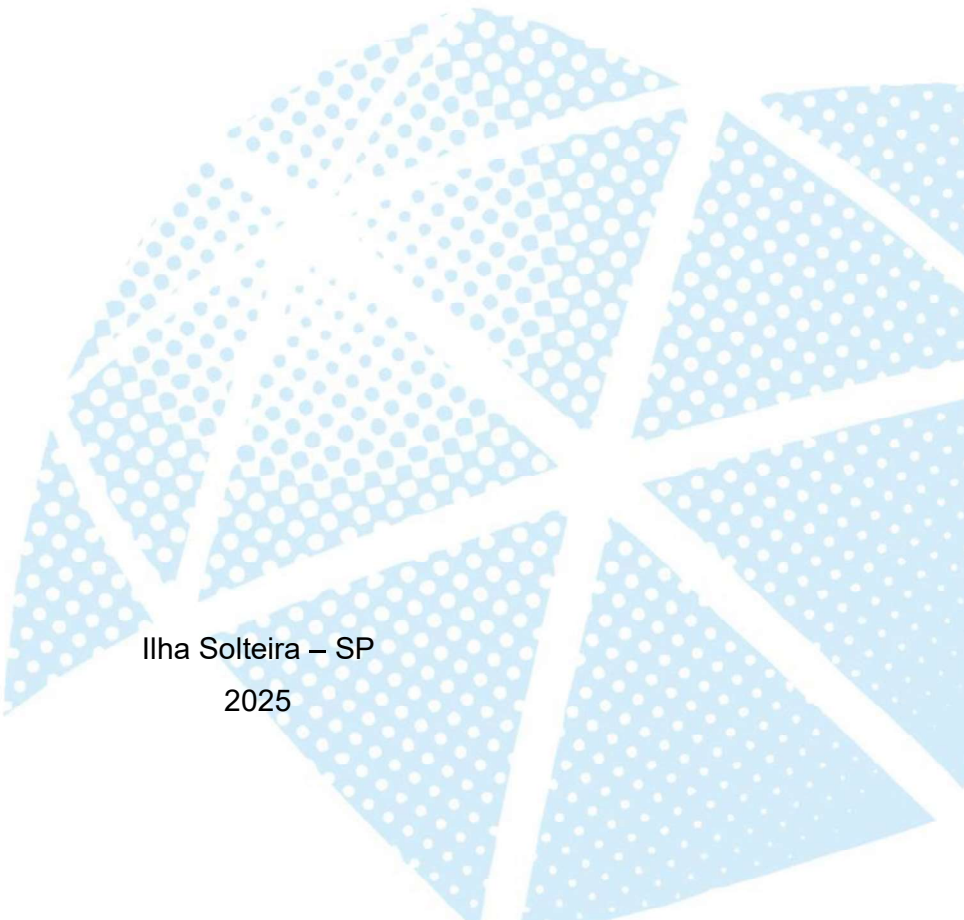


**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

ELOISA APARECIDA CARVALHO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE CURATIVO ELETROFIADO DE PVP/PCL COM ADIÇÃO
DE BIOATIVOS DA PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM**



Ilha Solteira – SP
2025

ELOISA APARECIDA CARVALHO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE CURATIVO ELETROFIADO DE PVP/PCL COM ADIÇÃO
DE BIOATIVOS DA PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, para obtenção do título de Mestra em Ciência dos Materiais.

Área de Concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Fernando Rogério de Paula

Coorientadora: Prof. Dra. Lígia Maria Manzine Costa

Ilha Solteira - SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

S586d Silva, Eloisa Aparecida Carvalho.
Desenvolvimento de curativo eletrofiado de PVP/PCL com adição de bioativos da própolis vermelha e marrom / Eloisa Aparecida Carvalho Silva. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025
104 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Engenharia de Materiais, 2025

Orientador: Fernando Rogério de Paula
Coorientador: Ligia Maria Manzine Costa
Inclui bibliografia

1. Microfibras. 2. Própolis. 3. Eletrofiação. 4. Blenda polimérica. 5. Atividade antimicrobiana.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O desenvolvimento de membranas poliméricas biodegradáveis e atóxicas de Policaprolactona (PCL) e Polivinilpirrolidona (PVP), juntamente com a incorporação dos bioativos contidos na própolis vermelha e marrom, em que na literatura possuem ação antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anticancerígena, entre outros benefícios, podem ser uma alternativa para a medicina para tratamento de lesões cutâneas crônicas e queimaduras. Além disso, o estudo e o uso da própolis agregam valor a este produto, favorecendo a apicultura nacional.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The development of biodegradable and non-toxic polymeric membranes of Polycaprolactone (PCL) and Polyvinylpyrrolidone (PVP), together with the incorporation of bioactives contained in red and brown propolis, which in the literature have antimicrobial, antifungal, antioxidant, anticancer action, among other benefits, can be an alternative to medicine for the treatment of chronic injuries and burns. In addition, the study and use of propolis add value to this product, favoring national beekeeping.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DESENVOLVIMENTO DE CURATIVO ELETROFIADO DE PVP/PCL COM
ADIÇÃO DE BIOATIVOS DA PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM

AUTORA: ELOISA APARECIDA CARVALHO SILVA

ORIENTADOR: FERNANDO ROGERIO DE PAULA

COORDINADORA: LIGIA MARIA MANZINE COSTA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência dos Materiais,
área: Ciência e Engenharia dos Materiais pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. FERNANDO ROGERIO DE PAULA (Participação Virtual)

Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Dra. KAILA PETRONILA MEDINA ALARCÓN DA SILVA (Participação Virtual)
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP

Profa. Dra. ADRIANA CARLA DE OLIVEIRA LOPES (Participação Virtual)
Centro de Tecnologia / Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Ilha Solteira, 24 de abril de 2025

Dedico este trabalho ao meu irmão Júnior César Carvalho da Silva, a minha mãe
Silvia Aparecida de Carvalho Silva, ao meu pai Jair Nobre da Silva e ao meu esposo
Hellyson Ribeiro Silva.

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre estar ao meu lado.

À minha mãe, Silvia, meu pai, Jair e o meu irmão, Júnior, por todo amor, amparo e incentivo a estudar.

Ao meu marido, Hellyson, por todo apoio, amor, carinho e que sempre compreendeu meus momentos de ausência.

Aos meus colegas de laboratório, Higor, Gabriel, Tamara, Pedro, Kaylaine pela parceria, especialmente ao Higor pela troca de conhecimentos e companheirismo que tornaram esse trabalho mais leve e alegre.

Ao meu orientador, Fernando, por todo ensinamento, paciência e compreensão.

À minha coorientadora, Ligia, por sempre estar disposta a ensinar, por toda dedicação e atenção.

Aos técnicos, Elton, pelas medidas de MEV e Mário, pela assistência técnica de reparos.

À Isabela, do Laboratório de Anatomia e Morfologia Vegetal, do Campus 2, da UNESP/FEIS, por nos receber e emprestar o equipamento de espectrofotômetro para a realização das medidas de caracterização dos extratos das própolis.

À professora Ana, a Kaila e demais colaboradores do Departamento de Análises clínicas da UNESP de Araraquara, pelo ensaio biológico realizado.

A todos os professores do Departamento de Física e Química do Programa de Pós-Graduação da UNESP do Campus de Ilha Solteira.

A empresa Agroindústria Favo de Mel (RS), que nos forneceu a própolis marrom.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“O Senhor é o meu pastor, nada me faltará.
Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me
mansamente a águas tranquilas” Salmos 23:1-2

RESUMO

Nos últimos tempos, a busca por tratamentos de lesões cutâneas com ações terapêuticas eficientes tem crescido evidentemente, especialmente para tratamento de lesões crônicas e queimaduras. Um dos caminhos mais promissores envolve a aplicação da técnica de eletrofiação, com o objetivo de produzir curativos na escala de nanofibras ou microfibras, em que imitam a estrutura da matriz extracelular da pele, favorecendo a cicatrização. Neste trabalho, foram desenvolvidos curativos eletrofiados a partir da combinação dos polímeros policaprolactona (PCL) e polivinilpirrolidona (PVP), na qual são materiais biodegradáveis e biocompatíveis, sendo o PCL hidrofóbico e o PVP hidrofílico, sendo este fundamental para facilitar a liberação de fármacos. A adição de substâncias naturais como os extratos da própolis vermelha e marrom se destacaram devido às suas propriedades cicatrizantes, antioxidantes e antibacterianas. Dessa maneira, surgiu uma alternativa inovadora para o tratamento de lesões cutâneas com potencial no processo de regeneração tecidual. Diante disso, neste estudo teve como objetivo produzir mantas poliméricas de PCL e PVP com incorporação dos extratos da própolis vermelha e marrom, por meio da técnica de eletrofiação. A blenda otimizada de PCL e PVP foi a de 75% de PVP e 25% de PCL, na qual apresentou o menor diâmetro das fibras eletrofiadas e melhoramento da hidrofiliabilidade devido ao PVP estar em maior proporção. Em relação as concentrações dos extratos da própolis vermelha e marrom, variou de 5% a 50%. Os extratos da própolis vermelha e marrom foram avaliados quanto a determinação do teor de fenóis totais, flavonoides e capacidade antioxidante. O extrato da própolis vermelha se destacou com 230,2 mgGAE/g de fenóis totais, 30,13 mgQE/g de flavonoides e a capacidade antioxidante com 90,29% de inibição do radical DPPH de concentração 0,1mM. As mantas poliméricas foram avaliadas quanto as propriedades morfológicas, químicas, mecânicas e biológicas. A morfologia das mantas, revelada pela Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), apresentou diâmetro médio abaixo de 1,3 μ m. Em relação ao ensaio mecânico no qual é importante para verificar a resistência mecânica dos curativos, pode-se obter que o PVP e os extratos da própolis vermelha e marrom influenciaram para redução da deformação do material e o PCL foi fundamental para fornecer a estrutura adequada quanto a ductibilidade e flexibilidade para os curativos. Em relação às propriedades biológicas, as mantas eletrofiadas contendo extrato da própolis marrom foi eficaz para *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negativas) e Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 62,5 μ g/mL para ambas, e a própolis vermelha apresentou eficácia para a *Klebsiella pneumoniae* (gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* (gram-positiva) e CIM de 31,3 μ g/mL para ambas. Assim, esta combinação das mantas poliméricas com a adição de própolis vermelha e marrom pode ser uma boa alternativa para desenvolver curativos mais eficientes atrelados à proteção da área machucada e o combate à microrganismos favorecendo a cicatrização.

Palavras-chave: Microfibras; Própolis; Eletrofiação; Blenda Polimérica; Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

In recent times, the search for treatments for skin lesions with efficient therapeutic actions has evidently grown, especially for the treatment of chronic lesions and burns. One of the most promising paths involves the application of the electrospinning technique, with the aim of producing dressings on a nanofiber or microfiber scale, which imitate the structure of the skin's extracellular matrix, promoting healing. In this work, electrospun dressings were developed from the combination of the polymers polycaprolactone (PCL) and polyvinylpyrrolidone (PVP), which are biodegradable and biocompatible materials, with PCL being hydrophobic and PVP hydrophilic, the latter being essential to facilitate the release of drugs. The addition of natural substances such as red and brown propolis extracts stood out due to their healing, antioxidant and antibacterial properties. Thus, an innovative alternative for the treatment of skin lesions with potential in the tissue regeneration process emerged. In view of this, this study aimed to produce polymeric sheets of PCL and PVP with incorporation of red and brown propolis extracts, through the electrospinning technique. The optimized blend of PCL and PVP was that of 75% PVP and 25% PCL, which presented the smallest diameter of the electrospun fibers and improved hydrophilicity due to the PVP being in a greater proportion. Regarding the concentrations of the red and brown propolis extracts, they varied from 5% to 50%. The red and brown propolis extracts were evaluated for determination of the content of total phenols, flavonoids and antioxidant capacity. The red propolis extract stood out with 230.2 mgGAE/g of total phenols, 30.13 mgQE/g of flavonoids and antioxidant capacity with 90.29% inhibition of the DPPH radical at a concentration of 0.1 mM. The polymeric membranes were evaluated for their morphological, chemical, mechanical and biological properties. The morphology of the membranes, revealed by Scanning Electron Microscopy (SEM), showed an average diameter below 1.3 μm . Regarding the mechanical test, which is important to verify the mechanical resistance of the dressings, it was observed that PVP and the extracts of red and brown propolis influenced the reduction of material deformation and PCL was essential to provide the adequate structure for ductility and flexibility for the dressings. Regarding biological properties, the electrospun sheets containing brown propolis extract were effective against *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negative) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 62.5 $\mu\text{g/mL}$ for both, and red propolis was effective against *Klebsiella pneumoniae* (gram-negative) and *Staphylococcus aureus* (gram-positive) and MIC of 31.3 $\mu\text{g/mL}$ for both. Thus, this combination of polymer sheets with the addition of red and brown propolis may be a good alternative to develop more efficient dressings linked to the protection of the injured area and the fight against microorganisms, favoring healing.

Keywords: Microfibers; Propolis; Electrospinning; Polymeric Blend; Antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pé com prótese de madeira no dedão.....	21
Figura 2 - Prótese modular de quadril de metal e o acetábulo de polietileno.....	23
Figura 3 - Design e Impressão 3D de prótese maxilofacial cerâmica com poros gradientes.....	24
Figura 4 - Esquema molecular da formação de polímeros	24
Figura 5 - Aplicação das scaffolds	25
Figura 6 - Representação da estrutura química do polímero policaprolactona	26
Figura 7 - Representação da estrutura química do polímero poli(vinilpirrolidona)	27
Figura 8 - Abelha Apis mellifera depositando própolis na colmeia	30
Figura 9 - Estruturas de diferentes substâncias encontradas na própolis	31
Figura 10 - (A) Abelha Apis mellifera coletando material das folhas da Baccharis dracunculifolia, (B) Abelha preenchendo frestas da colmeia com própolis verde	32
Figura 11 - Coleta de resina de Dalbergia ecastophyllum para produção de própolis. (A) Resina saindo do caule de Dalbergia ecastophyllum, (B) Coleta do material por abelhas Apis mellifera, (C)	33
Figura 12 - Estrutura básica de um flavonoide	34
Figura 13 - Classe de flavonoides encontrados na própolis	34
Figura 14 - Amostra de própolis marrom	35
Figura 15 - Representação esquemática da técnica de eletrofiação.....	40
Figura 16 - Fluxograma do processo de obtenção do extrato seco.....	46
Figura 17- Extratos secos a) extrato de própolis vermelha b) Extrato de própolis marrom	47
Figura 18- Esquema da avaliação biológica	51
Figura 19 - Esquema do processo de eletrofiação	52
Figura 20 - Curva padrão de ácido gálico para quantificação de fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu.....	57
Figura 21 - Curva padrão de quercetina para a quantificação de flavonoides pelo método AlCl ₃	59
Figura 22 - Perfil da capacidade antioxidante do extrato etanólico de própolis vermelha e marrom ..	62
Figura 23- Mantas Eletrofiadas a) contendo variações de extrato de própolis vermelha; b) contendo variações de extrato de própolis marrom.....	66
Figura 24 - Diâmetro das fibras 100% PCL	68
Figura 25 - Diâmetro das Fibras 75% PCL e 25% PVP	68
Figura 26 - Diâmetro das Fibras 50% PCL e 50%PVP	68
Figura 27 - Diâmetro das Fibras 25% PCL e 75% PVP	69
Figura 28 - Diâmetro das Fibras 100% PVP	69
Figura 29 - Diâmetro das Fibras contendo 5% de própolis marrom	71
Figura 30 - Diâmetro das Fibras contendo 10% de própolis marrom	71
Figura 31 - Diâmetro das Fibras contendo 15% de própolis marrom	72
Figura 32 - Diâmetro das Fibras contendo 25% de própolis marrom	72
Figura 33 - Diâmetro das Fibras contendo 50% de própolis marrom	72
Figura 34 - Diâmetro das Fibras contendo 5% de própolis vermelha.....	74

Figura 35 - Diâmetro das Fibras contendo 10% de própolis vermelha	75
Figura 36 - Diâmetro das Fibras contendo 15% de própolis vermelha	75
Figura 37 - Diâmetro das Fibras contendo 25% de própolis vermelha	75
Figura 38 - Espectros FTIR das mantas contendo PCL, PVP e extrato de própolis vermelha	77
Figura 39 - Espectros FTIR das mantas contendo PCL, PVP e extrato de própolis marrom.....	77
Figura 40 - Curvas representativas do comportamento tensão x deformação das mantas contendo extrato de própolis vermelha, juntamente com 100% PCL e 100% PVP	81
Figura 41 - Curvas representativas do comportamento tensão x deformação das mantas contendo extrato de própolis vermelha, juntamente com 100% PCL e 100% PVP	82
Figura 42- Curvas de TGA das mantas eletrofiadas	84
Figura 43- Curvas DTG das mantas eletrofiadas.....	84
Figura 44 - Teste de liberação da blenda contendo própolis vermelha (a) em 30 minutos, (b) em 24 horas, (c) 48 horas, (d)72 horas, (e) 96 horas, (f) 168 horas.....	86
Figura 45 - Teste de liberação da blenda contendo própolis marrom, (a) em 30 minutos, (b) 24 horas, (c) 48 horas, (d) 72 horas, (e) 96 horas, (f) 168 horas.....	88
Figura 46 - Gráfico da razão massa final-massa inicial no período de 0,5 a 168h referente ao processo de liberação de própolis vermelho e marrom	91
Figura 47 - Produto e subproduto do teste de liberação das mantas poliméricas contendo extrato de própolis vermelho e marrom.....	92
Figura 48 - Gráfico do estudo de liberação do líquido sobressalente contendo própolis vermelho, absorbância x tempo	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Curva padrão de flavonoides	49
Tabela 2 - Proporção da solução polimérica.....	52
Tabela 3 - Proporção das mantas contendo extrato de própolis vermelha e marrom	53
Tabela 4 - Descrição das massas das amostras dentro do intervalo de tempo de 0,5 a 168 horas	55
Tabela 5 - Rendimento dos extratos secos das própolis vermelha e marrom.....	56
Tabela 6 - Teor de Fenóis Totais em equivalentes de ácido gálico por grama de própolis	58
Tabela 7 - Valores obtidos de flavonoides em equivalentes de quercetina por grama de própolis e em porcentagem.....	60
Tabela 8 - Resultados CIM e CBM dos extratos de própolis vermelha e marrom.....	64
Tabela 9 - Relação dos diâmetros médios das fibras e o desvio padrão	69
Tabela 10 - Diâmetro médio e desvio padrão das blendas poliméricas variando a porcentagem de própolis marrom.....	73
Tabela 11 - Diâmetro médio das blendas poliméricas variando a porcentagem de própolis vermelha	76
Tabela 12 - Propriedades mecânicas das mantas eletrofiadas	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação dos tipos de própolis brasileira	32
Quadro 2 - Substâncias descritas em própolis marrom brasileira	37
Quadro 3 - Atribuições das vibrações dos compostos do PCL e PVP	79
Quadro 4 - Atribuições das vibrações dos compostos dos extratos de própolis vermelha e marrom ..	80

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

3D	Tridimensional
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais
ATR	Refletância Total Atenuada
CAPE	Fenil éster do ácido cafeico
cm	Centímetro
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FDA	Administração Federal de Alimentos e Medicamentos
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
g	Grama
h	Hora
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
IPN	Polímeros interpenetrantes
KBr	Brometo de Potássio
KV	Quilovolt
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mgGAE.g ⁻¹	Miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de própolis
mgQE.g ⁻¹	Miligramas de equivalente de quercetina por grama de própolis
min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Massa molecular
mm	Milímetro
Mpa	Megapascal
N	Newton
nm	Nanômetro
PCL	Policaprolactona
PGA	Poli(ácido glicólico)
PLA	Poli(ácido láctico)
PVP	Polivinilpirrolidona
R ²	Coefficiente de Determinação
Tf	Temperatura de fusão
Tg	Transição vítrea
v/v	Volume/volume
μL	Microlitro
μg	Micrograma
CLSI	Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial
DTG	Termogravimetria derivada
TGA	Termogravimetria

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 BIOMATERIAIS	21
2.1.1 Policaprolactona - PCL	26
2.1.2 Poli(vinilpirrolidona) – PVP	27
2.2 BLENDAS POLIMÉRICAS.....	27
2.2.1 Blenda Polimérica PCL/PVP	28
2.3 PRÓPOLIS	29
2.3.1 Própolis Vermelha.....	32
2.3.2 Própolis Marrom.....	35
2.4 ENGENHARIA DE TECIDOS.....	38
2.5 A TÉCNICA DE ELETROFIAÇÃO.....	39
2.5.1 Parâmetros Da Solução	41
2.5.2 Parâmetros do Processo	41
2.5.3 Parâmetros Ambientais: Temperatura e umidade.....	43
3 OBJETIVOS.....	44
3.1 OBJETIVO GERAL	44
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
4 MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 MATERIAIS	45
4.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DO EXTRATO CONCENTRADO DE PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM.....	45
4.2.1 Caracterização do extrato das própolis vermelha e marrom	46
4.3 PREPARO DA MATRIZ BLENDAS (PVP/PCL).....	52
4.3.1 Preparo da blenda incorporada com as própolis	53
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MANTAS	54
4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	54

4.4.2 Caracterização por espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR)	54
4.4.3 Ensaios Mecânicos	54
4.4.4 Teste de Liberação.....	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DA PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM.....	56
5.1.1 Fenóis totais	57
5.1.2 Flavonoides	59
5.1.3 Capacidade Antioxidante.....	61
5.1.4 Avaliação da Atividade Antibacteriana – (CIM)	63
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MANTAS ELETROFIADAS	65
5.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	66
5.2.2 Espectroscopia Infravermelho Com Transformada De Fourier – FTIR	76
5.2.3 Propriedades mecânicas das mantas eletrofiadas	81
5.2.4 Teste de liberação	86
6 CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS.....	97

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior e mais extenso órgão do corpo humano. Funciona como uma interação entre o ambiente externo e o corpo, protegendo-o contra lesões físicas e químicas, micróbios, desidratação e perda de calor [1,2]. No entanto, vários danos, normalmente sob a forma de feridas, podem afetar sua anatomia e fisiologia.

A lesão cutânea é uma violação da própria integridade do tecido no corpo humano que é resultante de traumas de natureza física ou mecânica [3]. Esse tipo de lesão representa ameaça significativa para a saúde, pois permite pontos de acesso a bactérias patogênicas, o que pode levar a graves infecções. Além disso, o fluido líquido corporal, desprotegido a partir da lesão, pode comprometer a homeostase e outras condições fisiológicas que levam à desidratação [4]. Nestes casos, é essencial fechá-la com rapidez e eficácia para que infecções secundárias e a perda líquida não ocorram.

Os curativos desempenham um papel essencial na proteção de lesões, atuando como uma barreira física contra a invasão de patógenos, o que reduz significativamente o risco de infecções. Além disso, promovem um ambiente úmido, condição ideal para a regeneração epitelial, favorecendo, assim, o processo de cicatrização [4].

Nas últimas décadas, o campo da regeneração tecidual tem experimentado avanços significativos. As últimas conquistas nesta área foram impelidas por uma inovadora área em medicina regenerativa, chamada engenharia de tecidos. Essa nova área consiste na procura de novas formas de auxiliar nas reparações e regeneração dos mais variados tecidos e órgãos do corpo humano lesionados. A engenharia de tecidos integra métodos de biologia celular, biomateriais e fatores de crescimento para ativar o potencial de regeneração dos tecidos afetados da melhor forma possível [5].

Um dos principais elementos necessários para o sucesso da engenharia de tecidos são os *scaffolds*, estruturas de suporte usadas para a fixação e regeneração de tecidos [5]. A estrutura tridimensional deles os torna semelhante à matriz extracelular, criando um ambiente útil para a formação de novos tecidos [5-6].

Para a engenharia de tecidos da pele, os *scaffolds* ideais devem atender a critérios específicos: ter uma química de superfície controlada, ser altamente poroso, biocompatível, não tóxico, não inflamatório, ter grande razão entre a área de superfície e o volume, ter propriedades físicas e mecânicas adequadas e formato semelhante à

ferida [5-7]. A porosidade é uma das características críticas para os biomateriais, uma vez que afeta a integração dos *scaffolds* com os tecidos adjacentes e a formação de novos vasos sanguíneos.

