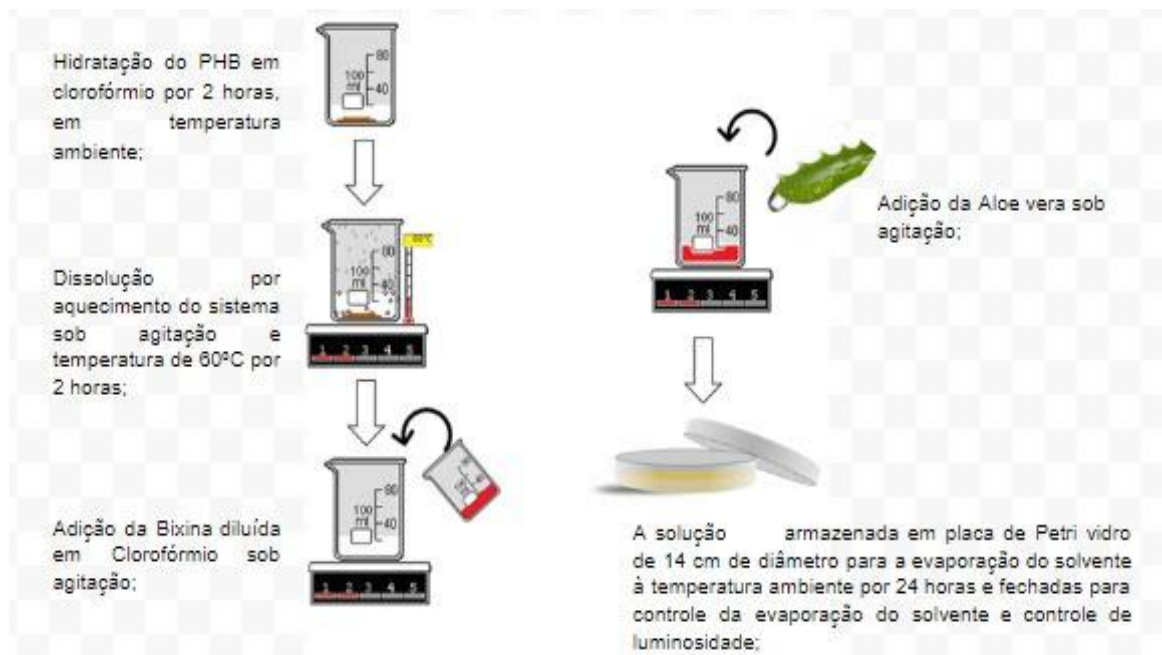
Figura 4.4 -Fluxograma da preparação da proporção P50/B50.



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Após dissolução completa do PHB a 55°C foram preparadas as membranas P80/B15/A5, P70/B20/A10 e P60/B25/A15. Nesta etapa, foi adicionada ao PHB, Aloe vera e bixina, seguindo o mesmo processo acima descrito (figura 4.5).

Figura 4.5 - Preparação das membranas de PHB/Aloe vera/Bixina



Fonte: Dados da pesquisa.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

4.5.1 Microscopia Ótica - MO

A caracterização da Microscopia Ótica das membranas seguiu o procedimento interno do laboratório. O equipamento utilizado nesse ensaio foi um Microscópio Óptico da marca Hirox de reflexão e transmissão com acessórios 2D e variação de 10X, acoplado a uma estação de Análise de Imagens.

4.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

As análises morfológicas da superfície do PHB, bixina e aloe vera das proporções de membrana foram medidas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), no microscópio modelo SSX-550 Superscan SHIMADZU®. Para a realização das análises as amostras foram secas em estufa à temperatura de 60 °C por 24 horas e em seguida transferidas para um dessecador, onde foram mantidas até a análise. As amostras foram recobertas com ouro em metalizador, modelo SC-

701 da Sanyu Electron por não possuírem natureza condutora. O equipamento foi operado em 15 kV. O material do filamento utilizado foi de tungstênio.

4.5.3 Fluorescência de Raios-X - FRX

A composição química das amostras foi determinada por fluorescência de raios-X por energia dispersiva (FRX). Os elementos presentes em cada amostra foram determinados qualitativamente e quantitativamente. Para este tipo de análise utilizou-se um Espectrômetro por Fluorescência de Raios-X, modelo Epsilon 30 da Panalytical. O método utilizado foi o semi quantitativo, em uma atmosfera de vácuo.

4.5.4 Difração de Raio-X - DRX

Os difratogramas das amostras foram registrados em um difratômetro da Shimadzu® modelo XRD-6000, com um detector de radiação PIXcel/3D. A fonte de radiação de $\text{CuK}\alpha = 0,154\text{nm}$, operando com uma voltagem de 40 kV e com uma corrente de 30 mA. A velocidade adotada de varredura foi de $0,014^\circ/\text{min}$ para valores de 2θ entre 10° e 90° a uma taxa de $2^\circ/\text{min}$.

4.5.5 Análise Termogravimétrica - TGA

As amostras em estudo foram submetidas a ensaios de TGA em equipamento da marca Shimadzu, modelo TGA-51. As condições da análise foram: faixa de temperatura de ensaio de 25°C a 1000°C , taxa de aquecimento $10^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ e atmosfera de nitrogênio a $50\text{ mL}.\text{min}^{-1}$ em porta amostra de platina.

4.5.6 Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC

As análises foram realizadas em equipamento da marca Shimadzu – Modelo DSC 60 PLUS de acordo com as seguintes condições: faixa de temperatura de ensaio de 25°C a 600°C , taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ e atmosfera de nitrogênio a $50\text{ mL}.\text{min}^{-1}$. Foi utilizado porta amostra de alumínio.

4.5.7 Capacidade de Absorção das Membranas

Os ensaios de capacidade de absorção foram realizados adotando como referência a norma ISO 62:2008 e estudos realizados por Lima *et al.*, (2007); Bouchonneau *et al.*, (2010); Almeida *et al.*, (2013) que medem a quantidade de água absorvida em matrizes poliméricas.

As amostras foram confeccionadas em placas de petri 60x15mm e previamente secas em estufa a $(50 \pm 2) ^\circ\text{C}$ durante 24 h e resfriadas à temperatura ambiente no dessecador, foram submetidos à imersão em água deionizada e solução fisiológica (0,9%) determinando-se o total de solução absorvida até a saturação da amostra nos tempos pré-determinados 1h, 6h, 8h, 24h e 48h.

Após passagem inicial, as amostras foram imersas em 300 mL de água deionizada a temperatura ambiente $(28 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Nos tempos pré-determinados, as membranas foram retiradas da água, o excesso de água superficial será removido com papel filtro e a massa determinada.

Em seguida, foram realizados os ensaios de absorção das membranas por imersão em 300 mL de solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% seguindo os mesmos parâmetros acima mencionados. As pesagens foram feitas após o término de tempo de imersão de cada amostra até que a diferença de massa (em relação à pesagem anterior) fosse menor que 1%.

Para cada ensaio calculou-se a percentagem em massa segundo a equação 4.1. Onde: m_1 é a massa da amostra, em miligramas (mg), após secagem e antes da imersão, m_2 é a massa da amostra, em miligramas (mg), após imersão e A_{massa} é a percentagem de absorção para cada amostra.

$$A_{\text{água}}(\%) = \frac{(M_2 - M_1)}{M_1} \times 100 \quad (\text{Eq. 4.1})$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

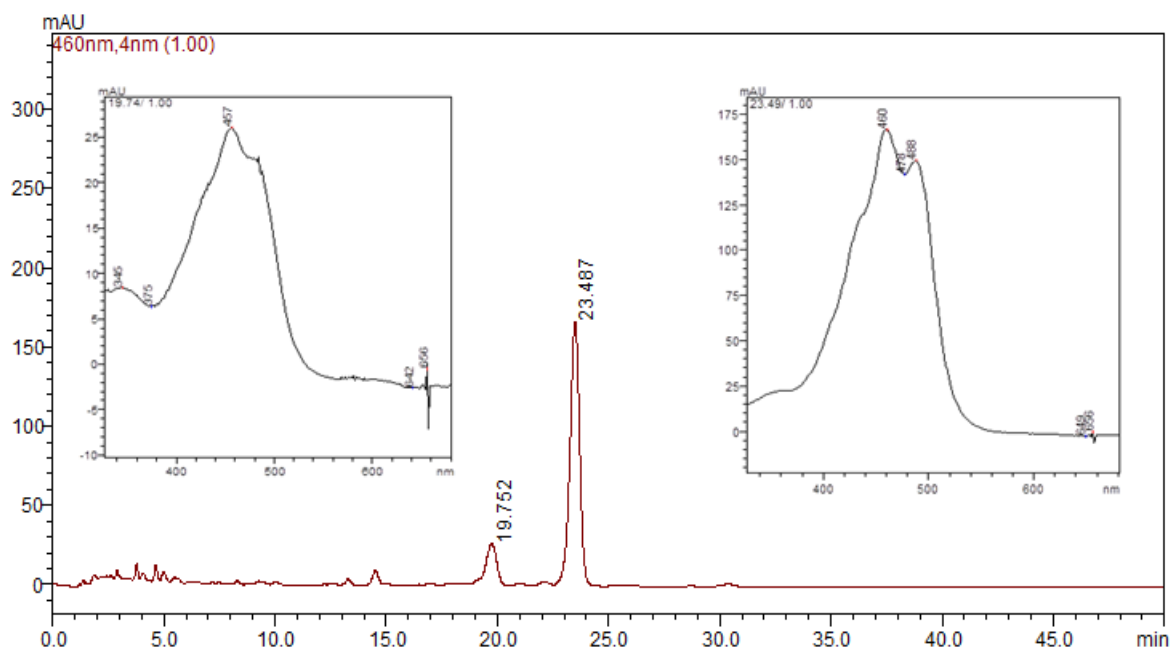
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BIXINA

5.1.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC

Na análise da cromatografia não foram observados picos de interferência significativos o que revela eficiência na análise, corroborando com o estudo de Silva, (2007) que objetivou purificar, identificar e quantificar pigmentos de urucum extraídos com diferentes metodologias, utilizando-se técnicas de análise espectroscópicas e cromatográficas.

Neste trabalho, observa-se a presença de picos minoritários nos cromatogramas com tempos de retenção próximos aos da bixina, indicando que esses produtos poderiam ser isômeros geométricos da bixina (19,792 min) (Figura 5.1). Entretanto, destacou-se a verificação da presença de bixina (23.487min) (Figura 5.1), corroborando com os achados de (SILVA, 2007).

Figura 5.1 - Cromatograma, obtido por CLAE, do padrão de bixina



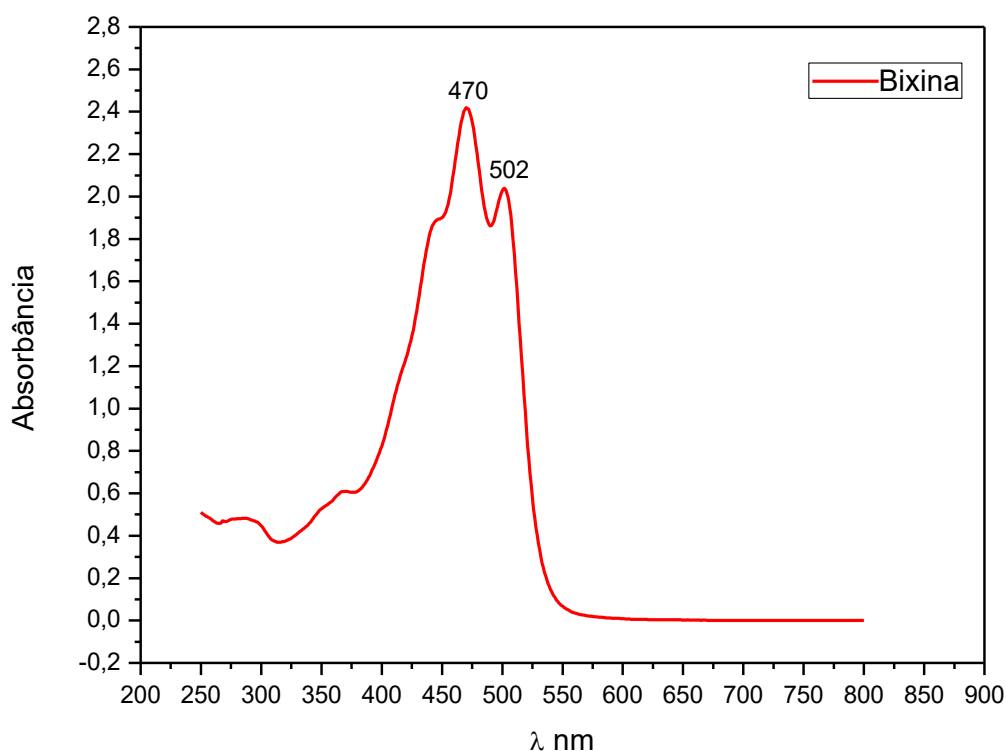
Condições cromatográficas: coluna Lichrospher 100 RP-18 e acetonitrila:ácido acético 5% (75:25) como fase móvel com fluxo de 1 L/min. Detecção a 460 nm.

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.1.2 Análise por Espectrofotometria UV/Visível

Os valores obtidos no espectro UV/Visível da bixina podem variar em função do solvente, devido apresentarem estruturas moleculares com 25 átomos de carbono e grupos terminais ácido e metil éster, como afirmam em seus estudos (RAHMALIA; FABRE; MOULOOUNGUI, 2015). Levy e Rivadeneira (2000) afirmam que a estrutura molecular da bixina na região de 471 nm e 503 nm apresentam características isoméricas *Cis*. Também foram evidenciadas nos espectros grupos cromóforos absorvedor de luz, resultando na forte banda de absorção acima de 400 nm, como apresentado na figura 5.2. Resultados similares foram obtidos por Rahmalia; Fabre; Mouloungui (2015).

Figura 5.2–Espectro UV-vis da Bixina diluída em CHCl_3 (P.A).



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.1.3 Espectrometria de Fluorescência de Raios-X – FRX

Para a caracterização de fluorescência de Raios-X. A tabela 5.1 apresenta os principais constituintes da bixina onde observa-se a presença de Potássio, cloro, enxofre. A presença de cloro (25,468%) pode ser associada ao solvente utilizado durante a extração, ver Tabela 5.1.

Os metais potássio (67,526%), magnésio (1,867%), compõem a parte mineralógica, como observado por Silva et al. (2016). Esses dados são relevantes, pois, ainda são escassos os estudos que definem um percentual para os constituintes da bixina.