No âmbito do desenvolvimento de novas tecnologias de tecidos, a eletrofiação tem sido uma das técnicas mais empregadas, devido à versatilidade, baixo custo e capacidade de produzir micro/nanofibras [5-7]. As fibras obtidas por eletrofiação possuem propriedades de interesse, incluindo alta porosidade, propriedades mecânicas excelentes, grande área superficial e permeabilidade, que as torna similares à estrutura da matriz extracelular [8].

Além disso, a eletrofiação é atraente por ser um método econômico e com a capacidade de produção de fibras de vários materiais diferentes de maneira simples e de facilidade de processamento [9]. Vários tipos de polímeros, para a formação de fibras, são descritos na literatura, no entanto, o polímero policaprolactona (PCL) se destaca devido a capacidade de formar fibras, biocompatibilidade e biodegradabilidade, fornecendo boa resistência mecânica as mantas eletrofiadas [10-11]. No entanto, a hidrofobicidade do PCL e sua taxa de degradação relativamente lenta pode ser uma desvantagem em áreas que exijam a utilização de compostos bioativos [12]. Por isso, é preciso incorporar polímeros hidrofílicos para garantir mais locais de reconhecimentos celulares, o que melhora as propriedades biocompatíveis do PCL e a liberação de fármacos. Neste caso, o Polivinilpirrolidona (PVP) foi o escolha neste trabalho pelas propriedades hidrofílicas, segurança e aplicabilidade em muitas áreas, como medicina, farmacologia e alimentos [13].

A adição de substâncias bioativas em curativos tem sido amplamente discutida na literatura, com destaque para a incorporação de própolis, que pode potencializar a eficácia na cicatrização de feridas [1-2]

A própolis é antifúngica [14], antibacteriana [15], antisséptica [16], que são de grande importância no processo de cicatrização, também é antioxidante [17] e possui propriedades antitumorais [18]. A composição da própolis varia com a estação, a diversidade da flora disponível, as condições climáticas e a abelha. Dessa forma, a própolis é rica em várias substâncias químicas, como flavonoides, ácidos fenólicos, aldeídos aromáticos, álcoois, esteroides e ácidos graxos que possuem propriedades antibacterianas, antifúngicas e anti-inflamatórias [19].

A elevada complexidade química da própolis brasileira é atribuída à ampla diversidade florística encontrada nas distintas regiões do país [19]. O presente estudo

teve como foco a análise da própolis marrom proveniente da região Sul do Brasil, especificamente do estado do Rio Grande do Sul, bem como da própolis vermelha originária do estado de Alagoas. Ambas as amostras foram caracterizadas quanto a sua composição química e suas potenciais atividades biológicas.

A própolis marrom é uma substância resinosa produzida pela espécie *Apis mellifera*, obtida a partir da coleta de exsudatos de diversas espécies vegetais, incluindo *Araucaria angustifolia*, *Copaifera langsdorffii* e *Baccharis dracunculifolia* [19-20]. Sua composição química é altamente complexa e compreende diferentes classes de metabólitos secundários. Destacam-se, entre esses compostos, os fenólicos derivados dos ácidos benzoico e cinâmico, os compostos fenólicos prenilados, a artepillina C, além de ácidos graxos e flavonoides [19].

A própolis vermelha, produzida por *Apis mellifera*, é derivada do exsudato da planta *Dalbergia ecastophyllum*, comumente conhecida como rabo-de-bugio e encontrado nos manguezais da região nordeste do Brasil. De acordo com estudos científicos a composição fitoquímica dessa própolis brasileira é notavelmente rica em flavonoides, os quais constituem mais de 60% do seu perfil químico [21] o que confere a ela uma gama diversificada de aplicações no campo da saúde.

Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo comparar as mantas obtidas pela técnica de eletrofiação, variando-se as proporções das própolis vermelha e marrom.

Será utilizado uma blenda polimérica composta pelo PCL e um agente carreador de ativos, o PVP. Ambos os polímeros são notáveis por suas propriedades atóxicas, biodegradáveis e bioabsorvíveis, o que os torna adequados para aplicações biomédicas principalmente na obtenção de curativo com características que assegurem condições favoráveis à regeneração dos tecidos lesados, assim como a liberação controlada dos ativos durante o tratamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOMATERIAIS

Os biomateriais são substâncias naturais ou sintéticas projetadas para interagir com sistemas biológicos com a finalidade de reparar, substituir ou servir de apoio a tecidos, órgãos ou mesmo funções fisiológicas. O uso visa restaurar a integridade estrutural e funcional do corpo e ajudar a manter ou melhorar a qualidade de vida do paciente [22].

Eles são usados em diferentes aplicações médicas, tais como dispositivos odontológicos, dispositivos oftalmológicos, dispositivos para a reconstrução de tecido mole, implantes cardiovasculares e para a entrega de medicamentos de forma controlada [23].

A utilização dos biomateriais remonta à antiguidade, por exemplo no Antigo Egito, por volta de 2000 a.C., utilizavam-se suturas de linho e ouro em procedimentos médicos [24]. Há relatos de substitutos ósseos feitos de madeira (ver Figura 1), encontrados tanto no Antigo Egito quanto na Europa Medieval, nos quais foi observada uma eficiente osseointegração. Conchas de aproximadamente 600 a.C foram utilizadas como dentes artificiais pelos maias. Os vários exemplos mostram a aplicação de biomateriais para correção de problemas relacionados à saúde humana desde a antiguidade sendo, portanto, uma prática antiga e amplamente difundida entre diferentes culturas [24].

Figura 1 - Pé com prótese de madeira no dedão



Fonte: ref [25]

Os desenvolvimentos dos materiais biomédicos evoluíram aos longos dos séculos e passaram nas últimas décadas a ser de interesse de investigações científica em diferentes áreas [24].

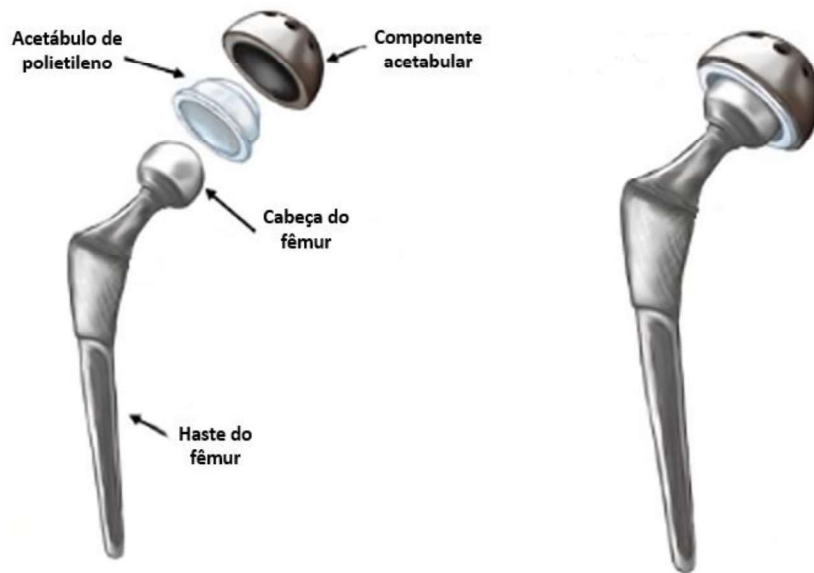
A busca de matérias bioinertes, ou seja, que não induzem reações significativas no organismo do ser vivo, se tornou mais ativo a partir da década de 1950. Com o avanço das pesquisas, houve um deslocamento gradual do foco para a bioatividade dos biomateriais e, mais recentemente, para a regeneração de tecidos funcionais, com ênfase nas interações biológicas [26]. O desenvolvimento desses materiais tinha como objetivos minimizando as respostas biológicas indesejadas ao corpo humano assim como fornecer suporte mecânico ou mesmo substituir tecidos danificados.

Materiais bioativos com propriedades biodegradáveis também estão sendo produzidos podendo oferecer um suporte temporário assim como uma interação com o tecido que ao longo do tempo pode ser absorvido pelo organismo [24]. Além disso, o conceito de biomimética foi incorporado ao desenvolvimento de biomateriais, referindo-se a materiais que, além de serem biocompatíveis, participam ativamente do processo de regeneração, estimulando a recuperação tecidual em nível celular [26].

Na prática clínica, os biomateriais podem ser organizados em função das propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e biodegradabilidade [24, 27]. Além do mais, dependendo da natureza, podem ser classificados como metais, cerâmicas, polímeros (sintéticos ou naturais) e compósitos [27].

Os biomateriais metálicos, como mostrado na Figura 2, apresentam propriedades mecânicas superiores, como elevada resistência à fratura e à fadiga. Essas características tornam esses materiais adequados para aplicações em dispositivos médicos, como parafusos ortopédicos, implantes dentários e *stents* [28]. No desenvolvimento desses materiais os aços inoxidáveis, as ligas de titânio, o titânio comercialmente puro e as ligas de cobalto-cromo são largamente utilizados [28].

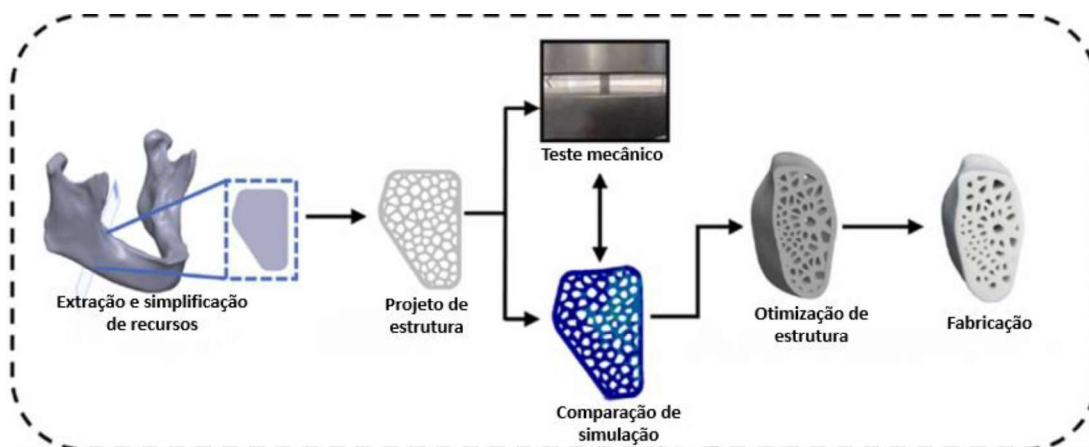
Figura 2 - Prótese modular de quadril de metal e o acetábulo de polietileno



Fonte: Adaptado ref. [29]

Outra classe de materiais comumente empregada em aplicações biomiméticas é a cerâmica, a qual se destaca por suas propriedades cristalográficas e pela alta capacidade de compatibilidade química com ambientes fisiológicos. Essa característica torna a cerâmica particularmente adequada para o uso em tecidos duros, como os ossos e os dentes [30], conforme ilustrado na Figura 3. Os materiais cerâmicos são compostos inorgânicos formados principalmente por elementos metálicos e não metálicos ligados por ligações iônicas e/ou covalentes e que possui alta resistividade elétrica e térmica [31]. Eles são particularmente vulneráveis à presença de trincas e outros defeitos, que podem atuar como pontos de nucleação para fraturas, comprometendo a integridade do material durante o uso. Devido a estes fatores, as cerâmicas não são recomendadas para aplicações em áreas sujeitas a altas tensões ou que requerem capacidade de suporte mecânico elevado [24, 27].

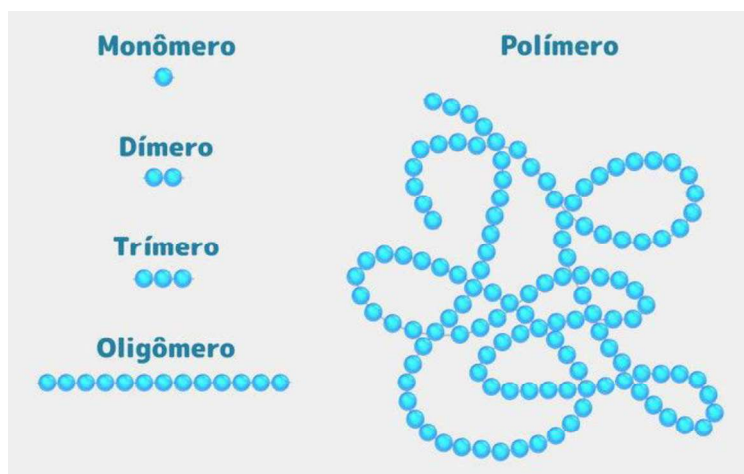
Figura 3 - Design e Impressão 3D de prótese maxilofacial cerâmica com poros gradientes



Fonte: ref. [32]

Quanto aos polímeros (Figura 4), eles representam a classe com maior diversidade de biomateriais, devido à ampla variedade de composições e propriedades [27,33]. Os polímeros são definidos como uma macromolécula que possui elevado número de unidades repetitivas, denominadas meros, que se encontram interligadas por ligações covalentes [30]. Cada polímero possui propriedades distintas que determinam suas aplicações específicas, incluindo a conformação das cadeias, a disposição das unidades monoméricas, a presença ou não de átomos ou grupos funcionais particulares, a rigidez estrutural, a polaridade da cadeia e a massa molar do polímero [34].

Figura 4 - Esquema molecular da formação de polímeros

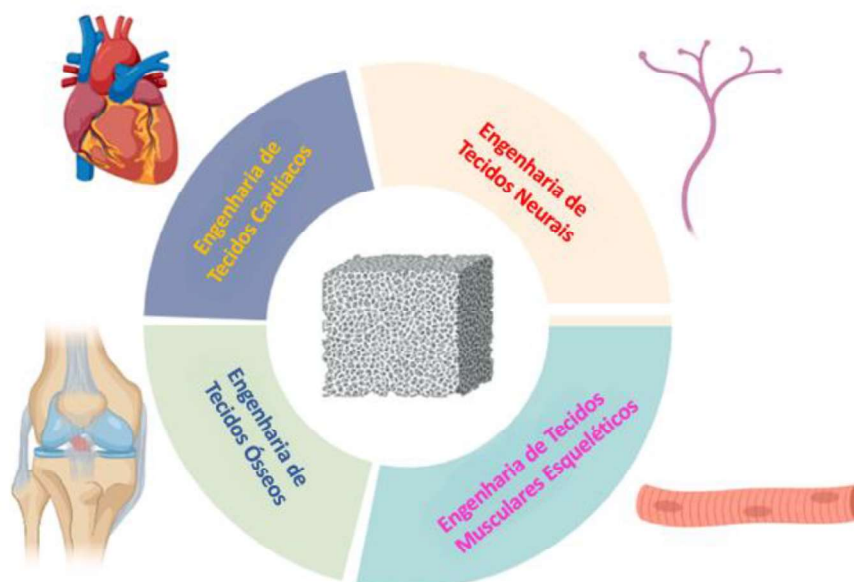


Fonte: ref. [35]

Os materiais poliméricos podem de ser obtidos por rotas químicas ou mesmo a partir de organismos vivos, classificando-se, assim, em polímeros sintéticos e naturais. Os polímeros sintéticos são os mais utilizados devido à maior estabilidade durante o uso, as propriedades bem definidas e reprodutíveis, além do custo reduzido [26].

Um dos campos em que a aplicação de biomateriais poliméricos tem demonstrado um crescimento significativo é na fabricação de *scaffolds*, utilizados na engenharia de tecidos (Figura 5). Este avanço está intrinsicamente associado ao desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos, e estender a diversas outras aplicações, como em sensores, dispositivos ortopédicos, oftálmicos, entre outros [33].

Figura 5 - Aplicação das scaffolds



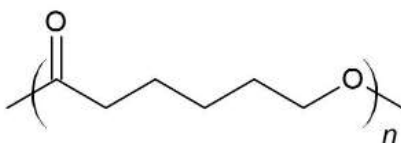
Fonte: ref. [36]

Do conjunto de polímeros utilizados na engenharia de tecidos, os biodegradáveis [24] como o PCL e o PVP são intensamente utilizados no desenvolvimento de dispositivos biomédicos para aplicações em engenharia tecidual [37].

2.1.1 Policaprolactona - PCL

O PCL é um poliéster alifático semicristalino com estrutura de cadeia linear, como mostrado na Figura 6. O PCL é sintetizado através da polimerização da abertura do anel da ϵ -caprolactona. Este polímero apresenta resistência à tração e capacidade de alongamento, além de ser biocompatível e biodegradável, com elevada hidrofobicidade [38]. Também apresenta estabilidade à alta temperatura, próximas de 350 °C. A temperatura de transição vítrea (T_g) varia entre -65 °C e -60 °C, enquanto a temperatura de fusão (T_f) entre 58 °C e 63 °C [39].

Figura 6 - Representação da estrutura química do polímero policaprolactona



Fonte: Próprio Autor (2024)

O PCL, tem sido extensamente investigado para aplicações biomédicas devido às excelentes características de biocompatibilidade e biodegradabilidade e baixa imunogenicidade. O PCL é um material que pode ser aplicado em sistemas de liberação controlada, bem como materiais de sutura e *scaffolds* em engenharia de tecidos [38]. De acordo com a Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA), o PCL é considerado como um dos polímeros com menor probabilidade de causar efeitos colaterais quando em contato com as estruturas e células do corpo humano [27,38]. Uma das grandes vantagens é que a taxa de gradação do PCL é semelhante à taxa de formação de tecidos ósseos [40], o que é particularmente relevante para aplicações como um biomaterial.

A degradação do PCL ocorre em duas fases: na primeira, ocorre hidrólise não enzimática dos grupos éster e na segunda etapa, macrófagos e fagossomos realizam a degradação intracelular do PCL [41]. Graças a esses dois processos, o polímero pode ser totalmente reabsorvido pelo corpo do paciente. A taxa de degradação pode ser ajustada pela copolimerização do polímero com lactones, glicolídeos e lactídeos [41]. Em contraste, a degradação por clivagem não enzimática do PCL é mais lenta

quando comparada a polímeros como o poli(ácido láctico) (PLA) e poli(ácido glicólico) (PGA) [42].

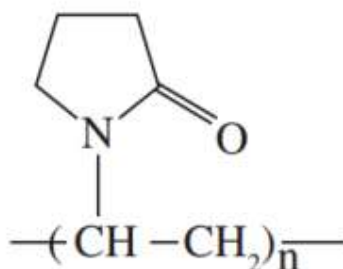
2.1.2 Poli(vinilpirrolidona) – PVP

O PVP é um polímero biodegradável e biocompatível, solúvel em água e possui um caráter anfifílico. A síntese pode ser realizada por polimerização em solução, utilizando radicais em água ou solventes orgânicos [43].

Descoberto por Walter Reppe em 1930, com fórmula molecular $(C_6H_9NO)_n$, foi inicialmente utilizado como substituto do plasma sanguíneo durante a Segunda Guerra Mundial [43], devido à sua baixa toxicidade.

Devido a sua estrutura amorfa (Figura 7) não apresenta temperatura de fusão. O PVP possui uma estrutura rígida, resultado da presença do grupamento pirrolidona, e exibe um elevado valor de transição vítrea, que varia de acordo com o grau de polimerização empregado na síntese, situando-se entre 110 °C e 180 °C [43].

Figura 7 - Representação da estrutura química do polímero poli(vinilpirrolidona)



Fonte: Adaptado ref. [44]

Devido a sua biocompatibilidade e alto grau de hidrofiliicidade, o PVP é amplamente aplicado na medicina e na indústria farmacêutica. Além do mais, tem propriedades lubrificantes e pode atuar como um eficaz estabilizante em processos de síntese de nanopartículas metálicas [44, 45].

2.2 BLENDA POLIMÉRICA

As blendas poliméricas são definidas como a mistura física de dois ou mais polímeros [34]. Devido à facilidade de produção e relativamente baixo custo, blendas

poliméricas têm atraído muita atenção na área de materiais. Ao combinar polímeros, as propriedades das blendas podem ter características inteiramente novas. Quando os polímeros são misturados ocorre a interação entre suas cadeias poliméricas que é de natureza intermolecular. Essas características permitem a separação dos polímeros por meio de processos físicos, como a solubilização e a precipitação fracionada [34].

Existem algumas abordagens para a obtenção de blendas poliméricas. O método de obtenção por solução envolve a dissolução dos polímeros em um solvente, acompanhado por evaporação desse solvente para a formação de um filme [46]. Em contraste, as blendas obtidas de polímeros interpenetrantes (IPN) são formadas por uma combinação de polímeros, onde os constituintes apresentam-se como reticulados que se interpenetram, resultando em um único sistema reticulado [47]. Já as blendas obtidas por meio de mistura mecânica podem ser processadas por técnicas como extrusão, injeção ou em misturadores intermitentes e são amplamente utilizadas na indústria [48].

2.2.1 Blenda Polimérica PCL/PVP

As pesquisas envolvendo blendas de PCL/PVP é pouco explorada. Um dos poucos exemplos da literatura, é o estudo de Kim et al. (2013) [37] que utilizou a eletrofição simultânea de PCL combinado com PVP para a produção de matrizes tridimensionais porosas, os chamados *scaffolds* para aplicação na engenharia de tecidos.

O objetivo de combinar esses dois polímeros decorre das propriedades já mencionadas do PCL, ou seja, compatibilidade com tecidos humanos e facilidade de processamento. Já o PVP por sua biocompatibilidade, alta solubilidade em água e na maioria dos solventes orgânicos.

Kim et al. [37], utilizou na mistura os solventes clorofórmio e metanol na proporção de 4:1 (v/v) e a morfologia das fibras eletrofiadas não apresentou a formação de *beads* (esferas) em toda a faixa de composição da mistura. O diâmetro médio das fibras obtidas de PCL puro foi de 1,20 μm . Foi observado no experimento um aumento do diâmetro com a adição de PVP até 40% em peso. Na análise mecânica, foi verificado que a presença de PVP reduz a resistência mecânica dos *scaffolds* [37].

A porosidade é um dos principais parâmetros na engenharia de tecidos. No estudo de Sohrabi et al. [49], observou-se que a porosidade do PCL puro foi de $(69 \pm 5)\%$. Após a adição de PVP, a porosidade aumentou para $(73 \pm 4)\%$. Essa variação na porosidade é crucial para avaliar a proximidade das células na conexão célula-célula. Em testes de biodegradação, ao longo de 28 dias, verificou-se que a degradação do PCL é insignificante [49]. Com a adição de PVP, observou-se um aumento na biodegradabilidade da mistura PCL/PVP em comparação ao PCL isoladamente, resultando em uma degradação significativa dos *scaffolds* após 28 dias.

Os resultados obtidos pelos diferentes estudos mostram que a combinação de PCL e PVP é promissor em aplicações como por exemplo em engenharia de tecidos e em engenharia de tecidos ósseos.

A combinação de PCL e PVP apresenta um potencial significativo em diversas aplicações, especialmente na produção de curativos bioativos com liberação controlada de fármacos. Dentre os agentes bioativos que podem ser incorporados a matrizes poliméricas, destaca-se a própolis, a qual tem sido proposta para a elaboração de curativos destinados à proteção de lesões cutâneas. Esses curativos, ao integrar própolis, podem proporcionar não apenas barreira física contra agressões externas, mas também atividades terapêuticas devido às propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias da própolis, favorecendo o processo de cicatrização e a prevenção de infecções.

2.3 PRÓPOLIS

A própolis é um produto natural que tem sido amplamente utilizado por várias civilizações há milhares de anos. Por exemplo, os antigos egípcios empregavam própolis, conhecido como “cera negra”, para embalsamar corpos. Egípcios, gregos e romanos usaram própolis para tratar feridas, e ela foi um dos agentes cicatrizantes principais [50,51].

É chamado de própolis o conjunto complexo de substâncias balsâmicas advindas de resinas de diversas partes das plantas (brotos, flores, ramos, látex, casca) e exsudatos vegetais de lesões e enzimas salivares [52], coletadas pelas abelhas operárias da espécie *Apis mellifera* e abelhas sem ferrão (*Meliponini*) [53]. Embora seja claramente um produto animal, boa parte dos componentes da própolis,

em especial os ativos, advém de plantas e não existem muitas modificações pelas abelhas. [52].

Figura 8 - Abelha *Apis mellifera* depositando própolis na colmeia



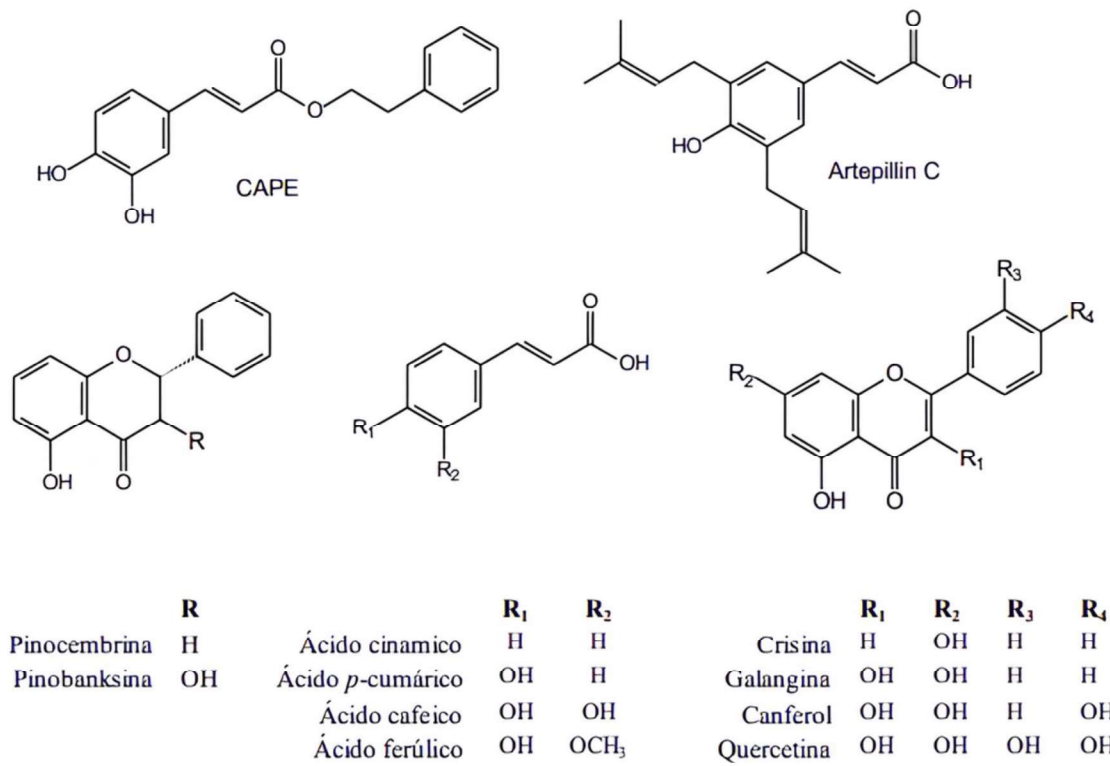
Fonte: Adaptado ref. [52]

O significado da palavra “própolis” deriva do grego, "pro-", que significa "em defesa", e "polis-" pode ser traduzida como “cidade” ou “comunidade”, ou seja, trata-se de uma substância que, em geral, tem como função a defesa da “cidade” apícola [52]. Nas colmeias, ela é usada para revestir fissuras, proteger contra ventos, construir e reparar a estrutura interna, embalsamar os corpos de intrusos, isolar termicamente, manter a umidade, impermeabilizar e, sobretudo, inibir o crescimento microbiano [52, 53].

Há grande variações na composição química em função das plantas locais [52, 53], embora a composição geral pareça consistir em aproximadamente 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleos essenciais, e 5% de pólen [51]. Além disso, outros fatores podem influenciar nesse quesito, como a espécie de abelha, a genética da rainha, e a existência de componentes incorporados à própolis, bem como as variações ambientais como a umidade, altitude, e sazonalidade [52].

A Figura 9 mostra a estrutura química de certas substâncias na própolis, como os grupos de compostos fenólicos, flavonoides (como flavonas, flavonóis, flavononas, di-hidroflavonóis, e as chalconas) e terpenos, além de β -esteroides, aldeídos, ésteres de ácido aromáticos, prenil benzofuranona, álcoois, cetonas, fenil éster do ácido cafeico (CAPE) e outras moléculas [51, 54]. De acordo com Sakhawy et al. [51], também são identificados açúcares em própolis, incluindo, por exemplo, sacarose, frutose, ribose, gulose e rhamnose, além de outros hidrocarbonetos, aminoácidos e elementos minerais.

Figura 9 - Estruturas de diferentes substâncias encontradas na própolis



Fonte: ref. [55]

Dentre as diferentes substâncias presentes na própolis destacam-se as substâncias fenólicas, ésteres de ácidos aromáticos e flavonoides, pois a eles são atribuídas as diversas atividades biológicas [55].

As amostras de própolis coletadas em diversas regiões do Brasil (com exceção da Região Norte) foram classificadas em 12 grupos com base na aparência e coloração dos extratos [56]. A própolis vermelha, recentemente descoberta, é encontrada ao longo do litoral e em manguezais no Nordeste brasileiro, e é classificada como pertencente ao grupo 13. Portanto, reconhecem-se 13 tipos de própolis catalogados [56, 57], conforme descrito no Quadro 1.

Dentre os tipos existentes, a própolis verde, (Figura 10), muitas vezes chamada de própolis brasileira, produzida, sobretudo no Sudeste do País, é a mais valorizada internacionalmente [55]. A própolis vermelha atualmente é a mais estudada tendo a composição química e as atividades farmacológicas bem conhecidas. Por outro lado, a própolis marrom tem sido objeto de menos investigação em comparação com as

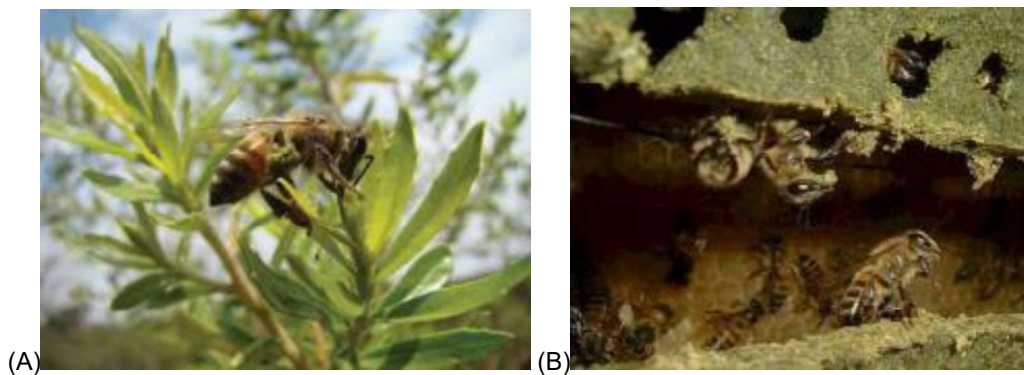
variedades verde e vermelha. Portanto, este estudo se concentrará nas análises das própolis vermelha e marrom [58].

Quadro 1 - Classificação dos tipos de própolis brasileira

Grupos	Cor	Origem
Grupo 1	Amarelo	Sul
Grupo 2	Castanho claro	Sul
Grupo 3	Castanho escuro	Sul
Grupo 4	Castanho claro	Sul
Grupo 5	Marrom esverdeado	Sul
Grupo 6	Marrom avermelhado	Nordeste
Grupo 7	Marrom esverdeado	Nordeste
Grupo 8	Castanho escuro	Nordeste
Grupo 9	Amarelo	Nordeste
Grupo 10	Amarelo escuro	Nordeste
Grupo 11	Amarelo	Nordeste
Grupo 12	Verde ou marrom esverdeado	Sudeste
Grupo 13	Vermelha	Nordeste

Fonte: Adaptado ref. [50]

Figura 10 - (A) Abelha *Apis mellifera* coletando material das folhas da *Baccharis dracunculifolia*, (B) Abelha preenchendo frestas da colmeia com própolis verde



Fonte: ref. [34]

2.3.1 Própolis Vermelha

A própolis vermelha é obtida no Nordeste do Brasil, em regiões localizadas nas proximidades de mar, rios e manguezais, mais precisamente da região de mangue do estado do Alagoas [59, 60]. A coloração avermelhada desse tipo de própolis é predominantemente atribuída à sua origem botânica, proveniente da planta *Dalbergia*

ecastophyllum, popularmente conhecida como rabo-de-bugio. A coleta da própolis vermelha está representada na Figura 11.

Figura 11 - Coleta de resina de *Dalbergia ecastophyllum* para produção de própolis. (A) Resina saindo do caule de *Dalbergia ecastophyllum*, (B) Coleta do material por abelhas *Apis mellifera*, (C)



Fonte: Ref. [60]

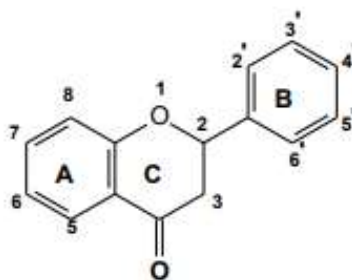
Possui similaridade com outros tipos de própolis, por exemplos as encontradas em Cuba e Veneza, porém com origem botânica distinta, garantindo, assim, a certificação do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), reconhecido internacionalmente e que dá direito à propriedade intelectual autônoma, indicando a origem de um determinado produto ou serviço [59, 61].

Entre a diversidade de componentes fitoquímicos existentes na própolis vermelha brasileira, os flavonoides se destacam, pois, representam mais de 60% da composição dos metabólitos secundários existentes no extrato, sendo os principais responsáveis pelos efeitos terapêuticos, possuindo ação antibacteriana, antiviral, antioxidante, cicatrizante, anticancerígena, anti-inflamatória. Tais propriedades conferem à própolis vermelha um potencial considerável para aplicações biomédicas, sendo que, quando combinada com outros materiais, promove sinergia que potencializa sua eficácia terapêutica [59, 61].

Os flavonoides são uma classe de compostos polifenólicos amplamente distribuídos em plantas e substâncias de origem vegetal. Eles são caracterizados por sua estrutura química complexa, composta por anéis fenólicos interconectados. Os flavonoides apresentam uma variedade de propriedades bioativas e são reconhecidos pela capacidade antioxidante, que envolve a neutralização de espécies reativas de oxigênio e a proteção contra danos oxidativos [59,61].

Os flavonoides são caracterizados por um esqueleto de 15 átomos de carbono disposto em três anéis (C6-C3-C6), que são chamados A, C e B (Figura 12) [55].

Figura 12 - Estrutura básica de um flavonoide

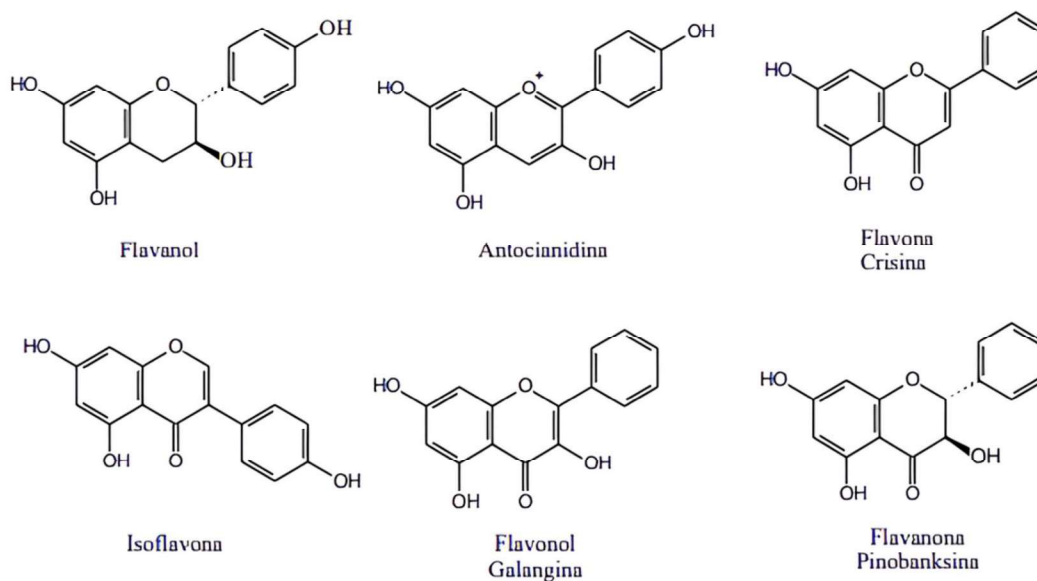


Fonte: ref. [55]

De acordo com as variações estruturais no anel C, existe uma subdivisão dos flavonoides em seis principais classes: flavanol, antocianidina, flavona, isoflavona, flavonol e flavanona, e podem ocorrer como não glicosilados, glicosilados e como derivados metilados (Figura 13) [55].

Na composição da própolis são encontrados diversos tipos de flavonoides: quercetina, galangina e canferol (flavonois); apigenina e crisina (flavona); pinocembrina, pinobanksina e naringenina (flavanonas). Outra característica da própolis de regiões temperadas é a presença de flavonoides sem substituintes no anel B, como a crisina, galangina, pinocembrina, pinobanksina [55].

Figura 13 - Classe de flavonoides encontrados na própolis



Fonte: ref. [55]

2.3.2 Própolis Marrom

A própolis marrom é uma substância que apresenta variações regionais, sendo frequentemente associada à produção proveniente de diferentes áreas geográficas. No entanto, no contexto da própolis marrom brasileira, é comumente referida como originária da região Sul do Brasil (Figura 14) [59].

Figura 14 - Amostra de própolis marrom



Fonte: ref. [58]

Mesmo apresentado uma grande variedade de princípios ativos a própolis marrom não recebeu a mesma atenção científica que as variedades verde e vermelha. Acredita-se que a origem botânica da própolis marrom é proveniente da *Araucaria angustifolia*, embora algumas substâncias encontradas na própolis marrom também estejam presentes em *Copaifera langsdorffii* e *Baccharis dracunculifolia* [59, 62].

Em relação a flora de origem, a *Araucaria angustifolia*, é conhecida como pinheiro-do-paraná ou pinho, pertencente à família Araucariaceae e grupo das coníferas. Localizada predominantemente na região sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Chile. Em relação aos ácidos fenólicos constituintes os principais são: nos ácidos gálico, benzóico, p-cumárico, hidroxicinâmico, ferúlico, cafeico, protocatecuico e derivados de éster de ácido clorogênico. No que se diz respeito aos flavonoides, estão presentes principalmente a catequina, epicatequina, apigenina, quercetina, e rutina, pertencentes às subclasses dos flavanoides, flavonas e flavonóis, respectivamente. Estes compostos são responsáveis pela elevada atividade antioxidante e antimutagênica [63].

Já a *Copaifera langsdorffii*, conhecida por pau-d'óleo ou copaíba, é uma espécie arbórea decídua ou semidecídua, heliófita, seletiva xerófita, ocorrente em diversas regiões, tais como: Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná [64]. Possui propriedades medicinais comprovadas como atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antiulcerogênica, antitumoral e cicatrizante [64]. Estudos realizados, apontam que esta espécie apresenta componentes químicos importantes, como flavonoides, alcaloides, cumarinas, entre outros [65]. Também é notado que além do óleo-resina também é utilizada a casca, folha, entrecasca, fruto, semente, raiz e seiva para tratar doenças [65].

Por fim, a *Baccharis dracunculifolia*, conhecida como alecrim-do-campo, pertence ao gênero *Baccharis* e família *Asteraceae*. É uma planta que habita campos secos e áreas alteradas, localizada na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai. No Brasil, está distribuída por todo país, especialmente em Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, ocorrendo nos biomas Cerrado, Pampa e Mata Atlântica. É notado que esta espécie tem chamado o interesse devido suas propriedades biológicas e potencial terapêutico como anti-inflamatória, antibacteriana e anticancerígena e apresentarem compostos fenólicos, flavonoides e terpenoides [66].

Em relação à concentração química da própolis marrom, os ácidos graxos, como o ácido oleico, ácido linoleico, ácido palmítico e ácido esteárico, bem como os compostos polifenólicos, especialmente os derivados do ácido cumárico e flavonoides, merecem destaque [67], conforme descrito no Quadro 2.

Quadro 2 - Substâncias descritas em própolis marrom brasileira

Substâncias	Referências
Flavonoides	
Flavanonas Hesperetina, pinocembrina	Waller et al., 2017
Flavonas Apigenina, crisina, luteolina e 5-metoxi-luteolina	Waller et al., 2017, Fernandes-Silva et al., 2013, Sawaya et al., 2004
Flavanonol Diidrokaempferide, metoxi-pinobanksina	Machado et al., 2016b, Fernandes-Silva et al., 2013
Flavonois Dimetil quercetina, galangina, isoramnetina, kaempferol, quercetina, rutina	Waller et al., 2017, Machado et al., 2016b, Fernandes-Silva et al., 2013
Ácidos Clorogênicos	
Ácido 3-O-cafeoilquínico, ácido 4-Ocafeoilquínico, ácido 5-O -cafeoilquínico, ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico, ácido 4,5-di-Ocafeoilquínico, ácido 3,4,5-tri-O-cafeoilquínico	Waller et al., 2017, Machado et al., 2016b, Fernandes-Silva et al., 2013
Ácidos Cinâmicos	
Ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico, hidrocínato de etila, ácido benzenopropânico, cinamato de metila, trans-cinamato de sitosterila, hidrocínato de metila	Waller et al., 2017, Machado et al., 2016a, Bittencourt et al., 2015, Fernandes-Silva, 2013 Santos, David & David, 2017
Ácidos Cinâmicos prenilados	
Artepilina C, ácido 4-hidróxi-3-prenil- cinâmico, ácido 3,4-diidroxi 5-prenil cinâmico, baccharina, drupanina, ácido 2,2dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico	Machado et al., 2016a, 2016b, Fonseca et al., 2011, Fernandes-Silva et al., 2013, Sawaya et al., 2004, Rodrigues et al., 2016
Outros fenólicos	
Ácido 4-hidróxido benzóico, ácido siríngico, ácido vanílico, ácido elágico, ácido 2,2-dimetil-6-carboxietil-2H-1benzopirano, ananixantona (xantona)	Waller et al., 2017, Bittencourt et al., 2015, Rodrigues et al., 2016, Santos, David e David, 2017
Terpenos	
Monoterpenos : α -pineno	Fernandes et al., 2015
Sesquiterpenos : 7-epi-sesquitujeno, alloaromadendreno, aromadendreno, cariofileno, espatulenol, germacreno D, trans-cadina-1,4-dieno, trans-nerolidol, viridifloreno, α -cadineno, α -cis-bergamoteno, α -copaeno, α -cubebeno, α -curcumeno, α -gurjuneno, α -himachaleno, α -humuleno, α -muuroleno, α -trans-bergamoteno, α -ylangeno, β -bisaboleno, β -curcumeno, β -elemeno, β -gurjuneno, β -selineno, γ -cadineno, γ -muuroleno	Bittencourt et al., 2015, Fernandes et al., 2015
Triterpenos : Cicloartenol, lupeol	Bittencourt et al., 2015
Ácidos Graxos	
Ácido cis-oleico, hexadecanoato de etila, oleato de etila, tetracosanoato de etila, γ -palmitolactona, ácido hexadecanóico, cis-9-octadecenoato de metila, hexadecanoato de metila, tetracosanoato de metila	Bittencourt et al., 2015

Fonte: Adaptado ref. [67]

Estudos recentes indicam que a própolis marrom brasileira é extremamente ativa em todas as propriedades biológicas, incluindo atividade antibacteriana,

antioxidante, anti-inflamatória, antiparasitária e antitumoral [58]. A capacidade antioxidante da própolis deve-se ao alto teor de fenóis e outras substâncias antioxidantes, podendo atrasar ou inibir a oxidação de moléculas [68].

No estudo realizado por Magalhães et al. [70], as cepas bacterianas testadas incluíram os géneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, assim como bactérias do género *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* Não se verificou forte inibição do crescimento bacteriano mediada por própolis não alcoólica, tendo-se apenas observado fraca inibição, principalmente para as bactérias Gram-positivas avaliadas. Não obstante, em relação à própolis alcoólica os índices de inibição foram superiores. As bactérias Gram-negativas, tal como a *Escherichia coli* e *Salmonella* não foram inibidas por própolis.

Campos et al. [71] também observaram que o extrato de própolis verde foi eficaz na inibição do crescimento da bactéria de *Staphylococcus* e ineficaz na *Escherichia coli*.

Além disso, estudos demonstram que a incorporação do extrato de própolis em polímeros, tais como policaprolactona e carboximetilcelulose resulta na formação de membranas, que pode ser utilizada como curativos. A própolis, em virtude de suas propriedades biológicas, vem à tona como uma alternativa viável no tratamento de feridas, ressaltando-se o baixo custo e a facilidade de aquisição.

2.4 ENGENHARIA DE TECIDOS

A engenharia de tecidos é um campo híbrido que combina métodos de biologia, engenharia e medicina, a fim de estimular a regeneração de tecidos [72]. Atualmente, essa área é muito promissora e utiliza maneiras avançadas de biologia celular, engenharia de materiais e medicina regenerativa. A aplicação de matriz de tecido biodegradáveis como uma alternativa às próteses é um dos objetivos da engenharia de tecidos. De modo geral, esse campo de investigação busca recuperar os tecidos lesados ou perdidos [72]. Além disso, as matrizes tridimensionais desenvolvidas nessa área apresentam muitas vantagens já que a forma e o tamanho do enxerto podem ser controlados durante o cultivo *in vitro* ou mesmo *in vivo* [73, 74].

A interação da engenharia de tecidos com os *scaffolds* visa desenvolver estruturas tridimensionais compostas por materiais biocompatíveis e biodegradáveis. Os *scaffolds* desempenham um papel importante nesse processo porque garantem

as condições necessárias para o crescimento celular, fornecendo sinais bioquímicos e mecânicos ao tecido em atividade regenerativa [75]. Além disso, eles têm funções estruturais e bioquímicas semelhantes à matriz extracelular nativa, pelo menos até que as células possam produzir a sua própria matriz [72].

No campo da engenharia de tecidos, os *scaffolds* desempenham um papel crucial na estrutura dos materiais produzidos. De fato, para o sucesso dessa matriz, é fundamental que três características sejam garantidas: uma rede de poros que permite a difusão eficaz de oxigênio e nutrientes para as células; os materiais utilizados devem ser biocompatíveis e biodegradáveis para a regeneração do tecido; a forma e o tamanho dos *scaffolds* devem otimizar a funcionalidade da integração no ambiente biológico [72, 76]. A criação de materiais porosos durante a interação da engenharia de tecidos com os *scaffolds* já foi discutida com o uso de muitas técnicas, como impressão 3D [78], lixiviação [77] e eletrofiação [59]. Cada uma dessas abordagens pode ser vista como benéfica; no entanto, até o momento, nenhuma dessas metodologias foi completamente desenvolvida para controlar, por exemplo, o diâmetro dos poros. Isso é o que torna a técnica de eletrofiação promissora, visto que os materiais porosos podem ser produzidos em escalas micro ou nano de maneira simples e versátil [79].

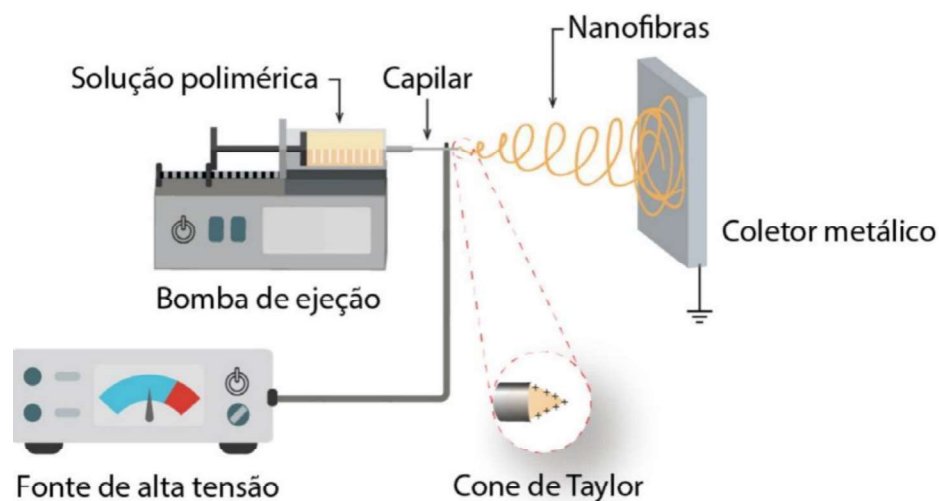
2.5 A TÉCNICA DE ELETROFIAÇÃO

A técnica de eletrofiação, foi desenvolvida no século XIX por Lord Rayleigh e Zeleny e patenteada por Formhals em 1934. O reconhecimento dessa técnica ocorreu somente na década de 1990, em resposta ao aumento da demanda por recursos nanotecnológicos e novos materiais [80].