Tabela 5.1 - Composição Química da bixina pela Espectrometria de Fluorescência de Raios-X - FRX

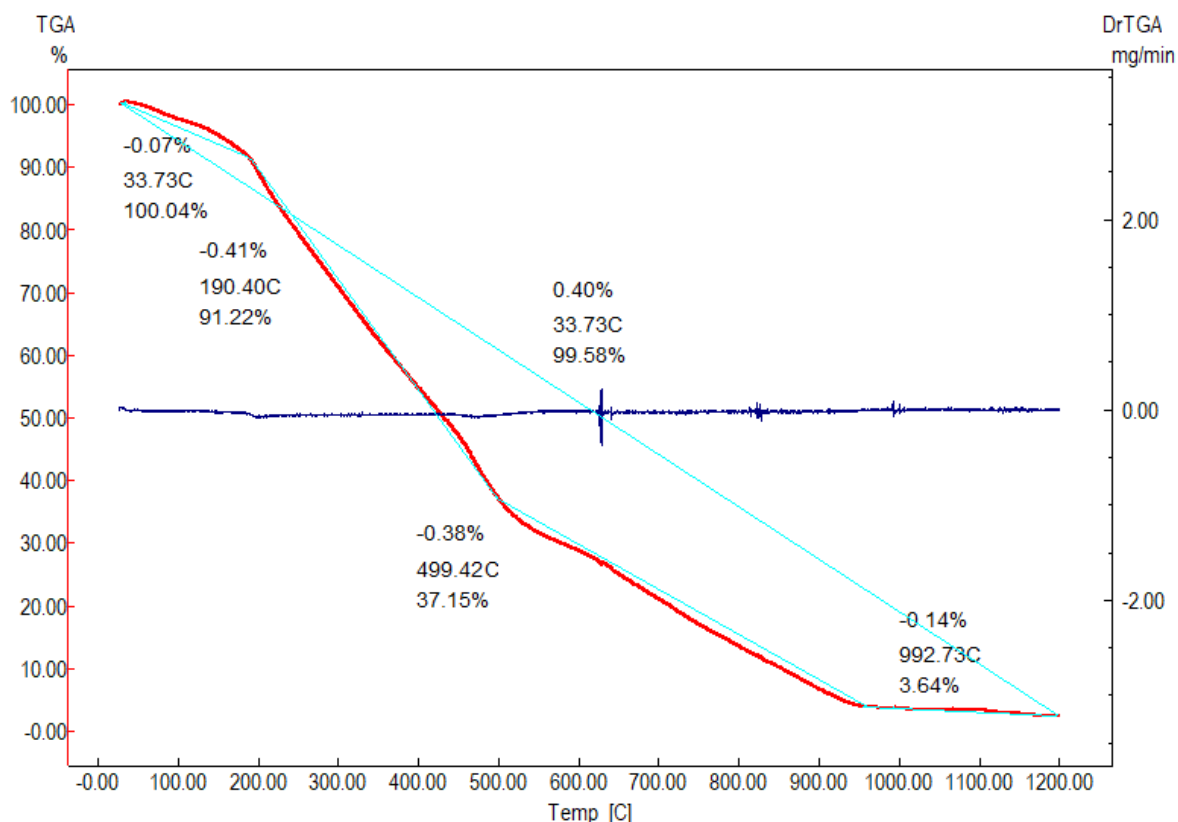
Componente	%
Potássio (K)	67,526
Cloro (Cl)	25,468
Enxofre (S)	2,029
Fósforo (P)	1,973
Magnésio (Mg)	1,867
Prata (Ag)	0,517
Ferro (Fe)	0,464
Manganês (Mn)	0,156

Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.1.4 Análise Termogravimétrica - TGA

A figura 5.3, apresenta a curva termogravimétrica da Bixina. A bixina apresentou três estágios de degradação. O primeiro estágio iniciando a partir de 100°C e temperatura final de 190,40°C, correspondente a perda de umidade de 8,82%. No segundo estágio foi observado entre 190,40°C e 499,42°C, o que representam cerca de 54,07% de perda em percentual de massa. Foi observado que a degradação da bixina inicia aproximadamente a 200°C e decompõe-se próximo de 400°C com maior perda de massa, apresentando resíduos de 3,64% na temperatura de 992,73°C.

Figura 5.3 - Curva de TG da bixina

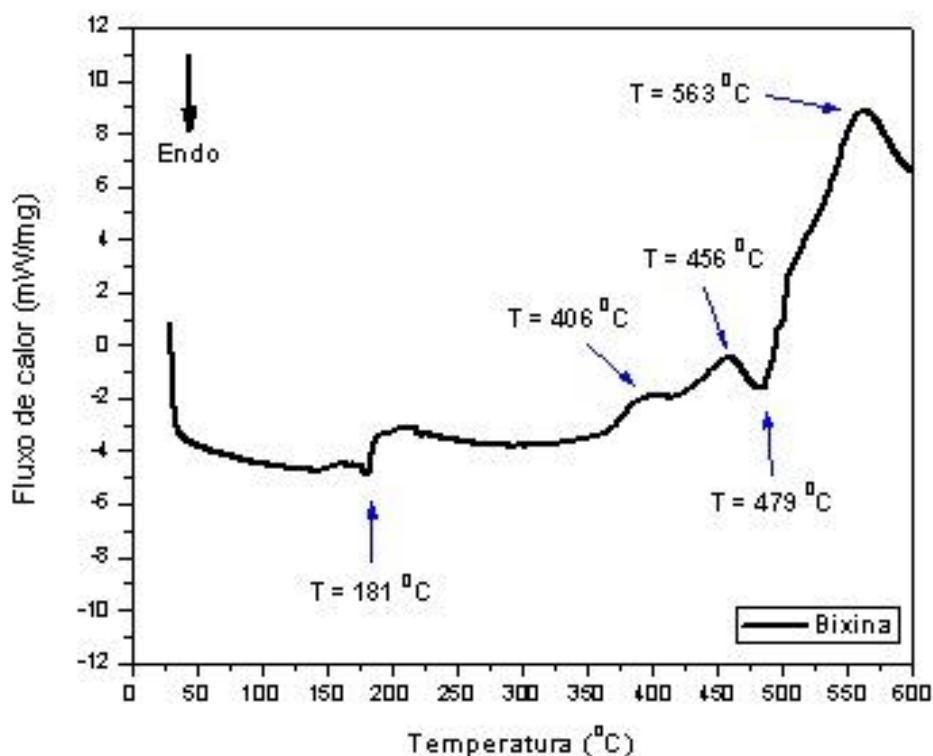


Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.1.5 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

A figura 5.4, apresenta a curva DSC da Bixina. A bixina apresentou eventos térmicos de natureza endotérmica e exotérmica. O primeiro evento corresponda a fusão da bixina em cerca de 190°C, corroborando com o resultado de TG e também, com os resultados obtidos por Selvia *et al.* (2013). E o segundo e terceiro evento que ocorre entre 181°C a 479°C e 479°C a 563°C pode ser atribuída à decomposição da bixina.

Figura 5.4 .—Curva de DSC da bixina

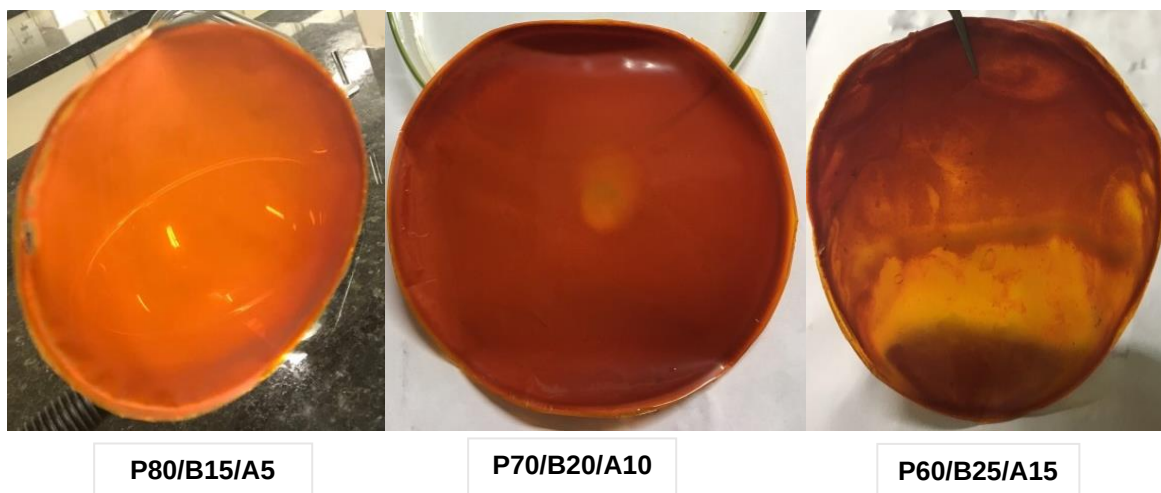


Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.2 OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS

O PHB e a BIXINA possuem boa solubilidade e processabilidade em clorofórmio facilitando a formação das membranas, além disso, o clorofórmio tem uma rápida evaporação em temperatura ambiente o que possibilita a síntese de membranas pelo método “evaporação de solvente”. Na figura 5.5, podem ser observadas as proporções de membranas que apresentam coloração avermelhada. Observa-se, ainda, que a medida que se aumenta o percentual de Aloe vera nas membranas as mesmas apresentam aspectos mais heterogêneos, corroborando com os achados de Godinho et al. (2015) que ao incorporar *aloe vera* em membranas de celulose bacteriana (CB) observou que o aumento da concentração de Aloe ocasionou aspectos heterogêneos as membranas e um decréscimo na resistência à tração dos biomateriais.