A eletrofiação utiliza forças eletrostáticas para produzir fibras a partir de uma solução polimérica ou de um polímero. Essa técnica permite a fabricação de mantas poliméricas (que pode ser consideradas como *scaffolds*), com diâmetros variando na escala micrométrica a nanométrica [81].

O esquema mostrado na Figura 15 mostra o processo de eletrofiação que consiste em uma fonte de alta tensão, uma seringa, que é conectada a uma agulha, e um coletor metálico que deve estar aterrado eletricamente [81].

Figura 15 - Representação esquemática da técnica de eletrofiação



Fonte: Adaptado ref. [82]

A aplicação de uma alta voltagem (em geral, milhares de volts) em uma solução resulta na criação de forças repulsivas entre as cargas presentes. Quando as forças elétricas entram em equilíbrio com a tensão superficial do líquido ocorre a formação de uma forma aproximadamente cônica de gota. Se as forças elétricas forem grandes o suficiente para superar a tensão superficial, então um jato de fibra carregado é ejetado da agulha para o coletor metálico. O solvente no caminho para o coletor é evaporado e as fibras são formadas como resultado de todo o processo [83].

As fibras formadas dessa maneira possuem alta relação área superficial e volume e dimensões dos poros são nano/micrométricos. A técnica de eletrofiação pode ser utilizada para a produção de fibras de uma ampla gama de polímeros, podendo ser polímeros naturais e sintéticos. Além disso, a deposição de dois ou mais polímeros pode produzir blendas ou copolímeros misturando diferentes polímeros. Na produção das fibras é possível a incorporação de outros materiais solúveis ou dispersos, como medicamentos, nanopartículas e resinas, entre outros [79-84].

Utilizando a técnica de eletrofiação os *scaffolds* produzidos podem ser projetados conforme a necessidade, o que pode melhorar a adesão, a proliferação e a diferenciação celular [84].

Além do mais as mantas eletrofiadas, por possuírem grande porosidade, oferecem estruturas de suporte eficazes para o transporte de oxigênio e nutrientes,

sendo, portanto, importantes nas aplicações em engenharia de tecidos [83-86]. Na produção das fibras por eletrofiação uma variedade de fatores pode influenciar no processo [85]. As principais são, parâmetros da solução, do processo e ambientais. Cada um desses conjuntos de variáveis exerce um impacto significativo na morfologia e no diâmetro das fibras geradas. Portanto, é essencial otimizar e equilibrar essas variáveis para garantir a produção de um produto de alta qualidade [84].

2.5.1 Parâmetros Da Solução

2.5.1.1 Concentração polimérica e viscosidade

A concentração polimérica e a viscosidade da solução são fatores de grande importância durante o processo de eletrofiação. A solução deve ter concentração o suficiente para que as cadeias do polímero se emaranhem no jato, e ter viscosidade necessária para a formação do jato polimérico. Concentrações e viscosidades que ficam abaixo de determinados mínimos resultam em eletrospray e gotas [83].

2.5.1.2 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica de uma solução é determinada pelo potencial de movimento dos íons presentes nela. Em soluções com baixa condutividade elétrica, o cone de Taylor não se forma. Por outro lado, soluções com maior condutividade resultam em um alongamento mais significativo do jato, levando à formação de fibras com diâmetro reduzido [79].

2.5.2 Parâmetros do Processo

2.5.2.1 Voltagem aplicada

A voltagem aplicada e o campo elétrico gerado exercem grande influência na morfologia e no diâmetro das fibras produzidas. A voltagem aplicada é fundamental na formação do cone de Taylor, assim como para o estiramento e a aceleração do

jato polimérico. Um aumento na voltagem e, portanto, no campo elétrico resulta na diminuição do diâmetro das fibras, uma vez que provoca um maior estiramento da solução polimérica [84].

2.5.2.2 Distância entre a agulha e o coletor

A distância de trabalho, definida como a distância entre a agulha e o coletor, é importante no processo de evaporação eficiente do solvente e na formação de um campo elétrico adequado para a geração do Cone de Taylor. Se essa distância for muito longa, o campo elétrico pode ser insuficiente, o que pode comprometer a integridade estrutural da fibra. No entanto, uma distância muito curta pode resultar em um tempo inadequado para a evaporação completa do solvente, o que pode levar à solubilização das fibras, ao aumento de seu diâmetro e à formação de defeitos em forma de gotas [84].

2.5.2.3 Taxa de vazão

A quantidade da solução, transferida ao longo do percurso, é determinada pela taxa de fluxo durante o processo de eletrofiação, o que tem efeito direto na velocidade do jato polimérico, e, conseqüentemente, na espessura final do diâmetro das microfibras produzidas. Fibras produzidas com uma taxa de fluxo elevada têm um diâmetro médio maior, enquanto a taxa de fluxo reduzida da solução geralmente pode resultar em microfibras mais homogêneas. Esta diferença em morfologia ocorre devido à evaporação da dinâmica do solvente ao longo da trilha do jato até o coletor metálico. Uma taxa de fluxo elevada inibe a completa evaporação do solvente, o que leva à formação de gotículas de fibras e à aglomeração de microfibras [86].

2.5.2.4 Tipo de coletores

O tipo de coletor utilizado na eletrofiação é um fator que influencia as propriedades morfológicas e físicas das microfibras eletrofiadas. O coletor mais utilizado é uma placa metálica fixa. Outro sistema utilizado envolve a utilização de um coletor rotativo, que possibilita a formação de agrupamentos de fibras alinhadas [79].

O uso de desse tipo de coletor pode facilitar a formação de microfibras alinhadas. A velocidade de rotação também é um parâmetro importante no processo de controle do diâmetro das fibras alinhadas. Em contrapartida, em velocidades mais baixas do rotor, a orientação das fibras tende a ser reduzida, enquanto velocidades excessivamente altas podem resultar na quebra das fibras depositadas [87].

2.5.3 Parâmetros Ambientais: Temperatura e umidade

Fatores ambientais, como umidade, temperatura e composição do ar, têm um grande impacto no processo de eletrofiação. A temperatura ambiente mais alta, por exemplo, leva a uma evaporação mais rápida do solvente, o que pode aumentar a viscosidade da solução. Esse estado afeta o tamanho médio das fibras, que normalmente diminui devido ao aumento do estiramento no fluxo fibroso [88]. Por outro lado, quanto mais úmido o ambiente, mais difícil será para o solvente evaporar. Isso fará com que as fibras se fundam e, assim, aumente o diâmetro médio das fibras. No entanto, níveis mais altos de umidade podem promover a condensação de água sobre a superfície da fibra. Assim, os poros circulares na manta eletrofiada serão formados [89, 90].

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo tem como propósito desenvolver e caracterizar mantas de microfibras poliméricas bioativas, produzidas por eletrofiação, a partir da combinação de policaprolactona (PCL) e polivinilpirrolidona (PVP), com a incorporação de extratos de própolis vermelha e marrom.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar os extratos hidroalcóolicos da própolis vermelha e marrom e quantificar o rendimento dos extratos secos;
- Quantificar e comparar as concentrações de fenóis e flavonoides dos extratos da própolis vermelha e marrom;
- Avaliar e comparar a capacidade antioxidante dos extratos da própolis vermelha e marrom;
- Preparar mantas homogêneas com estruturas fibrosas de PCL/PVP;
- Produzir mantas contendo na estrutura extrato da própolis vermelha e marrom;
- Caracterizar morfologicamente as mantas eletrofiadas por MEV;
- Determinar os diâmetros médios das fibras utilizando as micrografias e o software *Image J*;
- Caracterizar quimicamente as própolis e mantas por FTIR;
- Avaliar as propriedades mecânicas por ensaio de tração;
- Avaliar termicamente as amostras por meio da análise termogravimétrica (TGA) e termogravimetria derivada (DTG);
- Avaliar o teste de liberação das mantas eletrofiadas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de própolis vermelha e marrom.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Os polímeros Policaprolactona (Sigma – Aldrich) de massa molar 80.000 g/mol e Polivinilpirrolidona (Sigma – Aldrich), massa molar 1.360.000 g/mol em pó, foram utilizados para a confecção das mantas utilizando a técnica de eletrofiação. Como solvente foi utilizado o Clorofórmio P.A e Álcool Metílico P.A (ambos da Synth).

Para a produção do extrato seco da própolis foi utilizado a própolis pura Vermelha do estado de Alagoas, obtida no apiário de Paripueira, município da região metropolitana de Maceió, latitude sul: 9° 26,448' e latitude oeste: 35° 31.710', e a própolis pura Marrom foi adquirida do sul do Brasil, da empresa Agroindústria Favo de Mel, latitude sul: 29° 39,371' e latitude oeste: 52° 04,184'. O solvente empregado para a extração foi o Álcool Etílico 96% de cereais.

Em relação à caracterização da própolis, utilizou-se como solvente o Álcool Etílico Absoluto P.A. (Êxodo Científica) e o reagente 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma – Aldrich) para a determinação da atividade antioxidante.

Os reagentes Cloreto de Alumínio 99% (Sigma – Aldrich), Quercetina (Sigma – Aldrich) e o solvente Álcool Etílico Absoluto P.A. (Êxodo Científica) foram empregados para a determinação da porcentagem de flavonoides.

Por fim, para a determinação dos fenóis totais, utilizou-se o Ácido Gálico (Sigma - Aldrich), Folin-Ciocolteau (Sigma – Aldrich), Carbonato de Sódio (Êxodo Científica) e Água destilada.

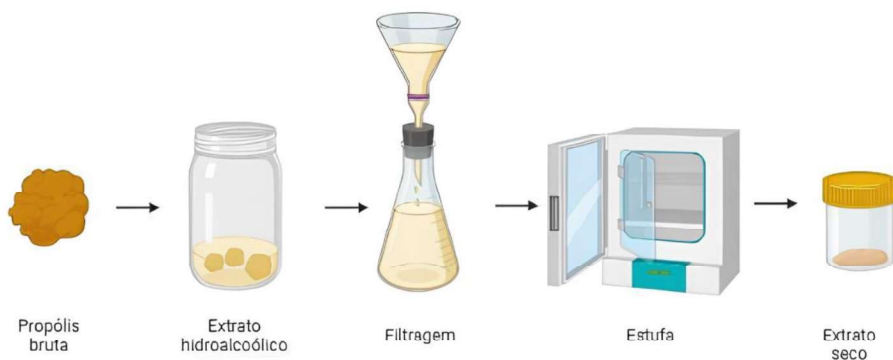
4.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DO EXTRATO CONCENTRADO DE PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM

Para a obtenção do extrato concentrado de própolis foi utilizado uma solução de álcool etílico 80% em água na proporção de 300 mL para 30 g da amostra bruta de própolis. A suspensão foi deixada em repouso por 20 dias à temperatura ambiente.

Após o tempo de repouso, o líquido sobrenadante foi retirado e o procedimento foi repetido mais uma vez, completando o tempo total de 40 dias para a obtenção do extrato. O extrato hidroalcólico obtido foi filtrado em filtro de papel comum e levado para a secagem em uma estufa Sterilifer a 40 °C. Por fim, o extrato foi armazenado

em recipiente (plástico com tampa) e levado para a geladeira a 10 °C e estocado, como mostrado na Figura 16. Este processo foi o realizado para a extração do extrato da própolis marrom e vermelha [59].

Figura 16 - Fluxograma do processo de obtenção do extrato seco



Fonte: Próprio Autor (2024)

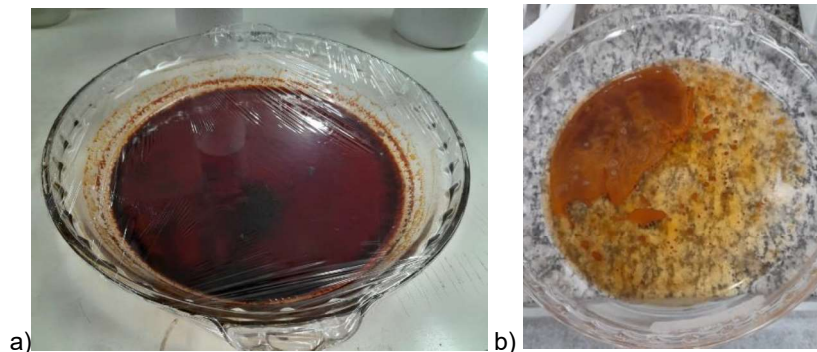
Todos os procedimentos de extração da própolis foram realizados no Laboratório GAMN, Laboratório de Materiais Nanoestruturados, Departamento de Física e Química, UNESP/FEIS.

4.2.1 Caracterização do extrato das própolis vermelha e marrom

4.2.1.1 Rendimento dos extratos

Para o cálculo da quantificação dos extratos secos das própolis estudadas, o extrato hidroalcolólico obtido após o processo da filtragem identificado no item 4.2, foi despejado em um recipiente da marca Marinex de vidro (massa 854,09 g), e levado para a estufa Sterilifer a 40 °C e secado até obter a evaporação completa do álcool etílico absoluto, observe a Figura 17. Posteriormente, foi retirado da estufa e pesado as amostras. O processo foi realizado para contabilizar o rendimento das massas dos extratos secos obtidos na primeira e segunda extração.

Figura 17- Extratos secos a) extrato de própolis vermelha b) Extrato de própolis marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

4.2.1.2 Fenóis Totais

I. Construção da curva de calibração

O método Folin-Ciocalteu, foi utilizado para obter conteúdo total de fenóis, com modificações [91]. Para realizar o ensaio, primeiro foram feitas duas diluições para obter a solução final do estoque do ácido gálico. Em um balão de 10 mL; 0,0100 g do ácido gálico foram pesados para formar a solução primária, que atingiu a concentração final de $1000 \mu\text{g/mL}$. Um 1 mL dessa solução primária foi retirado e dissolvido em água destilada em um balão volumétrico de 10 mL, alcançando uma concentração de $100 \mu\text{g/mL}$.

A curva de calibração foi construída usando ácido gálico em concentrações variadas (2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 e $17,5 \mu\text{g/mL}$), partindo da solução de $100 \mu\text{g/mL}$. Adicionou-se $250 \mu\text{L}$ de Folin-Ciocalteu a esta solução, 6 mL de água destilada com agitação de 1 minuto e um 1 mL de carbonato de sódio 20% com agitação de 30 segundos. A água destilada foi adicionada para completar o volume. A leitura UV-Vis foi realizada em um comprimento de onda de 750 nm para criar a curva de calibração do ácido gálico [91].

II. Teor de fenóis totais dos extratos

Alíquotas de 5,0; 10,0; 15,0; 25,0 e $50,0 \mu\text{L}$ foram retiradas das soluções estoques dos extratos de própolis vermelha e marrom e transferidas para cinco

balões volumétricos de 10 mL. Acrescentou-se 0,25 mL de Folin-Ciocalteau e 6 mL de água destilada com agitação de 1 minuto e 1mL de carbonato de sódio 20% com agitação de 30 segundos. A leitura UV-Vis foi realizada em um comprimento de onda de 750 nm [91].

Os valores das absorbâncias obtidos com as leituras das amostras foram adicionados na variável y , da equação $y = ax+b$, onde y é o valor da absorbância, a é o coeficiente linear, x é o valor da concentração de ácido gálico e b o coeficiente angular [33]. O branco das amostras foi feito com um pouco de água destilada, Folin-Ciocalteau, etanol absoluto e 20% de carbonato de sódio [33].

Para calcular a porcentagem de fenóis totais presentes nas amostras analisadas utilizou-se as fórmulas 1 e 2. Os resultados foram expressos em termos de miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por g de peso de própolis.

$$C = \frac{\text{Absorbância} - A}{B} \quad (1)$$

$$\% = \frac{C}{M} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

%= percentual de ácido gálico;

C = concentração de ácido gálico em $\mu\text{g/mL}$;

M = Massa da amostra $\mu\text{g/mL}$;

A = coeficiente linear da equação da reta;

B = coeficiente angular da equação da reta.

4.2.1.3 Flavonoides

I. Construção da curva de calibração

Foi preparada uma solução normal de quercetina ($200 \mu\text{g/mL}$) usando 0,05 g de quercetina em um béquer de 250 mL e diluiu com aproximadamente 50 mL de álcool etílico absoluto usando uma placa aquecida e agitação magnética. Após o resfriamento à temperatura ambiente (25°C) a solução foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL. Completou o volume usando álcool etílico absoluto a uma temperatura de mais ou menos 16°C [92].

Foram pesados 12,5 g de cloreto de alumínio em um béquer de 250 mL e misturados com aproximadamente 200 mL de álcool etílico absoluto, depois transferidos para um balão volumétrico de 250 mL para preparar a solução de cloreto de alumínio (5%) [92].

Para criar a curva padrão para a determinação dos flavonoides foi necessário pipetar 1,0 mL de solução de cloreto de alumínio a 5% em quatro tubos de ensaio, juntamente com alíquotas de álcool etílico absoluto e solução padrão de quercetina a 200 $\mu\text{g/mL}$ [92], conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Curva padrão de flavonoides

Álcool etílico absoluto	Padrão de quercetina (mL)	Sol. Cloreto de alumínio (mL)	Volume final do tubo	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Tubos
9,0	0,0	1	10	0	Branco
8,8	0,2	1	10	4	Tubo 1
8,7	0,3	1	10	6	Tubo 2
8,6	0,4	1	10	8	Tubo 3
8,4	0,6	1	10	12	Tubo 4
8,2	0,8	1	10	16	Tubo 5
8,0	1,0	1	10	20	Tubo 6

Fonte: Próprio Autor (2024)

II. Determinação dos flavonoides

Para a determinação dos flavonoides na solução, uma alíquota de 4,0 mL do extrato da própolis foi transferida para tubos de ensaio de 20 mL, contendo 6,0 mL de etanol. No frasco acrescentou-se 1,0 mL da solução de cloreto de alumínio a 5% e agitou-se por alguns segundos. Após 30 minutos de repouso, a leitura do espectrofotômetro foi realizada a 425 nm [92].

Os valores das absorbâncias das amostras foram substituídos na variável y, de acordo com a equação $y = ax + b$ [33]. Os resultados foram expressos em miligramas de quercetina por grama de própolis.

4.2.1.4 Capacidade Antioxidante

A técnica descrita por Duarte, 2020 [93] foi utilizada para avaliar a atividade sequestrante do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), com modificações. Para

preparar uma solução de DPPH padrão com concentração de 0,1mM, pesou 0,0039 g de DPPH em um béquer na balança analítica e adicionou 3 mL de etanol absoluto no béquer. Em seguida, agitou até que a solução se dissolvesse. Posteriormente, a solução foi transferida para um balão de 100 mL e o etanol absoluto foi adicionado ao volume.

As soluções estoques dos extratos de própolis vermelha e marrom, foram obtidas pela solubilização de 0,1000 g dos extratos secos das própolis com o álcool etílico absoluto em um balão de 10 mL. Em cinco balões de 5 mL, adicionou-se 2 mL da solução mãe de DPPH. Em seguida, adicionou-se uma porcentagem de 5, 15, 30, 60, 180 e 400 μL do extrato de própolis em cada balão, e deixou-se em repouso por 40 minutos [93].

O espectrofotômetro UV-Vis modelo V-5000 da Metash com comprimento de onda 520 nm foi usado para calcular a absorbância das soluções [94]. A atividade antioxidante foi calculada usando a equação 3.

$$\% \text{ Capacidade antioxidante} = 100 - \frac{[(Ab \text{ amostra} - Ab \text{ branco}) \times 100]}{Ab \text{ controle}} \quad (3)$$

Onde:

Ab amostra = absorbância da reação entre a solução do radical DPPH• e a amostra antioxidante;

Ab branco = absorbância da solução de solvente utilizado para preparar a amostra antioxidante;

Ab controle = absorbância do radical DPPH• com uma alíquota do solvente correspondente ao volume da maior concentração da amostra.

4.2.1.5 Avaliação da atividade biológica – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Os ensaios de sensibilidade foram realizados de acordo com o documento MO7A10 (2012) do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) para bactérias aeróbias [95]. Foram utilizadas linhagens ATCC de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Klebsiella pneumoniae* ATCC (700603).

O meio de cultura utilizado para a realização dos ensaios de sensibilidade foi o caldo *Mueller Hinton* pH 7,4. O controle do crescimento (controle positivo) foi realizado com 100µL do meio e 100µL do inóculo, e o controle negativo do teste apenas com 200 µL do meio. Os ensaios foram realizados em microplacas de 96 poços, nas quais foram utilizados 100 µL resultantes da diluição seriada do primeiro poço que contém 200 µL do meio, mais o extrato de própolis vermelha e marrom. O inóculo foi produzido na concentração 5×10^5 UFC/mL o qual foi adicionado em cada poço. Como controles para o ensaio de sensibilidade foram utilizados os fármacos vancomicina, imepemem. As placas foram incubadas a 35 °C por um período total de 48 horas.

As leituras visuais foram realizadas utilizando o corante de viabilidade *resazurina* e a fluorescência foi lida em 530-570 nm. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas e ensaios independentes. O esquema representativo das etapas do processo está ilustrado na Figura 18.

Figura 18- Esquema da avaliação biológica



Fonte: Próprio Autor (2025)

A avaliação dos resultados referente a eficácia da própolis vermelha e marrom foi comparando-se o número de colônias nas amostras tratadas com as própolis nas amostras controle sem os aditivos. Os resultados foram classificados de acordo com as diretrizes do CLSI, categorizando as cepas como sensíveis, intermediárias ou resistentes [96].

Foi realizado em parceria com o Laboratório de Micologia da Unesp de Araraquara.

4.3 PREPARO DA MATRIZ BLEND (PVP/PCL)

As amostras foram preparadas com porcentagens de PVP variando 25, 30, 50, 70, 75% em relação ao peso total (1,5 g) de PCL presente na solução. Uma solução intitulada como branca foi feita usando apenas com 100% de PCL. Os materiais foram solubilizados em uma solução de clorofórmio/álcool metílico, 10 mL, na proporção 4/1 v/v [37]. A solução foi agitada a 25 °C por 4 horas para garantir a homogeneização.

As amostras foram identificadas por siglas de acordo com a porcentagem do PVP e PCL contido na solução e as suas respectivas massas, conforme ilustrado na Tabela 2.

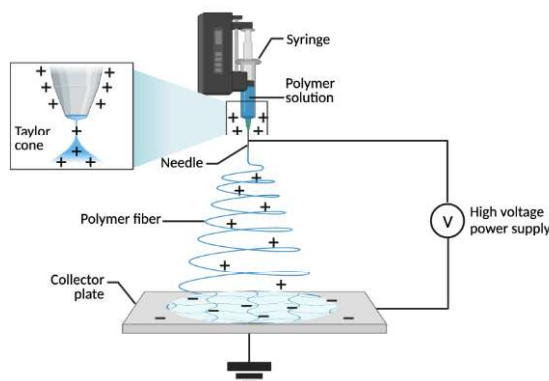
Tabela 2 - Proporção da solução polimérica

Amostra	PCL (g)	PVP (g)
25PVP/75PCL	1,125	0,375
30PVP/70PCL	1,050	0,400
50PVP/50PCL	0,750	0,750
70PVP/30PCL	0,400	1,050
75PVP/25PCL	0,375	1,125

Fonte: Próprio Autor (2024)

Após o preparo das soluções as mantas foram produzidas pela técnica de eletrofiação (Figura 19). No procedimento, a solução polimérica foi adicionada em uma seringa de vidro de 10 mL acoplada a agulha metálica de 1,2 mm (diâmetro). Em seguida um conector tipo jacaré foi conectado à agulha e aplicado uma tensão de 20 quilovolt (KV). Os solventes são evaporados da solução polimérica da ponta da agulha até o coletor e são depositadas as micro/nanofibras no coletor rotativo, essa distância foi de 26 cm. A taxa de fluxo obedeceu a força gravitacional.

Figura 19 - Esquema do processo de eletrofiação



Fonte: Próprio Autor (2024)

Como o objetivo desta pesquisa é otimizar a incorporação de PVP de forma a maximizar a hidrofilicidade da manta. Para isso, foi realizado o levantamento do diâmetro médio das fibras, bem como a avaliação da presença de defeitos do tipo "bead", caracterizados pela formação de "gotas", e da interconexão entre as fibras. A blenda composta por 75% de PVP e 25% de PCL demonstrou a maior incorporação de PVP, com o menor diâmetro de fibra e ausência de defeitos estruturais, destacando-se como a mais eficaz.