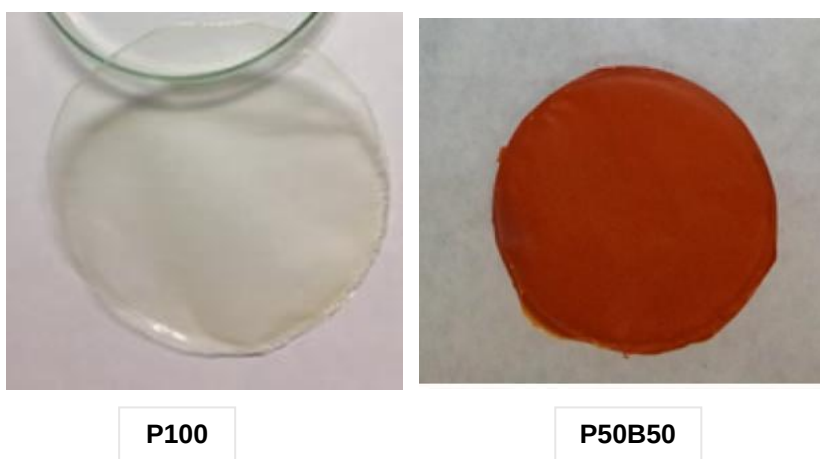
Figura 5.5 – Membranas de PHB/Aloe vera/BIXINA: A) P80/B15/A5; B) P70/B20/A10 e C) P60/B25/A15



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

Para controle foram confeccionadas membrana de PHB (P100) e membrana de PHB/BIX (P50/B50). Na figura 5.6-A, observa-se que a membrana de PHB Puro apresenta superfície homogênea, não porosa, com coloração levemente esbranquiçada. Ao adicionar Bixina superfície homogênea, não porosa, com coloração avermelhada (figura 5.6-B).

Figura 5.6 – Proporções para controle A) P100 e B) P50B50



Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS MEMBRANAS

5.3.1 Microscopia Ótica (MO)

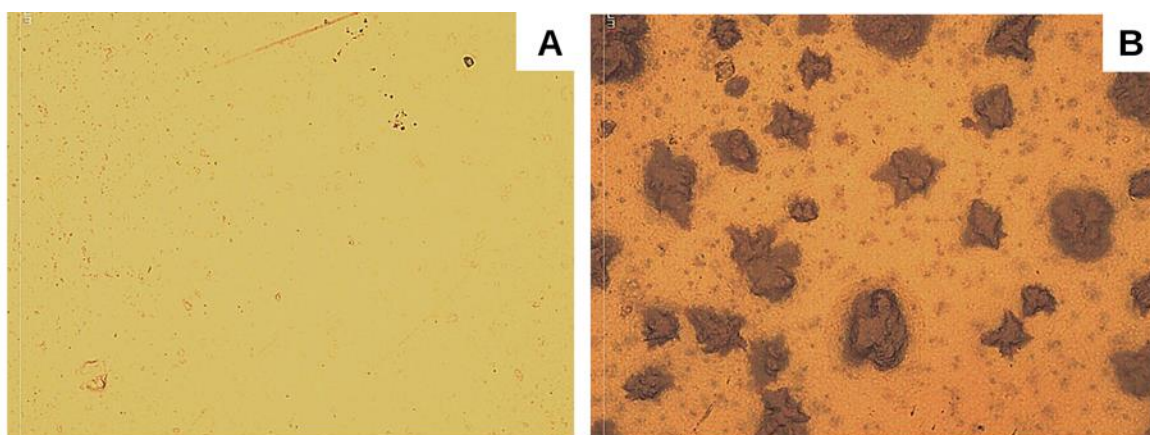
Segundo Wan *et al.* (2005) a morfologia do biomaterial tem impacto na sua adesão ao tecido e a presença e tamanho dos poros pode ter uma influência no crescimento celular e subsequente proliferação.

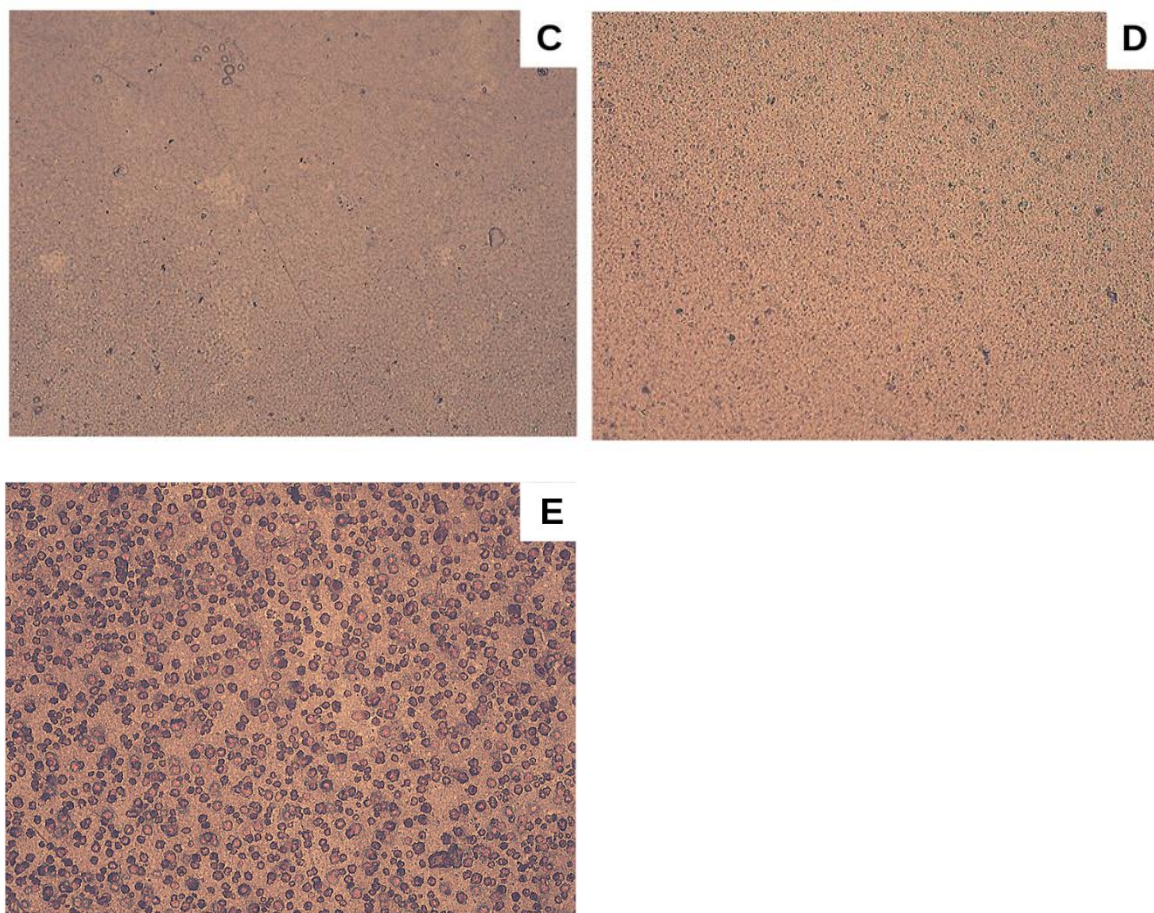
A figura 5.7 evidencia as micrografias ópticas das proporções de membrana. Na figura 5.7 - C, D, E, verifica-se a presença de aglomerados de bixina com tamanhos variados e que diminuem a sua intensidade à medida que a sua proporção diminuem na composição da membrana. Este fato pode ser justificado pela incorporação da Aloe vera na matriz polimérica de PHB e consequentemente auxiliando no processo de encapsulamento da bixina.