4.3.1 Preparo da blenda incorporada com as própolis

Após a definição da matriz da manta no item 4.3, a manta otimizada foi a composta por 75% de PVP e 25% de PCL. As amostras de própolis vermelha e marrom foram preparadas variando a porcentagem do extrato seco da própolis entre 5, 10, 15, 25 e 50% em relação a massa de polímeros (1,5g). Obedeceu a mesma metodologia descrita no item 4.3 para a proporção dos solventes, agitação e distância do coletor rotativo, diâmetro da agulha, tensão aplicada e a taxa de fluxo. As amostras foram renomeadas por siglas, e as suas massas foram identificadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Proporção das mantas contendo extrato de própolis vermelha e marrom

Amostra	PCL (g)	PVP (g)	Extrato P. Vermelha (g)	Extrato P. Marrom (g)
75PVP25PCL5V	0,375	1,125	0,075	***
75PVP25PCL10V	0,375	1,125	0,15	***
75PVP25PCL15V	0,375	1,125	0,225	***
75PVP25PCL25V	0,375	1,125	0,375	***
75PVP25PCL50V	0,375	1,125	0,750	***
75PVP25PCL5M	0,375	1,125	***	0,075
75PVP25PCL10M	0,375	1,125	***	0,150
75PVP25PCL15M	0,375	1,125	***	0,225
75PVP25PCL25M	0,375	1,125	***	0,375
75PVP25PCL50M	0,375	1,125	***	0,750

Fonte: Próprio Autor (2024)

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MANTAS

4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das microfibras foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando o equipamento Zeiss, modelo EVO LS15. Para as caracterizações, foram selecionadas pequenas porções das mantas ainda sobre o substrato do papel alumínio e revestido com uma fina camada de ouro [97].

Para a obtenção do diâmetro médio e a distribuição de diâmetro das fibras utilizou-se o software *ImageJ*, a partir da medida de 100 microfibras selecionadas aleatórias [97]. Os dados extraídos foram manipulados no Excel e a plotagem no software Origin 2024. Repetiu-se o processo para cada manta eletrofiada.

4.4.2 Caracterização por espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho das amostras formadas pelas mantas eletrofiadas foram obtidos no modo Refletância Total Atenuada (ATR). As amostras dos extratos da própolis vermelha e marrom foram realizadas por meio da preparação de pastilha de Brometo de Potássio (KBr).

O espectrômetro utilizado foi o modelo Nexus, 670, Nicolet. O ensaio foi feito no intervalo do comprimento de onda de 4000 a 600 cm^{-1} [59].

4.4.3 Ensaios Mecânicos

Os ensaios de tração das mantas puras (PCL, PVP, 75PVP/25PCL) e as mantas com adição de própolis vermelha e marrom foram realizados de acordo com a norma ASTM 882-10 [98], em uma máquina universal de ensaios mecânicos da Instron, modelo 3369, com uma célula de carga de 50N. Foram utilizados 5 corpos de prova, com dimensão de 22 mm de comprimento, 0,1mm de espessura e 5 mm de largura. A taxa de deslocamento foi de 500 mm/min. Os dados foram coletados e plotados no Origin 2024.

4.4.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

Para a realização da análise termogravimétrica (TGA), foi utilizado o instrumento SDT Q600 (TA Instruments), com cerca de 10 mg das amostras. Foram aquecidas a $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em uma faixa de temperatura 0 a 600°C , com atmosfera de nitrogênio e cadinho de Alumina.

4.4.5 Teste de Liberação

As mantas eletrofiadas contendo 75% PVP, 25% PCL e 15% do extrato de própolis vermelha, assim como a manta composta por 75% PVP, 25% PCL e 25% de própolis marrom (porcentagens otimizadas), foram recortadas em tamanhos de 5,0 cm x 5,0 cm e submersas em 30 mL de água destilada em repouso, no intervalo de tempo de 30 minutos, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas e 168 horas. As massas iniciais estão reproduzidas na Tabela 4.

Após o período de incubação, as mantas foram retiradas deixadas para secar. Foi necessária a secagem para poder realizar a próxima etapa: a análise de Microscopia Eletrônica de Varredura, seguindo as mesmas especificações do item 4.4.1 para obtenção das micrografias. O líquido sobrenadante foi armazenado e a absorbância foi medida no espectrofotômetro da marca Metash, modelo V-5000 Visible, a 510 nm.

Tabela 4 - Descrição das massas das amostras dentro do intervalo de tempo de 0,5 a 168 horas

Tempo (h)	Amostras (g)	
	75PVP25PCL10V	75PVP25PCL25M
0,5	0,080	0,071
24	0,088	0,071
48	0,091	0,08
72	0,095	0,081
96	0,108	0,082
168	0,109	0,086

Fonte: Próprio Autor (2024)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DA PRÓPOLIS VERMELHA E MARROM E RENDIMENTO DOS EXTRATOS

Os resultados dos rendimentos dos extratos da própolis vermelha e marrom através da técnica utilizada estão demonstrados na Tabela 5.

De acordo com os dados obtidos, foi evidenciado que ao fornecer 30 g de própolis vermelha para realizar o processo de extração foi obtido 58,93% de extrato seco, dessa forma, podemos concluir que, para se obter 1 quilograma de extrato seco, será necessário 1.696,83 g de própolis vermelha.

Já para o extrato de própolis marrom, obteve-se rendimento inferior ao extrato da própolis vermelha, sendo de 55,90%. Logo, para se obter 1 quilograma de extrato de própolis marrom, será necessário fornecer 1.788,91 g de própolis marrom.

Tabela 5 - Rendimento dos extratos secos das própolis vermelha e marrom

Especificação	Massa Inicial (g)	Massa final 1ª extração (g)	Massa final 2ª extração (g)	Massa total (g)	Porcentagem de rendimento (%)
Extrato de própolis vermelha	30,00	16,37	1,31	17,68	58,93
Extrato de própolis marrom	30,00	16,06	0,71	16,77	55,90

Fonte: Próprio Autor (2024)

Para a técnica empregada de extração, o rendimento dos extratos secos de própolis estão conforme a literatura, pois no estudo de Trusheva, et al. [99], no qual estudou a extração por três técnicas diferentes, obteve-se rendimento de 55 a 58% de extrato seco para a extração por maceração. Portanto, conclui-se que o extrato de própolis vermelha rendeu discretamente mais que o extrato de própolis marrom, possivelmente devido a concentração maior de compostos solúveis em solução hidroalcoólica na própolis vermelha.

5.1.1 Fenóis totais

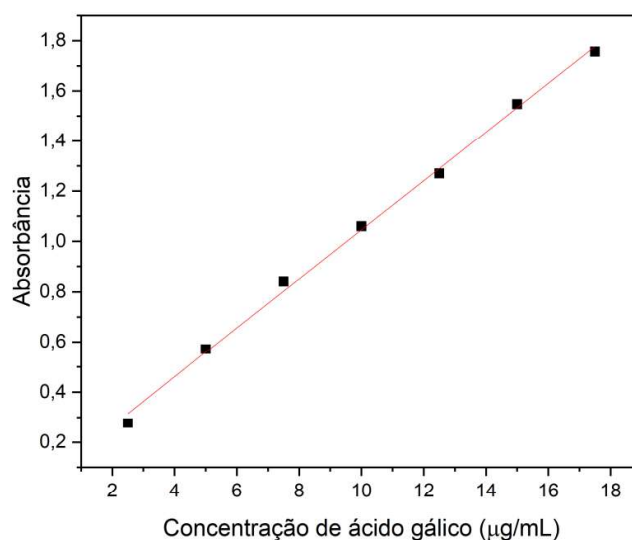
5.1.1.1 Curva de calibração fenóis totais

Para as amostras de própolis vermelha e marrom, foram analisados os teores de fenóis totais, com o uso do método Folin-Ciocalteu, que proporciona a medição desses compostos através de uma reação colorimétrica, que permite a quantificação dos fenóis totais [100]. O princípio fundamental do procedimento consiste na redução do reagente de Folin-Ciocalteu pelos fenóis totais, que leva ao surgimento da cor azul cuja intensidade da cor é proporcional à quantia total de fenóis [100].

A curva de calibração criada a partir da reação do padrão de ácido gálico, considerado padrão de referência, devido a estabilidade e reatividade consistente e tem a resposta linear em diferentes concentrações (Figura 20). A utilização dessa curva de calibração é de fundamental importância na determinação da concentração de fenóis nas amostras de própolis.

Do ponto de vista estatístico, o coeficiente de determinação (R^2) consiste em uma medida que quantifica o grau de ajuste de um modelo de regressão aos dados obtidos, sendo que superior a 0,99, indica alta linearidade e confiabilidade dos dados obtidos [101].

Figura 20 - Curva padrão de ácido gálico para quantificação de fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu



Fonte: Próprio Autor (2024)

A curva de calibração para a determinação dos fenóis totais das própolis foi obtida a partir da relação entre a absorbância e a concentração de ácido gálico. O resultado foi a Equação 04 e com resultado em $R^2 = 0,997$.

$$y = 0,097471x + 0,071571 \quad (04)$$

Na Equação 04, y é a absorbância medida (em 750 nm) e x é a quantidade de ácido gálico em µg. O coeficiente de determinação (R^2) encontrado de 0,997, assegura linearidade entre a absorbância e a concentração de ácido gálico, assim como encontrado no estudo de Andrade, et al. [102] ($R^2 = 0,996$) para a curva de calibração com o mesmo padrão, representando elevada confiança dos dados no ponto de vista estatístico.

5.1.1.2 Determinação Fenóis Totais

A partir da Equação 04, foi calculado a quantidade de fenóis totais nas amostras de própolis, expressa em equivalentes de ácido gálico por grama de própolis (Tabela 6).

Tabela 6 - Teor de Fenóis Totais em equivalentes de ácido gálico por grama de própolis

Amostras	Quantidade de Fenóis Totais (mgGAE.g ⁻¹)
Extrato de Própolis Vermelha	230,2
Extrato de Própolis Marrom	54,9

Fonte: Próprio Autor (2024)

O extrato de própolis vermelha apresentou o teor de fenóis totais de 230,2 mgGAE/g e o extrato de própolis marrom apresentou 54,9 mgGAE/g, evidenciando que o extrato de própolis vermelho sobressaiu o da marrom.

Esses dados estão de acordo com encontrados na literatura, sendo 232,2 mgGAE/g relatado em seu estudo para a própolis vermelha [103]. Os principais componentes da própolis vermelha encontradas foram os fenólicos simples, triterpenoides, isoflavonoides (isoflavona, isosativana, pterocarpano e medicarpina), benzofenonas preniladas e um epóxido de naftoquinona. Os resultados indicaram que

os isoflavonoides são importantes componentes antimicrobianos da própolis vermelha, assim como também apresentaram alta capacidade de neutralização de radicais contra DPPH [104].

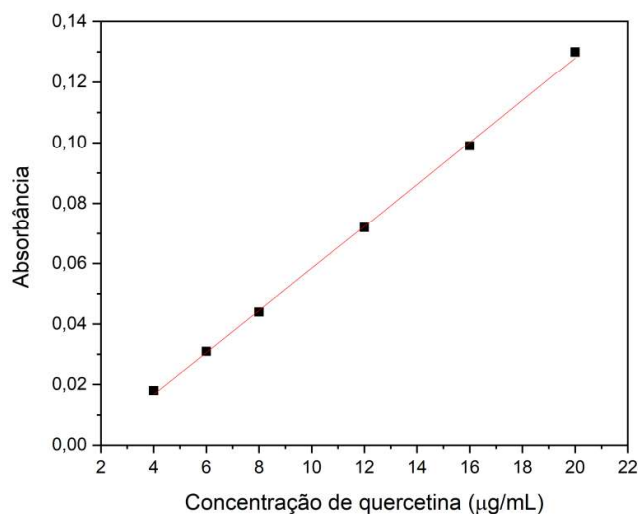
No estudo de Andrade [105], o extrato de própolis marrom brasileira variou de 55,74 e 32,77 mgGAE.g⁻¹ dependendo do método de extração empregado. Esses resultados estão em conformidade com os dados descritos na literatura, corroborando as conclusões obtidas neste estudo. Essa variação do teor de fenólicos totais entre as amostras de extrato de própolis vermelha e marrom, podem estar relacionadas com a complexidade da composição química proveniente da região geográfica, estação climática, da flora, da época do ano em que é coletado, além da forma de extração utilizada [105].

5.1.2 Flavonoides

5.1.2.1 Curva de calibração dos flavonoides

Para uma maior precisão dos dados quantitativos obtidos das análises dos extratos da própolis vermelha e marrom, foi elaborada a curva de calibração padrão mostrada na Figura 21.

Figura 21 - Curva padrão de quercetina para a quantificação de flavonoides pelo método $AlCl_3$



Fonte: Próprio Autor (2024)

A curva de calibração para a determinação da quantidade de quercetina foi realizado por meio da Equação 05, conforme apresentada abaixo:

$$y = -0,01118 + 0,00696 x \quad (5)$$

Onde y é a absorbância medida a 425 nm e x representa a concentração de quercetina em microgramas (μg).

O coeficiente de determinação ($R^2 = 0,99941$) mostra precisão e reprodutibilidade dos dados confirmando a adequação do método para quantificação do composto quercetina. Esses resultados também são consistentes com os encontrados por Andrade, et al. [102] ($R^2 = 0,9998$) para a curva de calibração padrão de quercetina.

5.1.2.2 Quantificação dos Flavonoides

No presente trabalho, a quantificação de flavonoides por análise espectrofotométrica foi realizada por medição da absorbância à 425 nm [106]. Os resultados são dados em equivalentes de quercetina por grama de própolis e em porcentagem de flavonoides (Tabela 7).

A comparação dos resultados mostra diferenças visíveis entre as variedades da própolis, sendo que a vermelha tem concentração de flavonoides mais elevada em comparação a própolis marrom, assim como já visto que a própolis vermelha apresentou maior quantidade de fenóis totais. Tendo em consideração que as duas variedades de própolis possuem origens vegetais diferentes, observou-se que existem diferenças botânicas entre elas. Essas variações na origem têm um impacto significativo nas propriedades bioativas e nos efeitos farmacológicos dos produtos terapêuticos.

Tabela 7 - Valores obtidos de flavonoides em equivalentes de quercetina por grama de própolis e em porcentagem

Amostras	Porcentagem (%)	Teor pela Legislação	Quantidade de Flavonoides (mgQE.g ⁻¹)
Extrato de Própolis Vermelha	3,01	Alto	30,13
Extrato de Própolis Marrom	1,15	Médio	11,54

Fonte: Próprio Autor (2024)

De acordo com a Legislação [107], a própolis é classificada em:

- Baixo teor: até 1,0 % (m/m);
- Médio teor: >1,0% - 2,0 % (m/m);
- Alto teor: >2,0 % (m/m).

Dessa forma, os resultados demonstram que os teores de flavonoides nas amostras analisadas, em especial a quercetina, ultrapassam o valor mínimo estabelecido pela legislação brasileira 1% m/m [107], ou seja, reforçam a classificação da própolis vermelha entre as variedades mais ricas em compostos bioativos.

A concentração de flavonoides nesta variedade de própolis, ocorre em razão do material resinoso ser obtido da planta *Dalbergia ecastophyllum*, no qual apresenta altas concentrações de compostos fenólicos e flavonoides, incluindo a quercetina, atuante no potencial terapêutico da própolis [58, 108].

Uma das explicações para menor concentração de flavonoides encontradas na própolis marrom pode ser atribuída à flora predominante das regiões de coleta do material pelas abelhas. A vegetação, como mencionado anteriormente, pode influenciar a composição química da própolis, levando a variações nos resultados de suas atividades biológicas, antioxidantes, antibacterianas e anti-inflamatórias, entre outras [102,109].

Como observado, a presença e a concentração de flavonoides são fundamentais, uma vez que esses compostos podem promover a regeneração celular e a capacidade de modular processos inflamatórios [58, 110], devido a seu alto teor de flavonoides, especialmente a galangina e o ácido fenil éster caféico (CAPE) promovendo a atividade anti-inflamatória na via metabólica do ácido araquidônico. Os flavonoides também são caracterizados pelas excelentes propriedades antioxidantes, sendo intimamente relacionada a estrutura dos compostos [58,108].

Dessa forma, ajustar a concentração de flavonoides, de acordo com o tipo de própolis utilizado, pode permitir a modulação precisa da resposta biológica, levando a uma otimização do desempenho de *scaffolds* e, conseqüentemente, o sucesso das aplicações em regeneração e reparo tecidual.

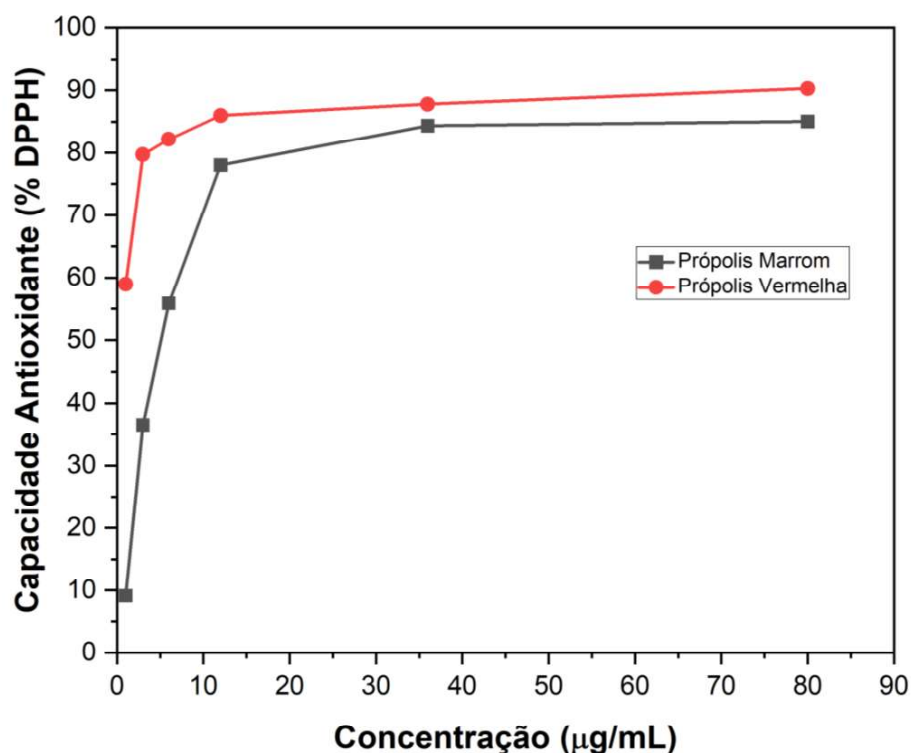
5.1.3 Capacidade Antioxidante

Antioxidantes atuam estabilizando ou desativando radicais livres, tal ação possibilita que os constituídos reativos ataquem alvos biológicos nas células [111].

Os resultados obtidos por análise da capacidade antioxidante dos extratos etanólicos de própolis vermelha e marrom realizados neste trabalho, podem ser observados na Figura 22. Os testes foram realizados com concentrações crescentes dos extratos, de 1 $\mu\text{g/mL}$ a 80 $\mu\text{g/mL}$. Nesses intervalos a própolis vermelha apresentou percentual em média de inibição do radical livre DPPH entre 58,91% (na menor concentração) e 90,29% (na maior). Para a própolis marrom, os percentuais variaram de 9,1% a 85,03%, sob as mesmas condições.

Nos resultados pode-se verificar uma relação direta entre o aumento da concentração com a melhora da eficácia do extrato na neutralização dos radicais.

Figura 22 - Perfil da capacidade antioxidante do extrato etanólico de própolis vermelha e marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

Os valores apresentados na Figura 22 estão de acordo com os dados publicados por Nascimento, et al. [112], nos quais observaram para o mesmo tipo de própolis, inibição de radicais livres de 59,36% e 88,31% nas concentrações de 1 $\mu\text{g/mL}$ e 25 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, utilizando também o método de DPPH.

Em outro estudo realizado por Andrade et al. [102], na qual foi analisado a capacidade antioxidante de três variedades de própolis brasileira - vermelha, verde e marrom -, por meio do método DPPH, observou-se que a própolis vermelha foi a mais eficaz, com inibição de 90,72%, a verde, 88,53% e a marrom 86,06%

Com base na análise da capacidade antioxidante, verificou-se que os extratos da própolis vermelha e marrom apresentam grande potencial. Em particular, o extrato de própolis vermelha destaca-se, apresentando o maior teor de fenóis totais presentes em seu extrato e níveis elevados de flavonoides, que são diretamente responsáveis para sua capacidade antioxidante, em conformidade com os estudos publicados [112,113].

As capacidades antioxidantes, a qual varia consideravelmente entre diferentes concentrações de fenóis totais e flavonoides, é, em grande parte, influenciado pela cobertura vegetal ao redor da colmeia no local de amostragem, bem como pelas características geográficas e as condições climáticas da área de coleta das amostras, além da presença de impurezas nas amostras analisadas. Nesse contexto, um fator determinante para as variações consideráveis dos compostos é a diversidade botânica que compõe a cobertura vegetal ocorre ao redor da colmeia. Além disso as condições climáticas, como temperatura, umidade e exposição à luz, influenciam as propriedades bioquímicas da própolis [58, 114].

5.1.4 Avaliação da Atividade Antibacteriana – (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Para a seleção dos microrganismos a serem testados, foi realizado, inicialmente um estudo sobre a atuação dos extratos de própolis. Os resultados indicaram uma maior sensibilidade das bactérias gram-positivas [115]. De acordo com De Vargas, et al. [115], a atividade antibacteriana dos extratos da própolis ocorre devido a presença de flavonoides, ácidos e ésteres aromáticos presentes na resina, os quais possivelmente atuam sobre a estrutura da parede celular desses microrganismos através de um mecanismo de ação ainda não elucidado.

Diante disso, foram realizados ensaios para determinar o CIM e CBM utilizando as cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Klebsiella pneumoniae* ATCC

(700603) (Tabela 8), empregando drogas como Vancomicina e Imepemem como controle.

Tabela 8 - Resultados CIM e CBM dos extratos de própolis vermelha e marrom

Droga	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (gram-negativa)		<i>Pseudomas aeruginosa</i> (gram-negativa)		<i>Staphylococcus aureus</i> (gram-positiva)		<i>Staphylococcus epidermidis</i> (gram-positiva)	
	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)
Extrato de própolis vermelha (seco)	31,3	>125	>125	>125	31,3	>125	125	>125
Extrato de própolis marrom (seco)	62,5	>125	62,5	>125	>125	>125	>125	>125
Vancomicina	-	-	-	-	1,9	1,9	7,8	7,8
Imepemem	31,3	31,3	-	-	-	-	-	-

Fonte: Próprio Autor (2025)

Portanto para estas quatro cepas, os resultados obtidos foram satisfatórios, indicando que ambos os extratos possuem efeito bacteriostático em especial ao extrato de própolis vermelha que obteve o CIM 31,3 $\mu\text{g/mL}$ para a *Klebsiella pneumoniae* (gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* (gram-positiva). Para as cepas *Pseudomas aeruginosa* e *Staphylococcus epidermidis* o CIM foi >125 $\mu\text{g/mL}$ indicando sem eficácia.

O extrato de própolis marrom também obteve resultado para a *K. pneumoniae*, e *P. aeruginosa* (gram-negativas) com CIM 62,5 $\mu\text{g/mL}$ para ambas resultando em um efeito baixo e sem eficácia para as gram-positivas *S. aureus* e *S. epidermidis*.

Em relação a análise do CBM, pode-se observar que todos os valores foram superiores a 125 $\mu\text{g/mL}$ o que sugere que a ação dos extratos de própolis vermelha e marrom sejam predominantemente bacteriostáticos, ou seja, inibidora do crescimento bacteriano, em vez de promover a morte.

Dessa maneira, temos que neste presente estudo o extrato de própolis vermelha apresentou resultados satisfatórios para duas cepas sendo a gram-positiva (*S. aureus*) e gram-negativa (*K. pneumoniae*). Já na literatura [116], é notado eficácia

contra bactérias gram-positivas (especialmente a *S. aureus* e *Enterococcus faecalis*) e sem eficácia em gram-negativa (*Escherichia coli*).

Já no estudo de Junior, et al. [117], o extrato de própolis vermelha apresentou atividade antibacteriana para 100% das gram-positivas testadas (*S. aureus*, *S. aureus* ATCC 25923, *Coagulase negativo*) e para as gram-negativas (*K. pneumoniae* ATCC 13883 e *Proteus mirabilis*).