Piaia (2014) e Godinho *et al.* (2015) observaram resultados distintos ao analisar a incorporação de Aloe vera nas membranas Celulose Bacteriana (CB) observando que esta não alterou a estrutura da rede nanofibras de CB pura.

Na figura 5.7-A, observa-se superfície homogênea e regular. Já na figura 5.7-B ressaltar aglomerados com aspectos irregulares, tamanhos variados e coloração avermelhada que pode ser associada à presença de bixina na composição da membrana (P50/B50).

Figura 5.7. –Microscopia óptica com aumento de 10X das membranas de PHB/Aloe vera/Bixina: A) P100; B) P50/B50; C) P80/B15/A5 D) P70/B20/A10; E) P60/B25/A15.



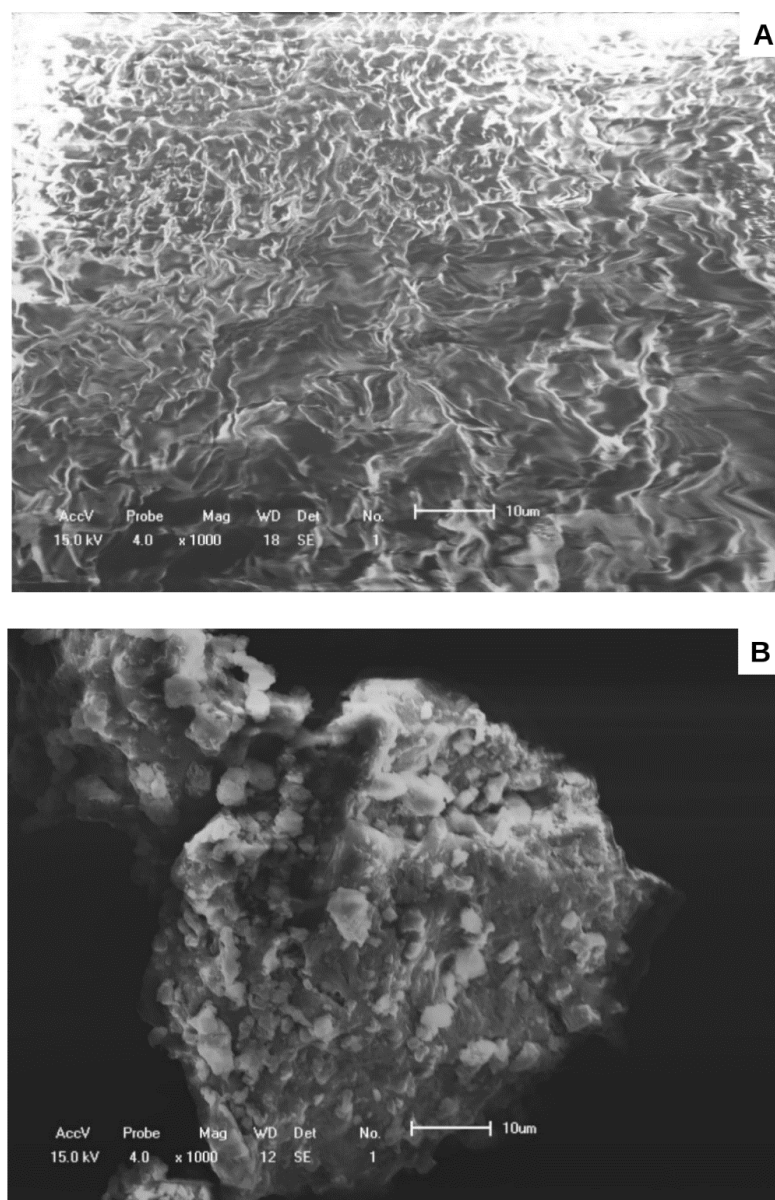


Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.3.2 Microscopia Eletrônica De Varredura – MEV

A Figura 5.8 mostra a micrografia do PHB puro (pó) apresenta superfície completamente irregular que se estendem em todas as direções. A morfologia da superfície da bixina apresenta aglomerados na forma de cristais que, provavelmente, podem ser impurezas.

Figura 5.8.– Morfologia da superfície das amostras: (A) PHB e (B) BIXINA

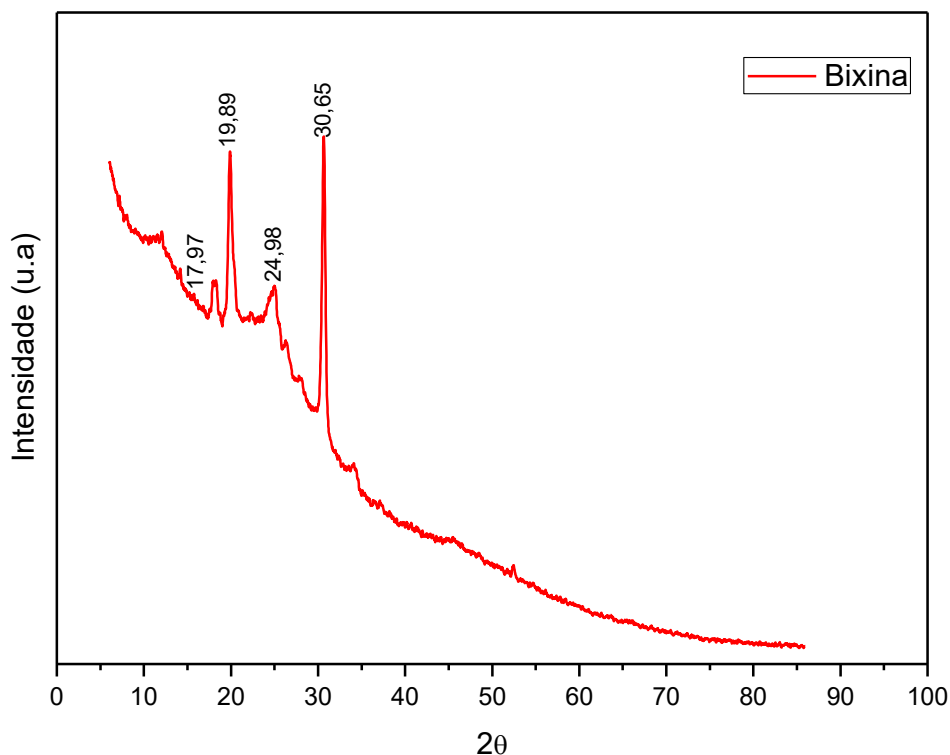


Fonte: Dados da pesquisa (2019).

5.3.2 Difração de Raios – X (Dr-X)

A figura 5.9 mostra o espectro de difração de raios- X da bixina. Os resultados obtidos pelo difratograma indicam quatro picos, $2\theta = 17,947^\circ$, $19,891^\circ$, $25,011^\circ$ e $30,657^\circ$, o que sugere um composto semicristalino e também, uma região amorfa com picos caracterizando a presença de regiões de cristalinidade. Estudos publicados por Lima et al., (2006), evidenciaram um padrão tipicamente amorfo pela desidratação em solução aquosa com semente de bixina a ($2\theta = 25^\circ$) associado alguma fase cristalina em baixa concentração, devido a intensidade baixa do pico.

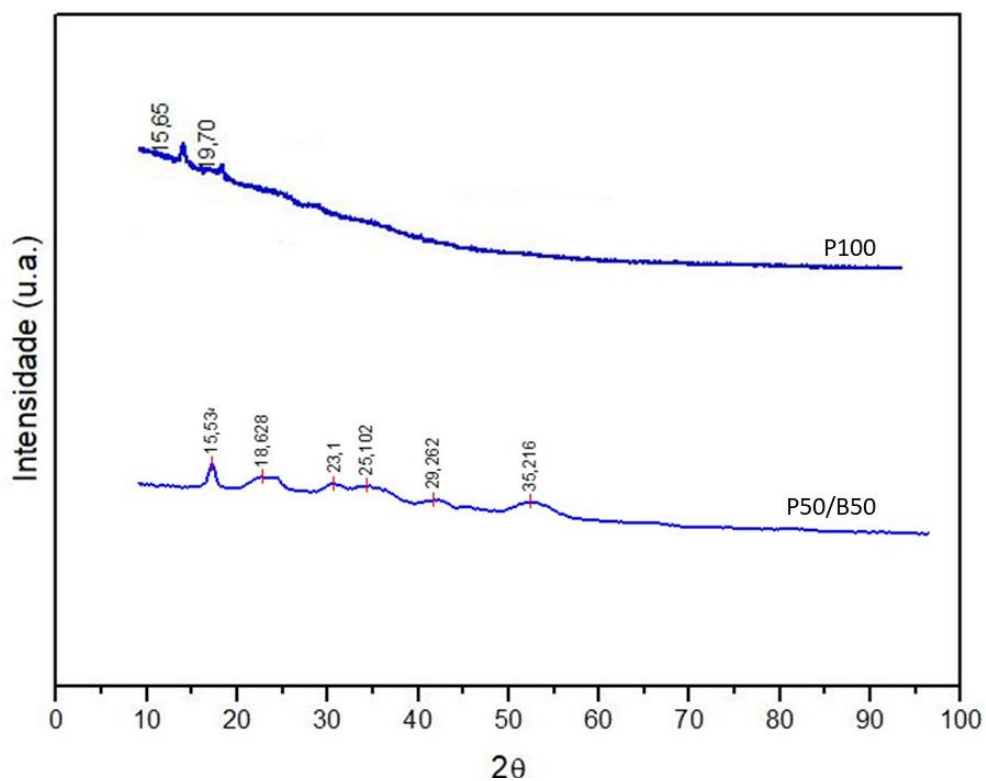
Figura 5.9- Espectro de difração de raios- X da bixina.



Fonte: Dados da pesquisa, (2018)

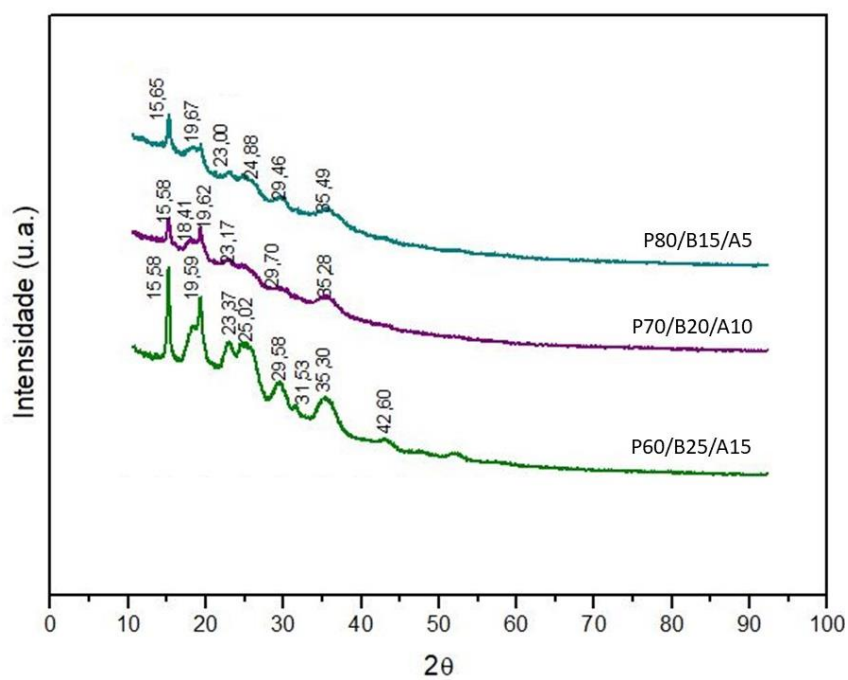
As análises dos índices de cristalinidade das proporções de membrana e das proporções controle são apresentadas na figura 5.10. DUARTE *et al.* (2004); CONZ; GRANJEIRO; SOARES (2005) relacionam as propriedades biológicas de um biomaterial com seu desempenho *in vivo*, então, quanto menor o índice de cristalinidade, melhor a reabsorção e as propriedades mecânicas pelo organismo.

Figura 5.10- Espectro de difração das membranas de PHB/BIXINA



Fonte: Dados da pesquisa, (2018)

Figura 5.11 - Espectro de difração das membranas de PHB/*Aloe vera*/BIXINA



Fonte: Dados da pesquisa, (2018)

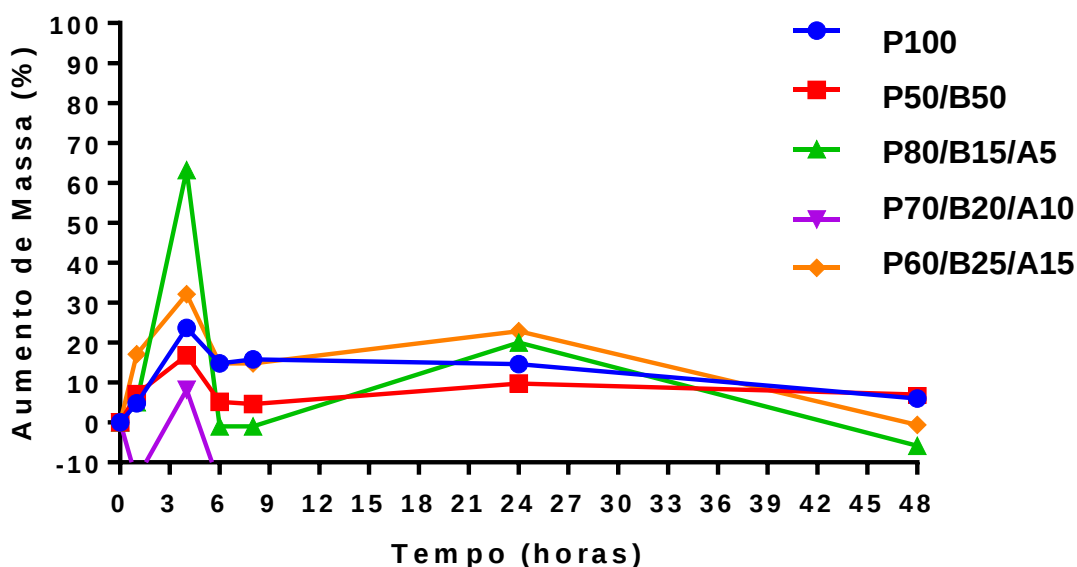
5.4 ENSAIOS DE ABSORÇÃO EM ÁGUA E SOLUÇÃO FISIOLÓGICA

A capacidade de absorção foi avaliada em água deionizada e SF 0,9% de modo a simular as suas condições de aplicação. Utilizou-se água deionizada e SF 0,9% (Fresenius®) os quais seriam potencialmente empregados para a hidratação das membranas antes de seu uso *in vivo*.