Por fim, no estudo de Gomes, et al (2016) [118], o extrato contendo 35% de própolis marrom, apresentou ação bactericida frente às bactérias gram-positivas (CIM variou de 2,25 a 18,5mg/mL *Streptococcus spp.* a) e gram-negativas (CIM entre 4,5 a 18,9mg/mL para *E. coli* e de 4,5 a 9,3mg/mL para *P. aeruginosa*), variando de acordo com a origem, sendo a de origem bovina e canina as mais resistentes, assim como também dependente da espécie do microrganismo e de sua procedência.

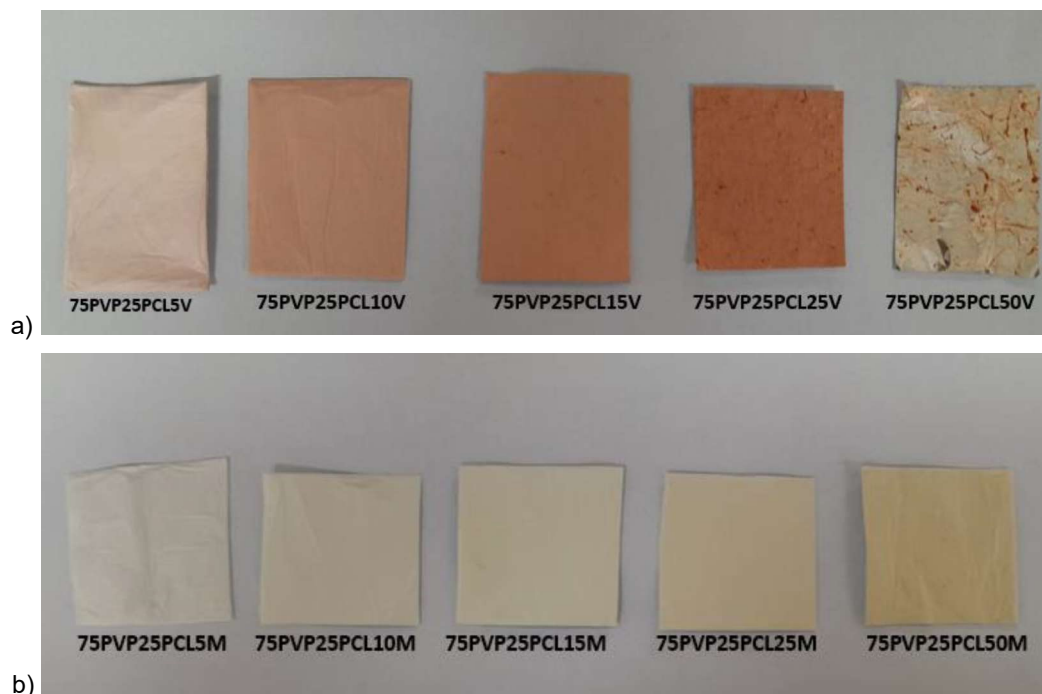
Por fim, no estudo de Mirzoeva, et al (1997) [119], o extrato de própolis também se obteve ação bactericida contra espécies gram-negativas (CIM entre 4,5 e 18,9mg/mL) e gram-positivas (CIM entre 2,25 e 18,9mg/mL), sugerindo-se que o efeito seja dependente da espécie de microrganismos, devido à complexidade da composição da membrana externa das bactérias gram-negativas serem de lipossacarídeos dificultando a ação bactericida dos ativos constituintes dos extratos de própolis (derivados cinâmicos e flavonoides) em permear a membrana externa das bactérias.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MANTAS ELETROFIADAS

Inicialmente foram preparadas mantas de PVP/PCL em diferentes concentrações de polímeros. Todas as mantas possuíam cor branca, de acordo com a coloração das matérias primas.

Posteriormente foram adicionados na solução PVP/PCL, a ser eletrofiada, diferentes concentrações de extratos de própolis vermelha, e extrato marrom. Na Figura 23, é possível visualizar a modificação da coloração das mantas conforme a adição de maior concentração de extratos. Para as mantas produzidas com própolis vermelha estas possuíam coloração avermelhada, e para as amostras produzidas com própolis marrom, coloração amarelada. Sendo que a amostra 75PVP25PCL50V não foi observada a formação de fibras.

Figura 23- Mantas Eletrofiadas a) contendo variações de extrato de própolis vermelha; b) contendo variações de extrato de própolis marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

5.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

5.2.1.1 Blenda Polimérica PCL/PVP

As Figuras de 22 a 26 ilustram as morfologias das mantas eletrofiadas, com a blenda de polímeros PCL/PVP e os respectivos histogramas de distribuição do diâmetro. Dessa forma, foi possível a análise da dispersão do diâmetro das microfibras, assim como a visualização do desvio padrão (Tabela 9).

A morfologia e a distribuição dos diâmetros das microfibras composta exclusivamente por PCL podem ser observadas na figura 24. As microfibras dispõem de um entrelaçamento aleatório e não há nenhum padrão de alinhamento, o que pode indicar uma deposição desordenada. Já o histograma mostra um diâmetro médio de cerca de 900 nm, com um desvio padrão de 879 nm, revelando uma grande variação do diâmetro das fibras. Embora não tenham sido observados “*bead*”, assim como qualquer irregularidade superficial como rugosidades, nota-se rugosidades em algumas das microfibras. Essas rugosidades podem ser explicadas pelas interações que ocorrem entre os átomos dos polímeros e o solvente usado no processo da

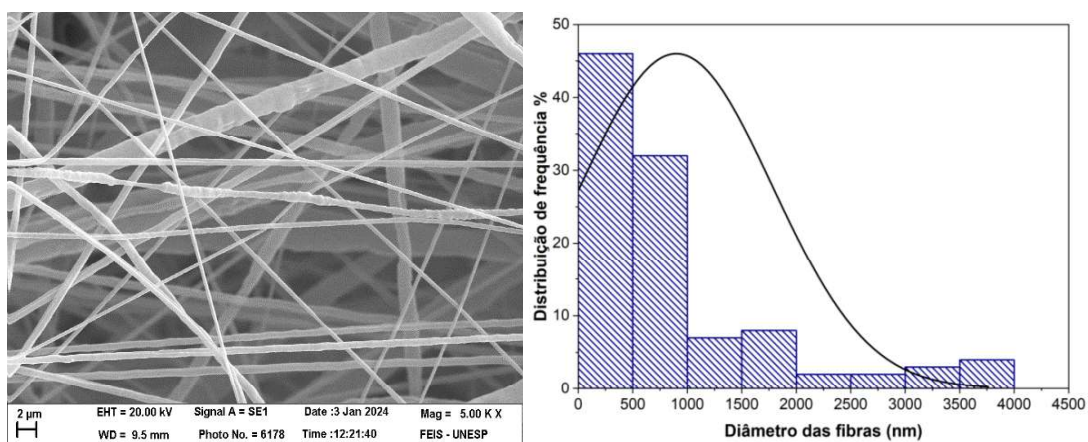
eletrofiação, que pode afetar diretamente a qualidade das fibras [59]. Além disso, é evidente que fatores como tensão superficial, taxa de evaporação do solvente e viscosidade da solução também podem desempenhar um papel fundamental na formação das fibras. Em particular, a evaporação incompleta do solvente durante o deslocamento do jato para o contra eletrodo pode causar uma aglutinação ou mesmo mudanças morfológicas, que se manifestam na forma de mantas com textura não homogênea. Portanto, a escolha adequada de solventes, como álcool metílico e clorofórmio é crucial para alcançar fibras com estruturas e texturas aprimoradas [59].

Após a adição de quantidades crescentes do polímero PVP ao PCL, na proporção de 25%, 50% e 75%, foi possível observar um aumento inicial no diâmetro médio das fibras. Um possível fator responsável para esse resultado está relacionado a modificação no afinamento do jato extrudado. Dessa forma, concentrações mais elevadas do PVP adicionado, dificulta a capacidade do jato de se manter ativo durante a eletrofiação. Por consequência, o jato foi incapaz de ser esticado antes de alcançar o contra eletrodo. Deste modo, as fibras formadas possuíam diâmetros progressivamente maiores [37].

Por outro lado, a morfologia das fibras das blendas de PCL/PVP manteve as características de entrelaçamento sem alinhamento em todas as proporções. As amostras de maior porcentagem de PCL apresentaram concentração de rugosidades superficiais maior, como evidenciado nas Figuras 25 e 26. As imagens não mostram a presença do tipo de defeito *bead*, o que aponta para a eficiência do processo de eletrofiação para as condições do experimento utilizadas no trabalho.

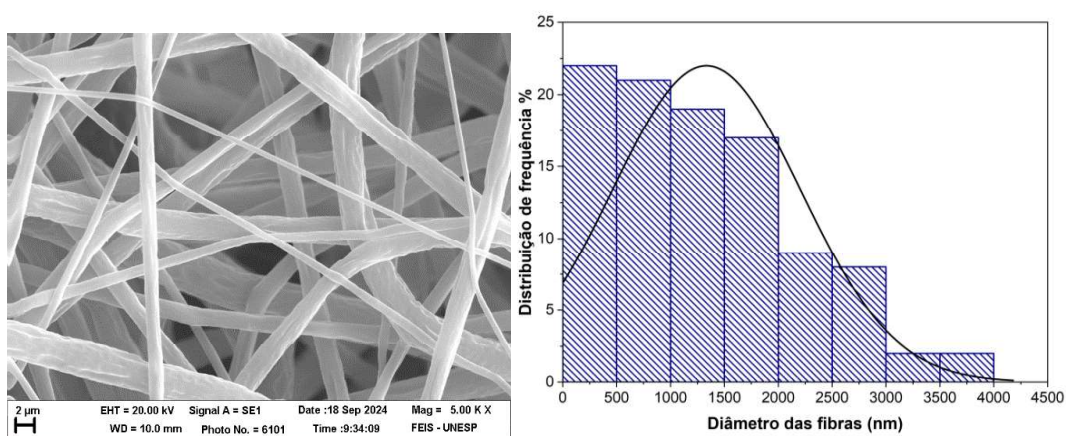
Na Figura 28, é mostrada a morfologia da manta eletrofiada, na ausência de PCL. Da mesma forma, o padrão de entrelaçamento e alinhamento das fibras está preservado, e nenhum *bead* foi observado. O diâmetro médio foi de 1267 nm, com um desvio padrão de 586 nm. A uniformidade da manta pode ser atribuída à baixa viscosidade e a maior condutividade da solução de PVP.

Figura 24 - Diâmetro das fibras 100% PCL



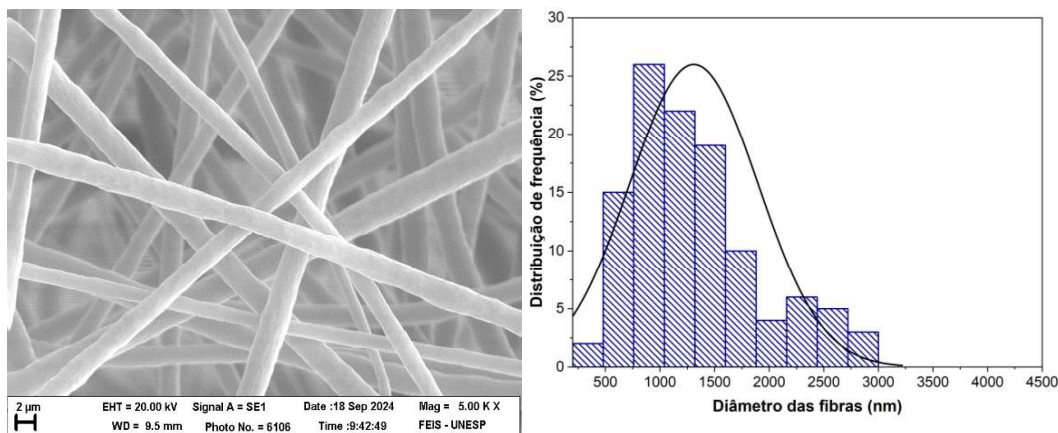
Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 25 - Diâmetro das Fibras 75% PCL e 25% PVP



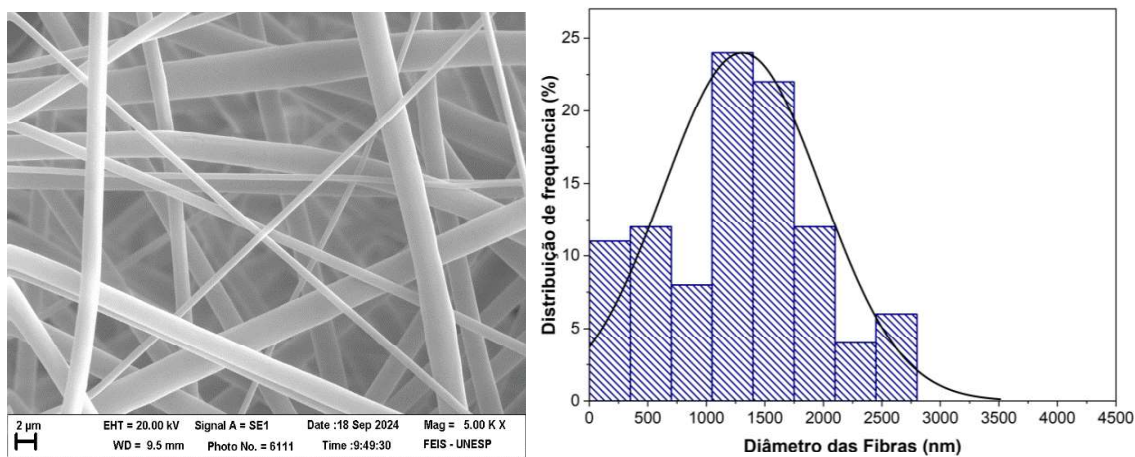
Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 26 - Diâmetro das Fibras 50% PCL e 50%PVP



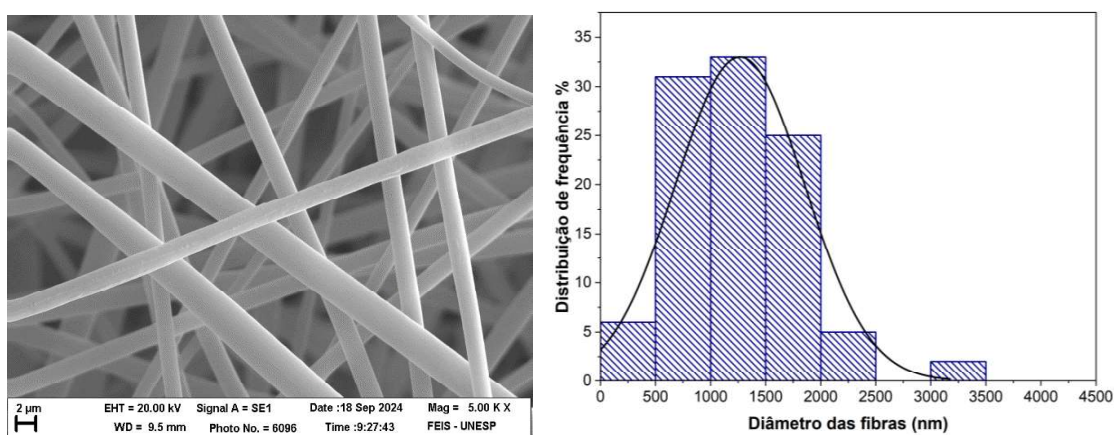
Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 27 - Diâmetro das Fibras 25% PCL e 75% PVP



Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 28 - Diâmetro das Fibras 100% PVP



Fonte: Próprio Autor (2024)

Na Tabela 9, são apresentados os diâmetros médios e os desvios das fibras para cada amostra analisada.

Tabela 9 - Relação dos diâmetros médios das microfibras e o desvio padrão

PCL/PVP (%)	Diâmetro Médio (nm)	Desvio Padrão (nm)
100/0	900	879
75/25	1334	874
50/50	1310	586
25/75	1307	673
0/100	1267	586

Fonte: Próprio Autor (2024)

Pode ser observado que os diâmetros das microfibras mantiveram uma distribuição relativamente homogênea em função das diferentes composições da blenda. Das amostras, a blenda composta por 25% de PCL e 75% de PVP apresentou o menor diâmetro médio, com 1307 nm e um desvio de 673 nm, o que mostra uma maior dispersão quando utilizada essas proporções.

Os resultados obtidos evidenciam concordância com o objetivo do trabalho que é otimizar as propriedades das mantas fibrosas para aplicações biomédicas. O aumento da proporção de PVP contribui para a hidrofilicidade da manta, uma característica importante para o sistema cujo objetivo é a liberação controlada de fármacos. Essa característica se deve à alta solubilidade em água do PVP e a afinidade por líquidos biológicos. Já a presença do PCL na solução, como observado, mesmo em menores concentrações, proporcionou as fibras resistência mecânica e estabilidade estrutural. Para curativos, por exemplo, são características fundamentais para garantir a integridade física do material durante o manuseio e uso clínico.

5.2.1.2 Blenda Polimérica PCL/PVP – Própolis Marrom

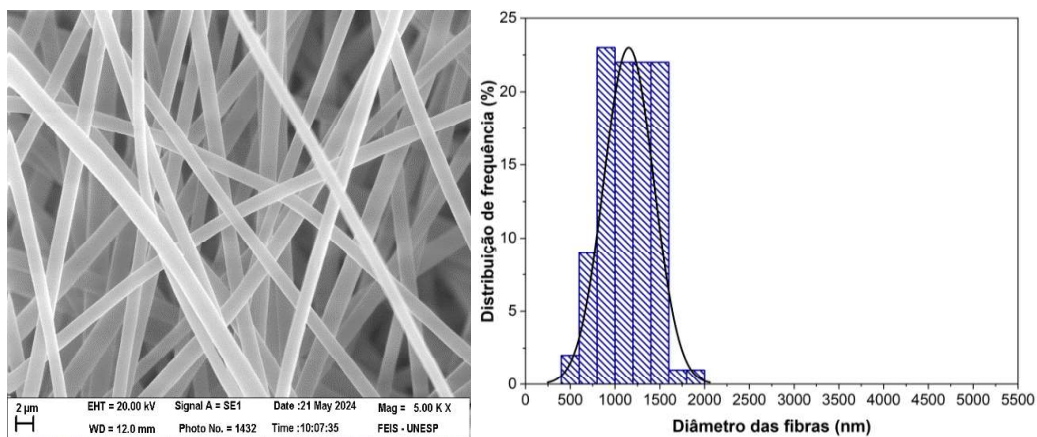
Os resultados realçados nas Figuras 24 a 28 demonstram que a blenda mais indicada para preparação de curativos, cujo objetivo é a liberação controlada de fármacos, é composta por 25% de PCL e 75% de PVP, pois obteve-se a maior incorporação do polímero hidrofílico PVP sem apresentar defeitos e com o menor diâmetro, favorecendo o objetivo deste estudo. Utilizando essas proporções, foram incorporadas concentrações de própolis marrom de 5, 10, 15, 25 e 50%, em relação ao peso total dos polímeros.

A morfologia das amostras e a distribuição do diâmetro das fibras contendo 5%, 10%, 15% e 25% de própolis marrom, respectivamente, são observadas nas figuras de 29 a 32. Nas imagens, pode ser visto também, um arranjo aleatório das fibras, ausência de defeitos do tipo *bead* e uma superfície mais lisa das fibras, sem rugosidade aparente.

A morfologia da blenda contendo 50% de própolis marrom é apresentada na Figura 33 que mostra uma deposição irregular das fibras, acompanhada por um aumento no diâmetro. Apesar de não serem vistos rugosidade ou defeito do tipo *bead*, a fibra com 50% de própolis tem a formação de interconexões entre si. O aumento no diâmetro observado pode ser devido à elevada concentração de própolis marrom na

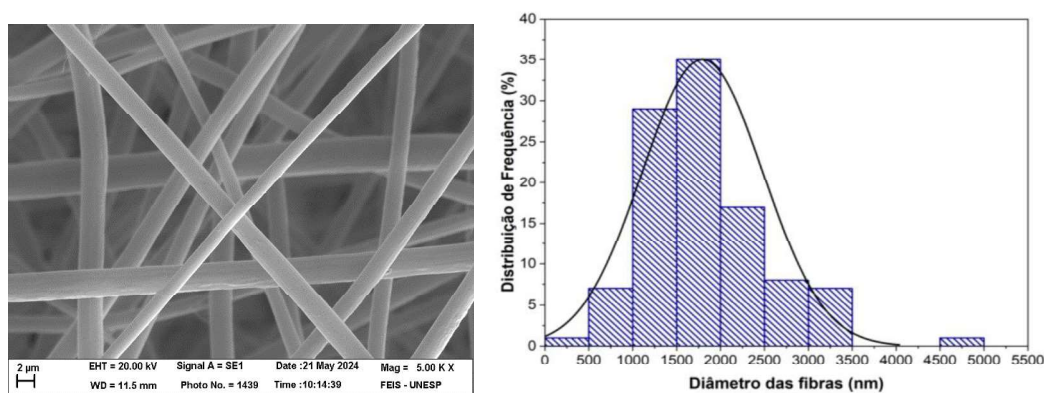
blenda. Quanto às interconexões, estudos relatam que essas características podem estar relacionadas à instabilidade do cone de Taylor, causada pela alta taxa de evaporação do solvente durante o processo de produção das fibras [120].

Figura 29 - Diâmetro das Fibras contendo 5% de própolis marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 30 - Diâmetro das Fibras contendo 10% de própolis marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 31 - Diâmetro das Fibras contendo 15% de própolis marrom

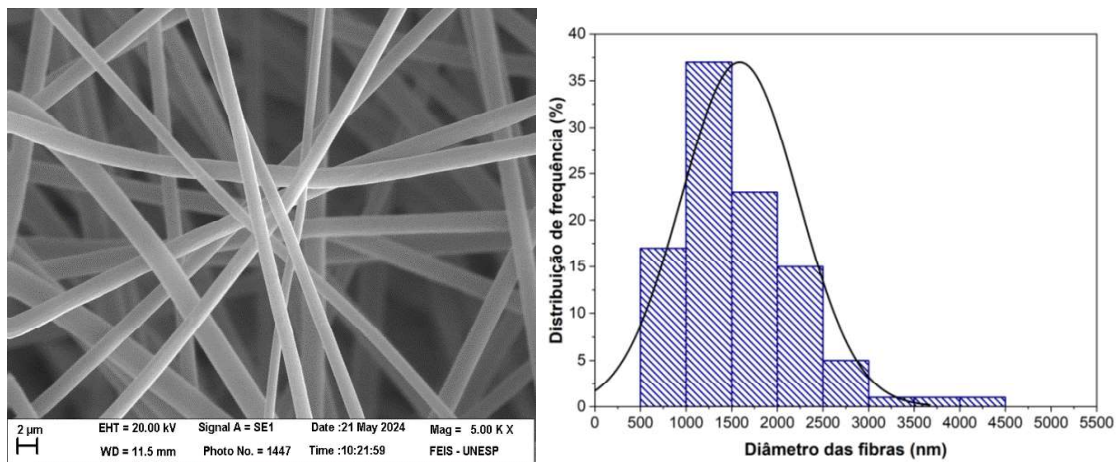


Figura 32 - Diâmetro das Fibras contendo 25% de própolis marrom

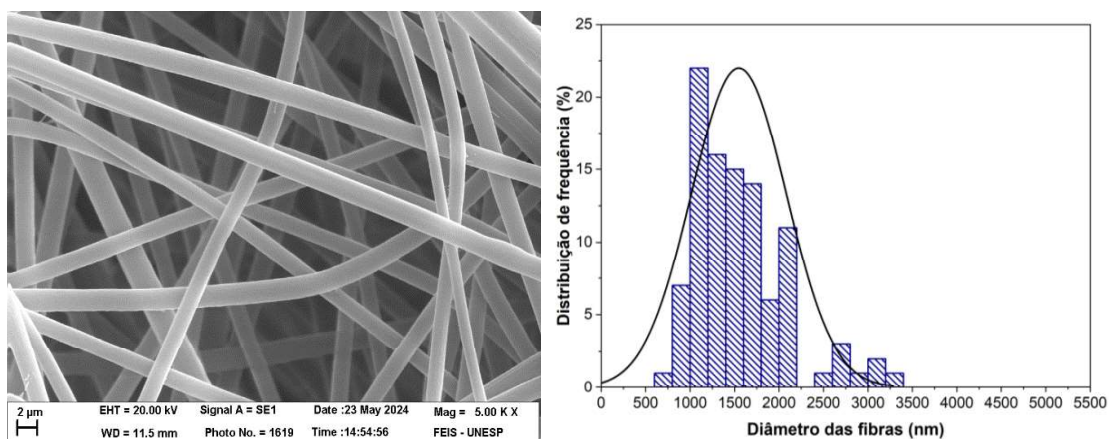
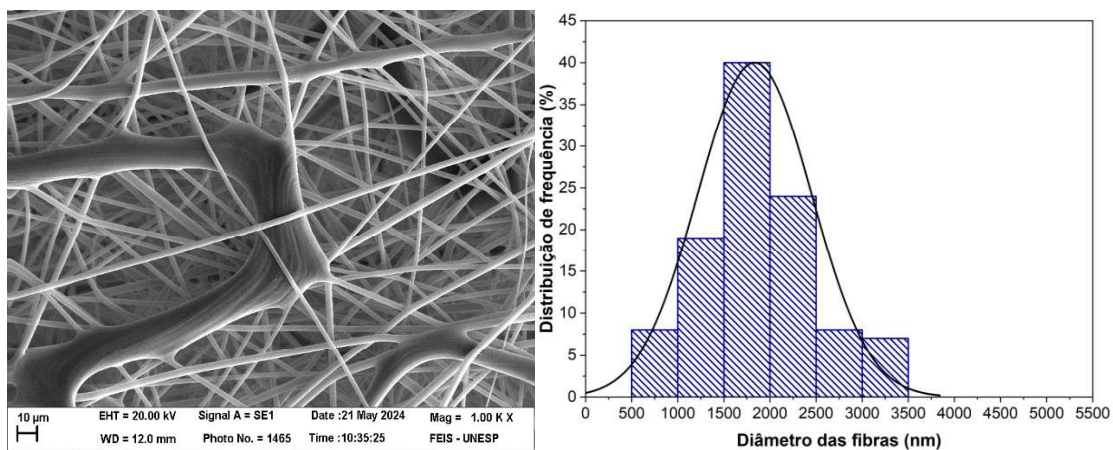


Figura 33 - Diâmetro das Fibras contendo 50% de própolis marrom



A Tabela 10 descreve os valores dos diâmetros médios das fibras contendo 5 a 50% de própolis marrom.

Tabela 10 - Diâmetro médio e desvio padrão das blendas poliméricas variando a porcentagem de própolis marrom

Amostra	Diâmetro Médio (nm)	Desvio Padrão (nm)
75PVP/25PCL/5M	1153	278
75PVP/25PCL/10M	1794	689
75PVP/25PCL/15M	1588	640
75PVP/25PCL/25M	1548	533
75PVP/25PCL/50M	1833	617

Fonte: Próprio Autor (2024)

A amostra com menor concentração de própolis marrom obteve diâmetro de fibras inferiores a demais amostras. As amostras que possuíam maior diâmetro das fibras foram as amostras contendo 10 e 50% de própolis marrom. Diferentemente das amostras com própolis vermelho, foi possível incorporar maior quantidade de própolis marrom nas fibras, chegando ao valor de 50%. Isto foi possível devido a composição do extrato de própolis marrom, provavelmente mais compatível com processamento por eletrofiação. A adição de maior quantidade de própolis nas fibras é favorável, pois estas apresentam maior quantidade de ativos presentes a serem liberados. Por outro lado, a amostra com 50% de própolis marrom obteve maior diâmetro das fibras que podem diminuir a área de contato da manta com uma possível ferida. E assim, prejudicando a efetiva liberação.

5.2.1.3 Blenda Polimérica PCL/PVP – Própolis Vermelho

Conforme observado nos resultados apresentados anteriormente, a blenda ideal foi composta por 25% de PCL e 75% de PVP. A partir dessa formulação de proporcionalidade entre PCL e PVP, diferentes proporções de própolis vermelha foram adicionadas, correspondendo a 5%, 10%, 15%, 25% e 50% da massa total dos polímeros.

Os resultados dessas variações de concentrações de própolis vermelha são ilustrados nas Figuras de 35 a 37. Nas micrografias não exibem um padrão consistente na deposição das fibras, embora não tenham defeitos do tipo *bead*. Entretanto, a

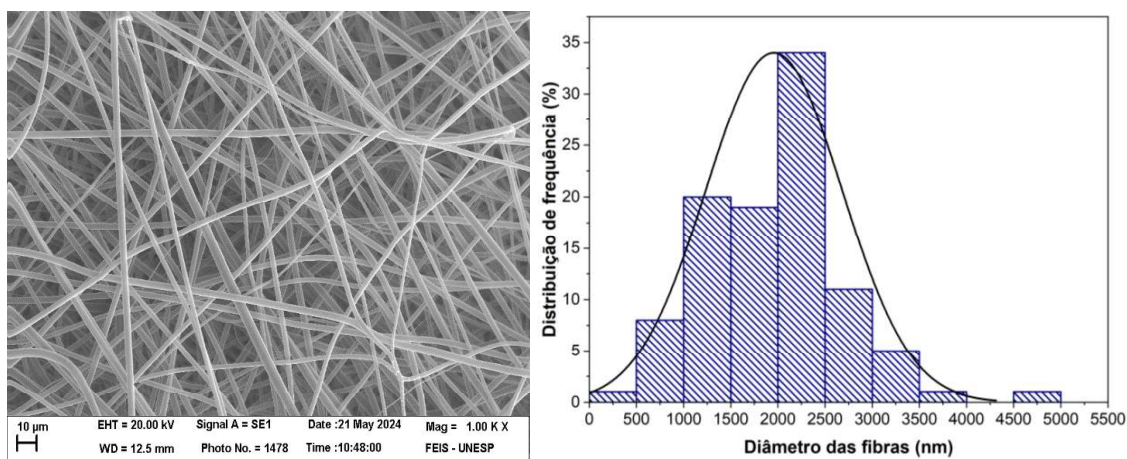
manta eletrofiada com 25% de própolis apontou interconexões excessivas entre as fibras, como mostrado na Figura 37.

Os diâmetros médios das fibras com diferentes concentrações de própolis são demonstrados na Tabela 11. A manta com 5% de própolis, revelou um diâmetro médio de 1958 nm com desvio de 724 nm. No entanto, para as amostras com concentrações de 10% e 15% de própolis os diâmetros médios foram de 1361 nm e com desvio padrão de 623 nm e 1325 nm com desvio padrão de 563 nm, respectivamente. Por fim, a manta com 25% de própolis resultou em um aumento significativo no diâmetro médio, 3422 nm, com desvio padrão de 2314 nm.

Os resultados da amostra contendo 50% de própolis não pôde ser eletrofiada devido à alta viscosidade da solução. Esse resultado evidencia que concentrações elevadas de própolis podem impactar negativamente no processo de eletrofiação.

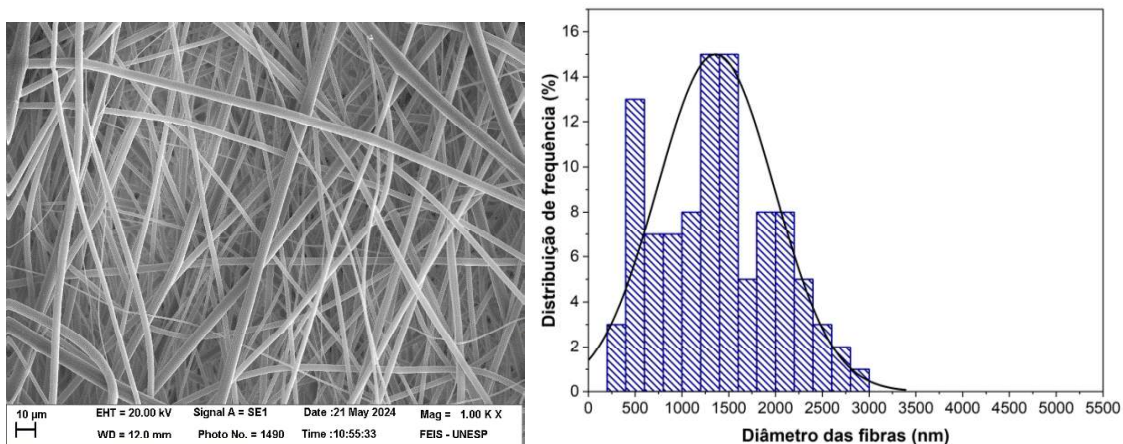
Como observado, os diâmetros das fibras não apresentaram uniformidade entre as amostras. A adição de 5% de própolis resultou em um aumento no diâmetro das fibras, enquanto as concentrações de 10% e 15% levaram uma redução. Dentre as amostras avaliadas, a blenda com 15% de própolis foi considerada a mais adequada para as condições experimentais, pois apresentou o menor diâmetro, o que é favorável ao crescimento celular.

Figura 34 - Diâmetro das Fibras contendo 5% de própolis vermelha



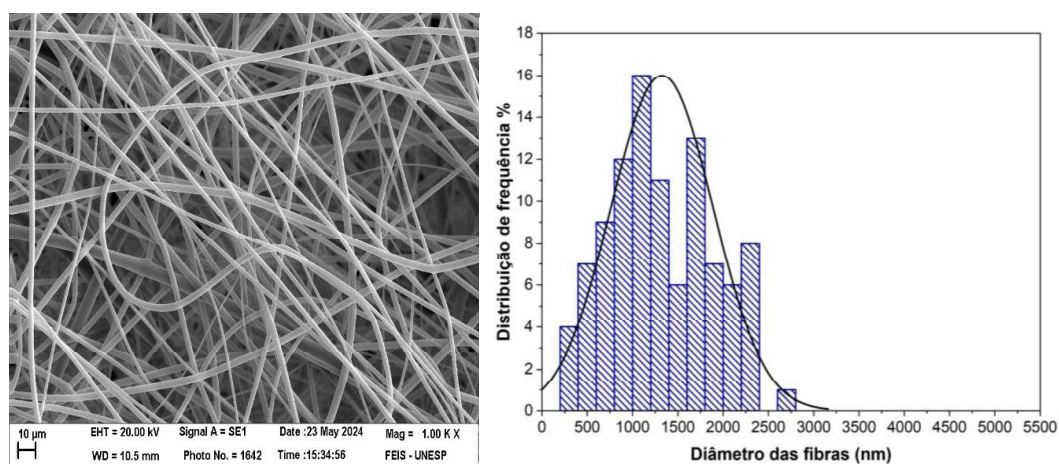
Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 35 - Diâmetro das Fibras contendo 10% de própolis vermelha



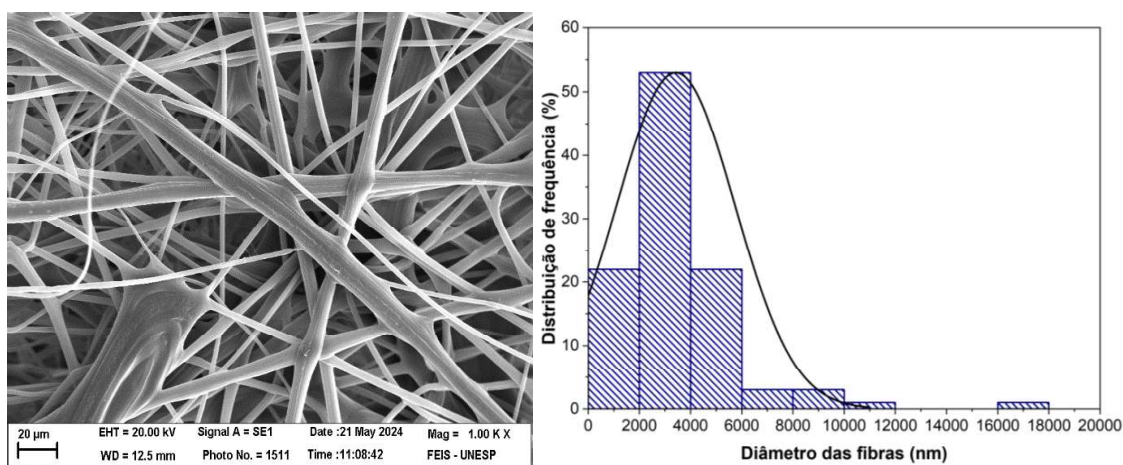
Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 36 - Diâmetro das Fibras contendo 15% de própolis vermelha



Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 37 - Diâmetro das Fibras contendo 25% de própolis vermelha



Fonte: Próprio Autor (2024)

Tabela 11 - Diâmetro médio das blendas poliméricas variando a porcentagem de própolis vermelha

Amostra	Diâmetro Médio (nm)	Desvio Padrão (nm)
75PVP/25PCL/5V	1958	724
75PVP/25PCL/10V	1361	623
75PVP/25PCL/15V	1325	563
75PVP/25PCL/25V	3422	2314

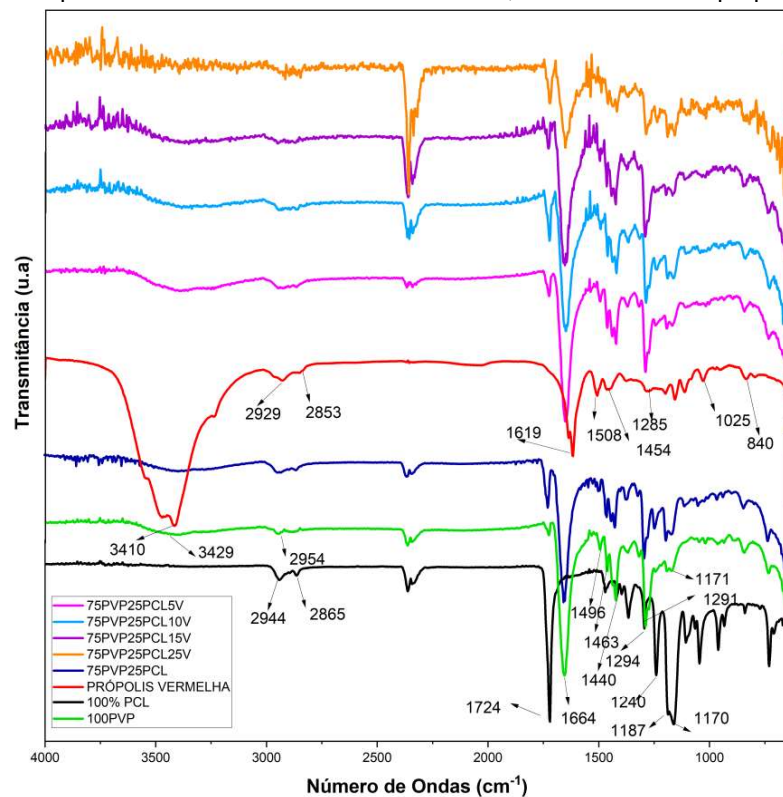
Fonte: Próprio Autor (2024)

5.2.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – FTIR

Para as diferentes mantas eletrofiadas foram realizadas análises espectroscópicas FTIR-ATR. As mantas analisadas foram as de: PCL puro (100%); PVP puro (100%); mantas contendo 75% PVP e 25% PCL, e mantas com 75% PVP e 25% PCL com concentrações de extrato de própolis vermelha variando entre 5% e 25% e mantas contendo extrato de própolis marrom variando a concentração de 5% a 50%. Além das espectrometrias FTIR-ATR, foram obtidos espectros de FTIR com o uso de pastilhas de Brometo de Potássio (KBr) para as amostras de própolis marrom (100%) e própolis vermelha (100%).

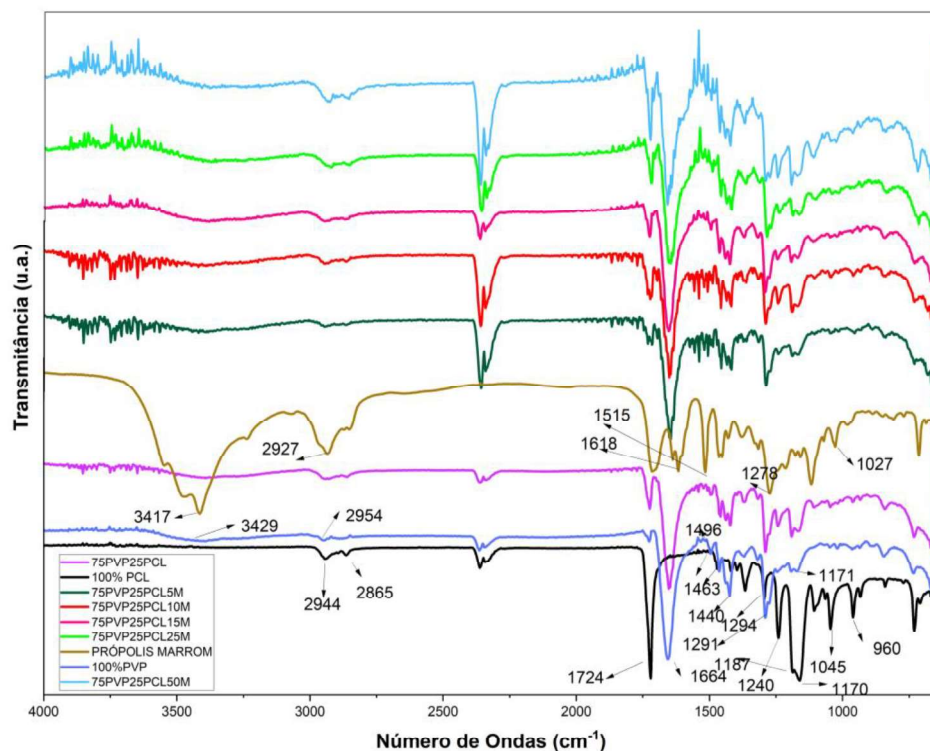
As análises espectroscópicas por FTIR das mantas com diferentes concentrações de própolis vermelha, assim como com os espectros dos compostos do PVP puro (100%), PCL puro (100%) e extrato de própolis vermelha (100%) são demonstrados na Figura 38. A Figura 39 ilustra os espectros de FTIR das mantas contendo variações de própolis marrom, PVP puro (100%), PCL puro (100%) e extrato de própolis marrom (100%), evidenciando as principais vibrações moleculares associadas. Podem ser observados no Quadro 3 e 4, as principais vibrações nos espectros FTIR.

Figura 38 - Espectros FTIR das mantas contendo PCL, PVP e extrato de própolis vermelha



Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 39 - Espectros FTIR das mantas contendo PCL, PVP e extrato de própolis marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

O espectro de FTIR do PCL demonstra as vibrações características em 2944 cm^{-1} e 2865 cm^{-1} que foram atribuído ao alongamento assimétrico do grupo metileno-oxigênio ($\text{CH}_2\text{-O}$) e também ao alongamento simétrico dos grupos metileno ($\text{CH}_2\text{-}$), respectivamente [121]. A presença do grupo carbonil no polímero é confirmado pela banda intensa apresentada em 1724 cm^{-1} que é característica do estiramento da carbonila (C=O) [121]. A banda em 1294 cm^{-1} identifica o alongamento do grupo éster (C-O e C-C) na fase cristalina. As deformações observadas dos grupos metileno (CH_2) que estão presentes nas bandas em 1045 cm^{-1} e 960 cm^{-1} [121], assim como vibração de alongamento assimétrico C-O-C é registrada em 1240 cm^{-1} , enquanto as bandas em 1187 cm^{-1} e 1170 cm^{-1} correspondem ao alongamento simétrico C-O-C , sendo esta última relacionada à fase amorfa do PCL [121, 113].

O espectro do PVP expõe uma larga banda em torno de 3429 cm^{-1} , no qual expressa a vibração do estiramento O-H , devido a presença de água neste polímero por ser altamente higroscópico [122]. A banda em 2954 cm^{-1} surge a partir do estiramento do $-\text{CH}_2$. A banda mais intensa foi encontrada em 1646 cm^{-1} devido a vibração do estiramento C=O na amida. A banda em 1496 cm^{-1} corresponde as vibrações de estiramento C-N [122, 123]. As bandas 1463 , 1440 e 1422 cm^{-1} são atribuídas a deformação CH do grupo CH_2 cíclico. A banda em 1291 cm^{-1} corresponde ao alongamento C-N no anel N-vinilpirrolidona. As outras bandas fracas também foram encontradas em 1229 e 1171 que foram atribuídas a torção CH_2 [123].

Forte absorção no intervalo de $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ dos extratos de própolis vermelha e marrom aparecem em aproximadamente 3410 cm^{-1} e 3417 cm^{-1} , respectivamente. Essas bandas são atribuídas ao estiramento O-H dos grupos fenólicos [102, 124]. Bandas em 2929 cm^{-1} (própolis vermelha) e 2927 cm^{-1} (própolis marrom) indicam estiramentos assimétricos dos grupos CH_2 [102, 124].

Os sinais em 1619 cm^{-1} e 1618 cm^{-1} , observados nos extratos de própolis vermelha e marrom, respectivamente, estão associados à deformação axial C=O . Uma variação significativa na região de 1500 a 900 cm^{-1} sugere diferenças na composição química entre os extratos analisados [124].

A deformação axial C=C , são representadas pelas bandas em 1508 cm^{-1} e 1454 cm^{-1} (própolis vermelha), e 1515 cm^{-1} e 1457 cm^{-1} (própolis marrom) e são característica do anel aromático presente nos flavonoides [124]. Para a própolis vermelha, a banda em 1285 cm^{-1} é atribuída à deformação axial assimétrica C-O-C ,

enquanto as bandas em 1025 cm⁻¹ e 1027 cm⁻¹ (própolis vermelha e marrom, respectivamente) indicam deformação axial simétrica C-O-C. Finalmente, a banda em 840 cm⁻¹ na própolis vermelha representa a deformação angular fora do plano para C-H [124].

Os extratos de própolis vermelha e marrom apresentam bandas características de grupos funcionais fenólicos (O-H) e anéis aromáticos (C=C), confirmando a presença de flavonoides. Além disso, as bandas atribuídas a grupos C-O-C reforçam a identificação desses compostos em ambos os extratos [124].

Quadro 3 - Atribuições das vibrações dos compostos do PCL e PVP

Amostra	Número de onda (cm ¹)	Atribuição	Referências
PCL	2944	Alongamento assimétrico C-H (CH ₂)	[121]
	2865	Alongamento simétrico C-H (CH ₂)	[121]
	1724	Alongamento C=O (fase cristalina)	[121]
	1294	Alongamento C-O e alongamento C-C (fase cristalina)	[121]
	1240	Alongamento assimétrico C-O-C	[113, 121]
	1187	Alongamento simétrico C-O-C	[121]
	1170	Alongamento simétrico C-O e C-C (fase amorfa)	[113, 121]
	1045	Deformação angular CH ₂	[121]
	960	Deformação angular CH ₂	[121]
PVP	3410	Alongamento OH	[122]
	2954	Alongamento assimétrico (CH ₂)	[122]
	1646	Alongamento C=O na amida primária	[122]
	1496	Alongamento C–N	[122,123]
	1463	Deformação C-H (CH ₂)	[123]
	1440	Deformação C-H(CH)	[123]
	1422	Deformação C-H(CH)	[123]
	1291	Alongamento C–N	[123]
	1229	Torção CH ₂	[123]

Quadro 4 - Atribuições das vibrações dos compostos dos extratos de própolis vermelha e marrom

Amostras	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição-Deformação	Referências
Extrato P. Vermelha	3410	O-H para fenóis	[124]
	2929	C-H para aromáticos	[124]
	2853	C-H para alifáticos	[124]
	1619	C=O	[124]
	1508	C=C para anel aromático	[124]
	1454	C=C para anel aromático	[124]
	1285	assimétrica para C-O-C	[124]
	1025	simétrica para C-O-C	[124]
	840	angular fora do plano para C-H	[124]
Extrato P. Marrom	3417	O-H para fenóis	[102]
	2927	C-H para aromáticos	[102]
	1618	C=O	[102]
	1515	C=C para anel aromático	[102]
	1278	assimétrica para C-O-C	[102]
	1027	simétrica para C-O-C	[102]

Próprio Autor (2024)

Os espectros de FTIR-ATR das blendas compostas por 75% de PCL e 25% de PVP, incorporadas com extratos de própolis vermelha e marrom, ilustram intensidades e bandas características correspondentes aos componentes PCL e PVP.

As composições das mantas contendo 5%, 10%, 15% e 25% de própolis vermelha, bem como 5%, 10% e 15% de própolis marrom, não exibem vibrações atribuíveis aos extratos das própolis. O comportamento pode ser atribuído à baixa concentração dos extratos nas blendas, aliada à possibilidade de sobreposição de bandas espectrais, sugerindo boa homogeneidade das mantas analisadas [59].