Pode-se observar que P80/B15/A5, (figura 5.12), no ensaio de absorção de água, apresentaram aumento da massa após 3 horas comparada à massa inicial, e que P60/B25/A15, (figura 5.13), apresentou maior capacidade de absorção em solução fisiológica após 3 horas comparada à massa inicial.

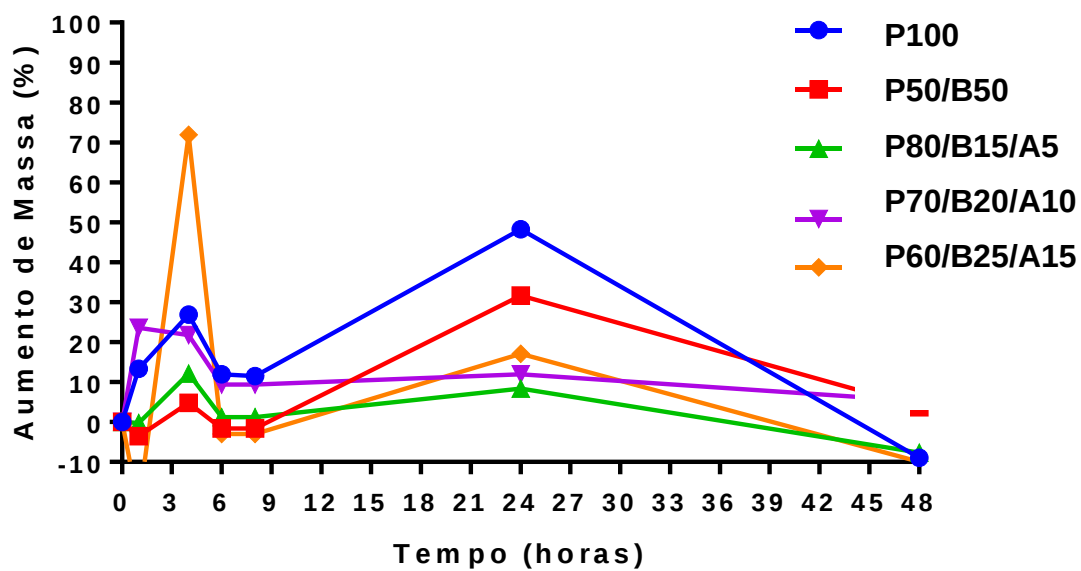
Observou-se, ainda, que as membranas apresentaram maior capacidade de absorção e maior degradação em meio à solução fisiológica, ver Figura 5.13. Segundo Thein-Han; Kitiyanant; Misra (2008), a habilidade de absorção de água é um fator importante para materiais implantáveis, pois ela permite a absorção de fluidos corpóreos e a transferência de nutrientes e metabólitos. Segundo Fernandes (2009) a elevada taxa de absorção de água traz consequências indesejáveis como a redução da estabilidade estrutural do polímero, ou seja, a presença constante de umidade provoca o intumescimento da matriz acelerando a degradação por ataque de microrganismos.

Figura 5.12 - Absorção de água nas proporções P100, P50/B50, P80/B15/A5, P70/B20/A15, P60/B25/A15



Fonte: Dados da pesquisa, (2018)

Figura 5.13 - Absorção em solução fisiológica (0,9%) nas membranas com desvio padrão ($\pm$ DP).



Fonte: Dados da pesquisa, (2018)

6 CONCLUSÕES

- Foram obtidas membranas de PHB, Bixina e *Aloe vera* com características homogênea, não porosa e estruturas semicristalinas.
- Quanto à morfologia as análises MEV mostraram que as membranas porosas com superfícies irregulares e presença de aglomerados de bixina, característica favoráveis para a aplicação como biomaterial.
- Os resultados obtidos por difração por raios-X indicaram que a bixina é um material semicristalino. Já a proporção de membrana P60/B25/A15 apresentou menor índice de cristalinidade, em comparação as demais proporções, o que sugere melhor interação com a matriz.
- As análises termogravimétricas para a bixina indicaram que o material é hidrofóbico, aproximadamente 15% de umidade. E os resultados obtidos por DSC mostraram que a fusão da bixina ocorre próximo de 190°C.
- A capacidade de absorção das membranas em água e solução fisiológica não apresentou relação da massa da *Aloe vera* com o aumento da capacidade de absorção, em comparação com a proporção P100, e que todas as proporções apresentaram baixa absorção de água mantendo as características hidrofóbicas da matriz polimérica.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. M. da S. **ANÁLISE POR XPS E AFM DA SUPERFÍCIE DE BLENDA DE PVC/PHB**. 2005. PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO DE JANEIRO, Rio de Janeiro, Brazil, 2005.
- BACH, D. B.; LOPES, M. A. Estudo da viabilidade econômica do cultivo da babosa (aloe vera L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1136–1144, ago. 2007.
- BARBOSA-FILHO, J. M. et al. Teor de bixina em quatro variedades de Bixa orellana L. cultivadas na Paraíba. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 7–8, n. 1, p. 41–47, 1998.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. de M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná : a visão dos profissionais de saúde The use of phytotherapy and medicinal plants in primary healthcare units in the citie. **Clinica e Saude**, p. 2675–2686, 2011.
- CARVALHO, P. S. P. de et al. Biomateriais aplicados a Implantodontia Biomaterials applied to Implantology. **REVISTA IMPLANTNEWS**, p. 56–65, 2010.
- CHEN, G.-Q. A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio- and materials industry. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 8, p. 2434, ago. 2009.
- CHINI, L. T. et al. O uso do Aloe sp (aloe vera) em feridas agudas e crônicas: revisão integrativa. **Aquichan**, v. 17, n. 1, p. 7–17, 1 dez. 2017.
- CHOI, S.; CHUNG, M.-H. A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects. **Seminars in Integrative Medicine**, v. 1, n. 1, p. 53–62, 1 mar. 2003.
- CONZ, M. B.; GRANJEIRO, J. M.; SOARES, G. de A. Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications as bone graft. **Journal of Applied Oral Science**, v. 13, n. 2, p. 136–140, jun. 2005.
- COSTA, C. L. S. da; CHAVES, M. H. Extração de pigmentos das sementes de Bixa orellana L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 149–152, fev. 2005.
- COUTINHO, B. C. et al. A IMPORTÂNCIA E AS VANTAGENS DO POLIHIDROXIBUTIRATO (PLÁSTICO BIODEGRADÁVEL). **HOLOS**, v. 3, n. 0, p. 76, 24 dez. 2007.
- DUARTE, M. A. T. et al. Estudo da Compactação a Frio de Poli (3-Hidroxibutirato)- Morfologia e Resistência à Compressão. **Revista Matéria**, v. 9, n. ISSN 1517-7076, p. 386 – 391, 2004.
- ESPOSITO, A. R. et al. Citocompatibilidade de Blendas de Poli((hidroxi butirato) (PPD/PHB) para Aplicações em Engenharia de Tecido Cartilaginoso. **Polímeros**, v.

20, p. 383–388, 2010.

FERNANDES, L. L. **Produção e caracterização de membranas de quitosana e quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. 2009. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.

FRANCO, K. L. et al. Hidroxiapatita sintética pura, hidroxiapatita sintética associada ao colágeno e hidroxiapatita sintética associada ao lipossoma como substitutos ósseos em defeitos provocados na tíbia de cães: aspectos da osteointegração à microscopia de luz transmitida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 4, p. 1–7, ago. 2001.

FREITAS, V.S.; RODRIGUES, R.A.F. and GASPI, F.O.G.. **Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Burm. f.** *Rev. bras. plantas med.*[online]. 2014, vol.16, n.2, pp.299-307. ISSN 1516-0572.

GALEGO, N.; MIGUENS, F. C.; SÁNCHEZ, R. Physical and functional characterization of PHASCL membranes. **Polymer**, v. 43, n. 10, p. 3109–3114, 2002.

GARCIA, C. E. R. et al. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos côneos. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1510–1517, ago. 2012.

GODINHO, J. F. **HIDROGÉIS DE CELULOSE BACTERIANA INCORPORADOS COM FRAÇÕES DE *Aloe vera***. 2014. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2014.

GODINHO, J. F. et al. Microestrutura e Propriedades Mecânicas de Hidrogéis Compósitos de Celulose Bacteriana e Aloe Vera. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, São Paulo. **Anais**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, fev. 2015.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1352–1358, 2010.

HAFUKA, A. et al. Effect of feeding regimens on polyhydroxybutyrate production from food wastes by *Cupriavidus necator* Bioresource Technology. **Bioresource Technology**, 102(3), 3551-3553, 2011.

LEVY, L. W. & RIVADENEIRA, D. M. Annatto. In: Lauro, G. J. & Francis, F. J. (Ed.) Natural Foods Colorants. **Science and Technology**. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 115-152, 2000.

LIMA, R. J. C. et al. Taninos hidrolisáveis em *Bixa orellana* L. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 507–509, jun. 2006.

MONTEIRO, A. M. et al. Avaliação do efeito genotóxico da membrana Polihidroxibutirato/Norbixina/Etilenoglicol. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 77, 1 nov. 2016.

MUTHUKUMAR, T. et al. Preparation, characterization, and in vitro bioactivity of Bixa orellana extract-impregnated collagen microspheres. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 16, p. 5730–5737, 16 ago. 2014.

OLIVEIRA, J. S. De. **Caracterização, extração e purificação por cromatografia de compostos de urucum (Bixa orellana L.)**. 2005. Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

OLIVEIRA, L. S. de A. F. et al. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras Biomaterials for bone regeneration – Methods of analyses and future perspectives. **méd. biol**, v. 9, n. 1, p. 37–44, 2010.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. de M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: Fundamentos e aplicações**. 1.ed. 1.re ed. Rio de Janeiro - RJ: Cultura Médica: Guanabara Koogan, 2012.

PARENTE, L. M. L. et al. Aloe vera: botanical, phytochemical and therapeutic characteristics. **Arte Méd Ampl**, v. 33, n. 4, p. 160–164, 2013.

PIAIA, L. **Incorporação de Aloe vera em membranas de celulose bacteriana afeta a proliferação de fibroblastos e queratinócitos**. 2014. UFSC - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2014.

PINZÓN-GARCÍA, A. D. et al. Efficient cutaneous wound healing using bixin-loaded PCL nanofibers in diabetic mice. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 105, n. 7, p. 1938–1949, 1 out. 2017.

PIRES, A. L. R. et al. BIOMATERIALS: TYPES, APPLICATIONS, AND MARKET. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.

QUENTAL, A. C. et al. Blendas de PHB e seus copolímeros: miscibilidade e compatibilidade. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 438–446, 2010.

RAHMALIA, W.; FABRE, J.-F.; MOULOUNGUI, Z. Effects of Cyclohexane/Acetone Ratio on Bixin Extraction Yield by Accelerated Solvent Extraction Method. **Procedia Chemistry**, v. 14, p. 455–464, 1 jan. 2015.

RAMOS, A. de P.; PIMENTEL, L. C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização Effectiveness of Aloe vera on the tissue repair and healing process. **Brazilian Journal of Health v**, v. 2, n. 1, p. 40–48, 2011.

REIS, E. C. C. et al. Desenvolvimento e caracterização de membranas rígidas, osteocondutoras e reabsorvíveis de polihidroxibutirato e hidroxiapatita para regeneração periodontal. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 73–79, 2012.

ROA, J. P. B. et al. Síntese e caracterização do copolímero poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona) a partir de poli (3-hidroxibutirato) e poli(ϵ -caprolactona). **Polímeros**, v. 20, p. 221–226, 2010.

RODRIGUES, L. B. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, 4 out. 2013.

SANTOS, J. A. A. et al. Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3 suppl 1, p. 637–643, 2014.

SEEBACH, D.; FRITZ, M. G. Detection, synthesis, structure, and function of oligo(3-hydroxyalkanoates): contributions by synthetic organic chemists. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 25, n. 1, p. 217–236, 1999.

SELVIA, A. T. et al. Studies on the application of natural dye extract from Bixa orellana seeds for dyeing and finishing of leather. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 84–86, 1 maio 2013.

SILVA, E. C. da et al. EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E MINERALÓGICA DO CORANTE EXTRAÍDO DAS SEMENTES DE URUCUM. **22º CBECiMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, v. 1, n. 1, p. 8539–8546, 2016.

SILVA, F. M. S. e et al. MEMBRANAS ABSORVÍVEIS X NÃO-ABSORVÍVEIS NA IMPLANTODONTIA : REVISÃO DA LITERATURA Resorbable versus Non-Resorbable Membranes in Implantology : a Review of the literature. **Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac., Camaragibe**, v. 5458, n. 2, p. 19–24, 2005.

SILVA, P. I. Pollyanna ibrahim silva métodos de extração e caracterização de bixina e norbixina em sementes de urucum (. 2007. Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SILVA, P. I.; NACHTIGALL, A. M.; STRINGHETA, P. C. Fatores que influenciam a reação de saponificação dos carotenóides presentes no urucum (Bixa orellana L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. spe, p. 1892–1897, 2009.

SOUSA, W. J. B. de et al. Membranas de polihidroxi butirato com hidroxiapatita para utilização como biomaterial Membranes polyhydroxybutyrate with hydroxyapatite for use as biomaterials. **Revista Matéria**, v. Vol.22, n. N. 04, 2016a.

SOUSA, R. C. de A. L. M. M. F. et al. Genotoxicity Evaluation of Polystyrene Membrane with Collagen and Norbixin by Micronucleus Test and Comet Assay. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention ISSN (Online)**, v. 5, n. 4, p. 2319–6718, 2016b.

TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **Journal of the Royal Society, Interface**, v. 6 Suppl 3, n. Suppl 3, p. S311–24, 6 jun. 2009.

THEIN-HAN, W. W.; KITTYANANT, Y.; MISRA, R. D. K. Chitosan as scaffold matrix for tissue engineering. **Materials Science and Technology**, v. 24, n. 9, p. 1062–1075, 19 set. 2008.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A. Z. EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO, POR CLAE,

DE BIXINA E NORBIXINA EM COLORÍFICOS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 310–313, dez. 2001.

WAN, Y. et al. Adhesion and proliferation of OCT-1 osteoblast-like cells on micro- and nano-scale topography structured poly(l-lactide). **Biomaterials**, v. 26, n. 21, p. 4453–4459, 1 jul. 2005.

WRIGHT, T. W. Definitions in Biomaterials. **Journal of Biomechanics**, v. 22, n. 1, p. 79, 1 jan. 1989.

YANG, P. et al. Study of Anti-Myocardial Cell Oxidative Stress Action and Effect of Tanshinone IIA on Prohibitin Expression. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 30, n. 4, p. 259–264, 2010.

YUSÁ-MARCO, D. J. et al. CHARACTERIZATION OF COLOURING COMPOUNDS IN ANNATTO (BIXA ORELLANA L.) USED IN HISTORIC TEXTILES BY MEANS OF UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY AND FT-IR SPECTROSCOPY. **ARCHÉ. PUBLICACIÓN DEL INSTITUTO UNIVERSITARIO DE RESTAURACIÓN DEL PATRIMONIO DE LA UPV**, v. 3, p. 1–6, 2008.

ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Probing the binding between norbixin and dairy proteins by spectroscopy methods. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 611–616, 15 ago. 2013.