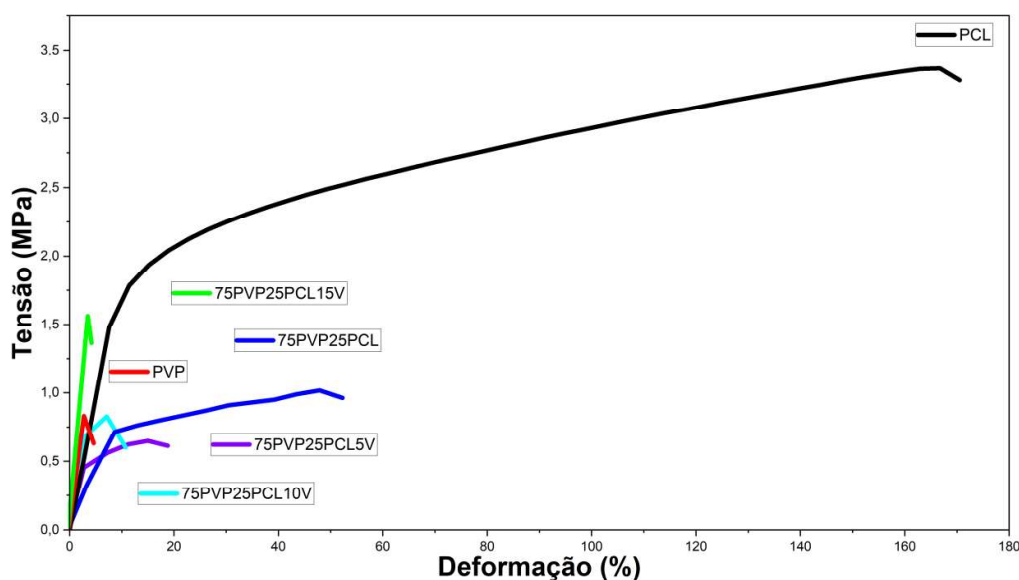
Para as blendas contendo 25% e 50% de própolis marrom, foi observado formação de uma banda de menor intensidade em 1618 cm⁻¹, que foi atribuída à deformação axial da ligação C=O. Esse resultado pode indicar que para maiores concentrações de própolis marrom, 25% e 50% pode levar a uma influência na

estrutura química que pode ser detectada por FTIR. O mesmo comportamento foi observado por Rodrigues et al. [59], no entanto, no estudo, foram produzidas mantas eletrofiadas contendo apenas PCL e variações de 1 a 15% de própolis vermelha e 1 a 15% de cera de própolis vermelha.

5.2.3 Propriedades mecânicas das mantas eletrofiadas

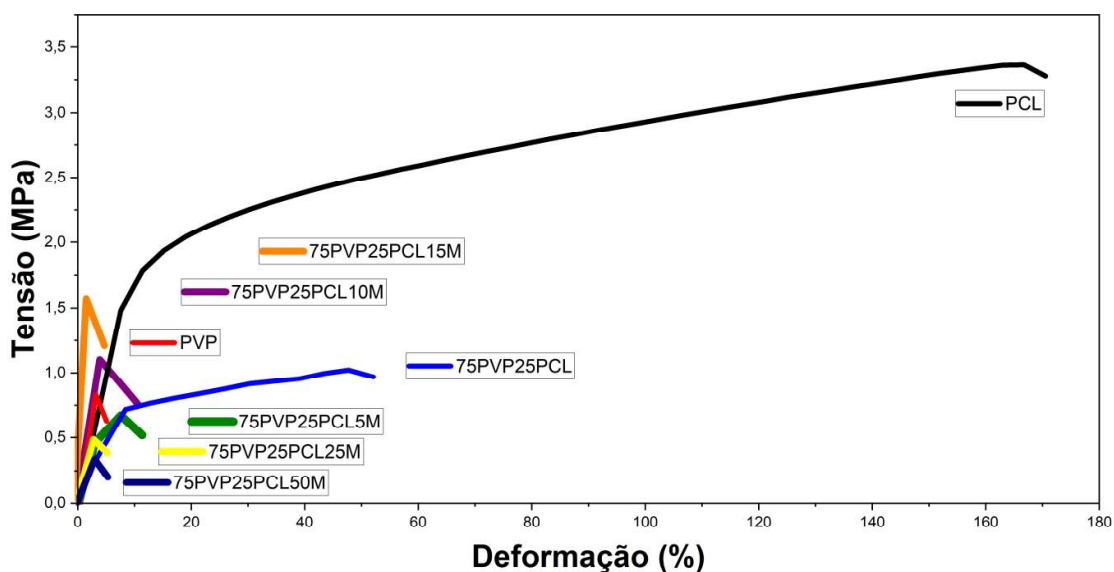
As mantas de 100% de PCL, 100% de PVP, as blendas de 75% de PVP e 25% de PCL, assim como as variações de incorporação de 5%, 10% e 15% de extrato de própolis vermelha e 5%, 10%, 15%, 25% e 50% de extrato de própolis marrom tiveram as propriedades mecânicas obtidas por ensaios de tração uniaxial. Como as blendas compostas por 75% de PVP, 25% de PCL e 25% de extrato de própolis vermelha possuiu elevada fragilidade não foi possível realizar os ensaios para esta amostra. Os resultados das curvas de tensão-deformação são expostos na Figura 40. As mantas contendo diferentes concentrações de extrato de própolis marrom são mostradas na Figura 41. Os resultados com os valores de resistência à tração, alongamento na ruptura e módulo de elasticidade são mostrados na Tabela 12. Os cálculos foram realizados com base nos dados extraídos das curvas.

Figura 40 - Curvas representativas do comportamento tensão x deformação das mantas contendo extrato de própolis vermelha, juntamente com 100% PCL e 100% PVP



Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 41 - Curvas representativas do comportamento tensão x deformação das mantas contendo extrato de própolis vermelha, juntamente com 100% PCL e 100% PVP



Fonte: Próprio Autor (2024)

Tabela 12 - Propriedades mecânicas das mantas eletrofiadas

Amostras	Tensão Máxima (Mpa)	Deformação Máxima (%)	Módulo elástico (Mpa)
100% PCL	3,4±0,6	166,7±14,5	18,9
100% PVP	0,8±0,3	2,9±0,8	28,6
75PVP/25PCL	1,0±0,9	48,0±4,1	9,1
75PVP/25PCL/5V	0,6±0,2	15,2±2,3	15,1
75PVP/25PCL/10V	0,8±0,1	7,2±1,9	24,1
75PVP/25PCL/15V	1,5±0,3	3,7±0,8	41,2
75PVP/25PCL/5M	0,6±0,2	7,5±1,1	16,1
75PVP/25PCL/10M	1,1±0,4	4,2±0,7	26,4
75PVP/25PCL/15M	1,6±0,2	2,0±0,5	78,1
75PVP/25PCL/25M	0,5±0,1	3,1±0,4	15,8
75PVP/25PCL/50M	0,4±0,1	3,1±0,6	10,8

Fonte: Próprio Autor (2024)

Os resultados obtidos com os ensaios de tensão-deformação mostram diferenças importantes no comportamento mecânico das mantas compostas por 100% de PCL e 100% de PVP. A manta de PCL mostra uma grande região de deformação após o esforço aplicado nos testes, o que mostra uma alta ductilidade, enquanto as mantas de PVP realizaram rompimentos logo após atingir o ponto de escoamento, o que demonstrando sua fragilidade. Os mesmos resultados foram observados por KIM,

et al. [37], que estudou blendas formadas por 100% PCL, 100% PVP, e proporções mistas de 90% PCL/10% PVP, 80% PCL/20% PVP, 60% PCL/40% PVP, 50% PCL/50% PVP, e 40% PCL/60% PVP.

Nos resultados do trabalho, a blenda composta por 75% de PVP e 25% de PCL revelou reduções na tensão máxima e na deformação máxima quando comparada às mantas com composições puras. No entanto, mesmo exibindo esses resultados, a blenda ainda manteve certa ductilidade.

Com a incorporação de diferentes proporções de própolis vermelha (5%, 10% e 15%) à matriz 75% PVP/25% PCL, foi observado redução na deformação, acompanhada por um aumento no módulo de elasticidade. Também foi observado que a tensão máxima expôs um pequeno aumento, que é gradual, com o aumento da concentração de própolis vermelha. Essas alterações conferiram às mantas características frágeis.

Quando comparadas aos resultados das mantas com a própolis vermelha às blendas contendo própolis marrom (5%, 10% e 15%) obtiveram comportamentos mecânicos semelhantes às blendas com própolis vermelha, no entanto, as amostras com adição de própolis marrom apresentaram maior resistência que as de própolis vermelha nas mesmas concentrações.

Os resultados mostram que o PVP, em concentrações superiores às do PCL, 75% de PVP e 25% de PCL, observa-se uma redução tanto da tensão máxima quanto da deformação da blenda.

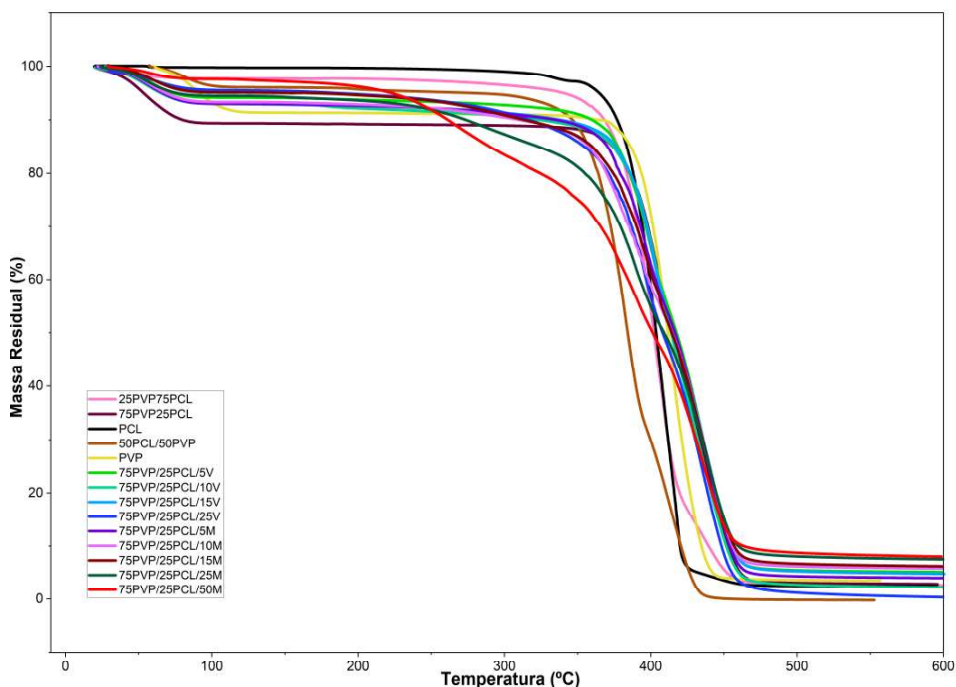
Por fim, os resultados obtidos, indicam que a adição de extratos de própolis, tanto vermelha quanto marrom na porcentagem de 15%, intensifica a resistência quando comparado a blenda composta por 75%PVP e 25%PCL. Esses resultados mostram a grande importância para manipulação, transporte e aplicação dos curativos. Assim como também, a importância de manter o PCL como um componente essencial na matriz das blendas, uma vez que sua ausência resulta em uma manta com propriedades mecânicas frágil e, portanto, inadequadas para aplicações que requerem maior resistência e ductilidade.

5.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica das mantas eletrofiadas foram realizadas por meio da análise termogravimétrica (TGA) (Figura 42), evidenciando a variação da massa

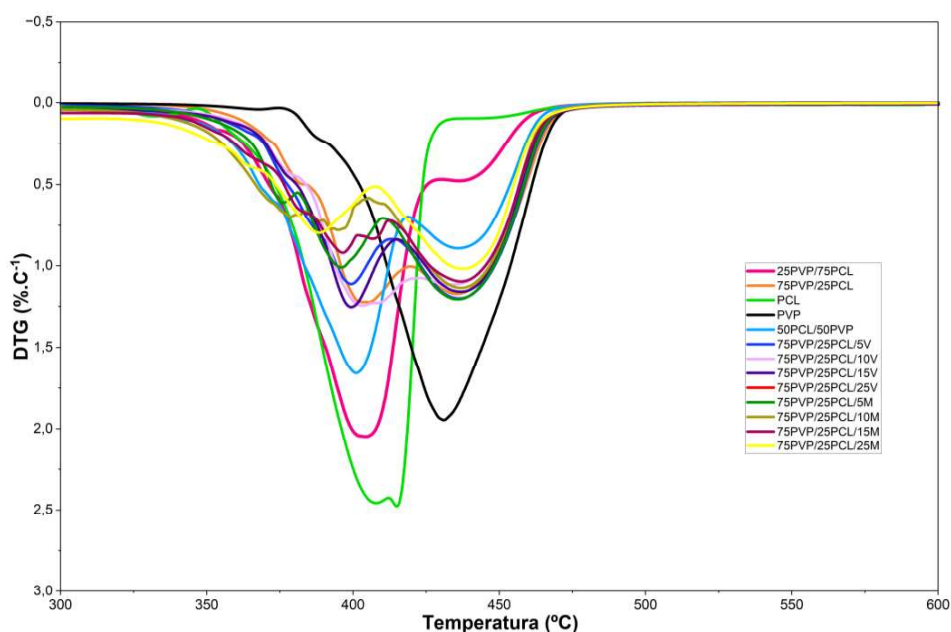
residual em função da temperatura e sua derivada (DTG) (Figura 43), no qual ilustrou a taxa de variação da perda de massa, possibilitando identificação precisa dos eventos associados à degradação térmica.

Figura 42- Curvas de TGA das mantas eletrofiadas



Fonte: Próprio Autor (2025)

Figura 43- Curvas DTG das mantas eletrofiadas



Fonte: Próprio Autor (2025)

Conforme o termograma ilustrado na Figura 42 das mantas eletrofiadas pode-se verificar que a perda de massa do PCL puro começou a ocorrer por volta de 350 °C e se estendeu a 450 °C. Em relação ao PVP puro, o intervalo de perda de massa compreendeu entre 26 a 80 °C referente a perda de umidade e após 380 a 480 °C. Já as blendas formadas por 50% PCL e 50% PVP, 75% PCL e 25% PVP, e 25% PCL e 75% PVP a temperatura de degradação apresentou-se próxima aos valores mencionados para os polímeros de forma individualizada.

As blendas preparadas com a adição de extrato de própolis vermelho apresentaram três eventos térmicos distintos, observados durante a análise térmica. O primeiro evento ocorreu entre aproximadamente 32 °C e 80 °C, atribuído à perda de umidade. O segundo evento foi registrado entre 270 °C e 380 °C, e o terceiro evento se manifestou entre 390 °C e 480 °C. Em comparação com a blenda pura, composta por 75% de PVP e 25% de PCL, os resultados indicaram um comportamento térmico semelhante, com apenas uma leve variação. Isso sugere que a adição do extrato de própolis vermelho à blenda não exerce uma influência significativa sobre seu desempenho térmico, evidenciando que a inserção do extrato não altera substancialmente as propriedades térmicas da composição. Já para as blendas formadas com adição de própolis marrom, pode-se verificar que continuam apresentando a perda de umidade variando entre 26 a 80 °C, posteriormente há perda de massa em 260 a 380 °C e 400 a 480 °C. Com exceção das blendas compostas por 25 e 50% de própolis marrom, que há uma certa variação no segundo estágio de 180 a 270 °C e no terceiro estágio variando de 300 a 380 °C. Isso pode ser justificado, pela alta concentração de própolis marrom na estrutura do material resultando numa maior degradação dos compostos voláteis contidos na própolis marrom. E por fim, o último estágio, assemelhando com a característica da blenda composta por 75% PVP e 25% PCL, variando de 400 a 480 °C.

Na Figura 43, para o PCL puro é ilustrado o pico de 410 °C e para o PVP puro o pico de 430 °C. Os valores obtidos estão em consonância com os dados presentes na literatura, uma vez que a decomposição da cadeia principal do PCL ocorre entre 300 a 410 °C [125] e a temperatura de degradação do pico de PVP ocorre por volta de 400 a 450 °C [126].

Em relação as blendas contendo 50% PCL e 50% PVP, 75% PCL e 25% PVP, e 25% PCL e 75% PVP, é observado que surge dois picos e as intensidades variam de acordo com a concentração de PVP. Em relação as blendas contendo as variações

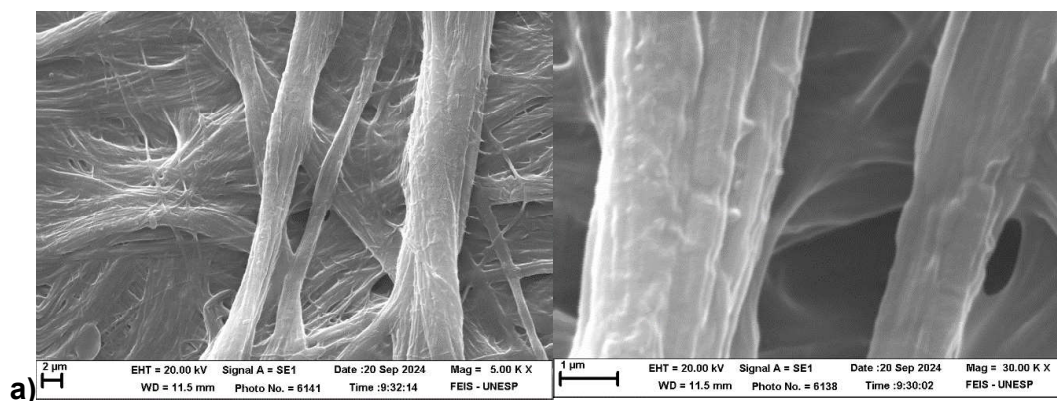
de própolis vermelha e marrom, também apresentaram os picos característicos do PCL e PVP, caracterizando-se a blenda em materiais imiscíveis, uma vez que mantem as características térmicas dos polímeros individuais.

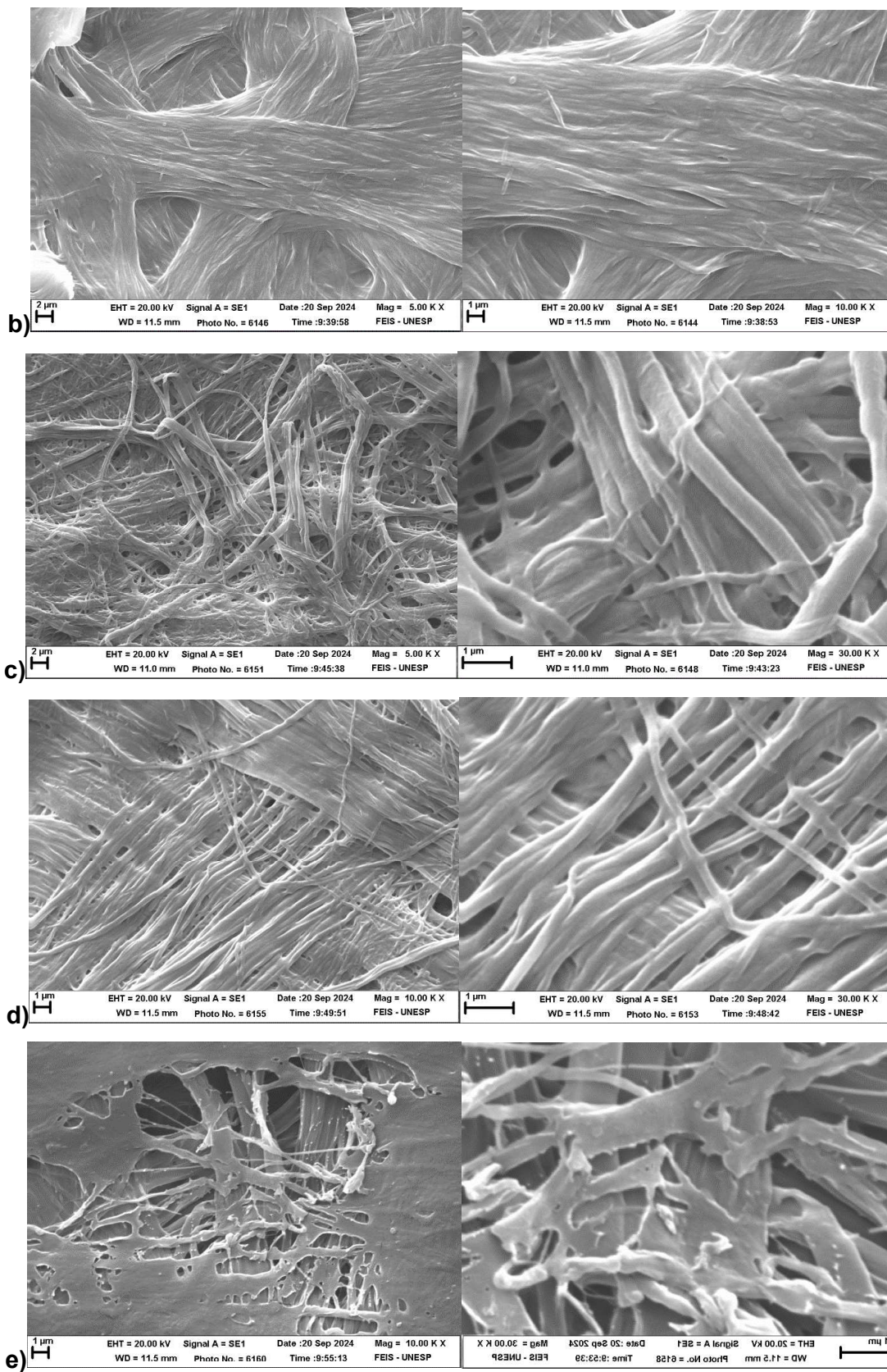
5.2.5 Teste de liberação

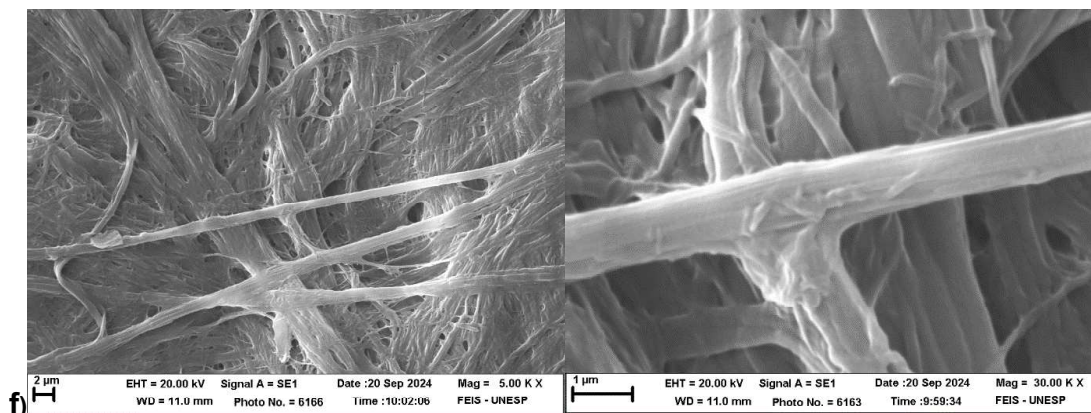
Os ensaios de liberação foram conduzidos para avaliar a liberação de extratos de própolis vermelha e marrom em meio aquoso, incorporados na blenda composta por 75% de PVP e 25% de PCL. As micrografias das mantas eletrofiadas, obtidas após períodos de incubação de 0,5 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h e 168 h, estão ilustradas na Figura 44 e 45.

A Figura 46 exibe o gráfico da perda de massa ao longo do mesmo intervalo de tempo. Na Figura 47, ilustra as imagens após a finalização da incubação das amostras, já a Figura 48 apresenta o gráfico de absorbância do meio aquoso residual após a incubação, como medida indireta da liberação dos extratos pelas mantas. Esses resultados fornecem informações relevantes sobre o perfil de liberação dos compostos bioativos incorporados na matriz polimérica.

Figura 44 - Teste de liberação da blenda contendo própolis vermelha (a) em 30 minutos, (b) em 24 horas, (c) 48 horas, (d) 72 horas, (e) 96 horas, (f) 168 horas

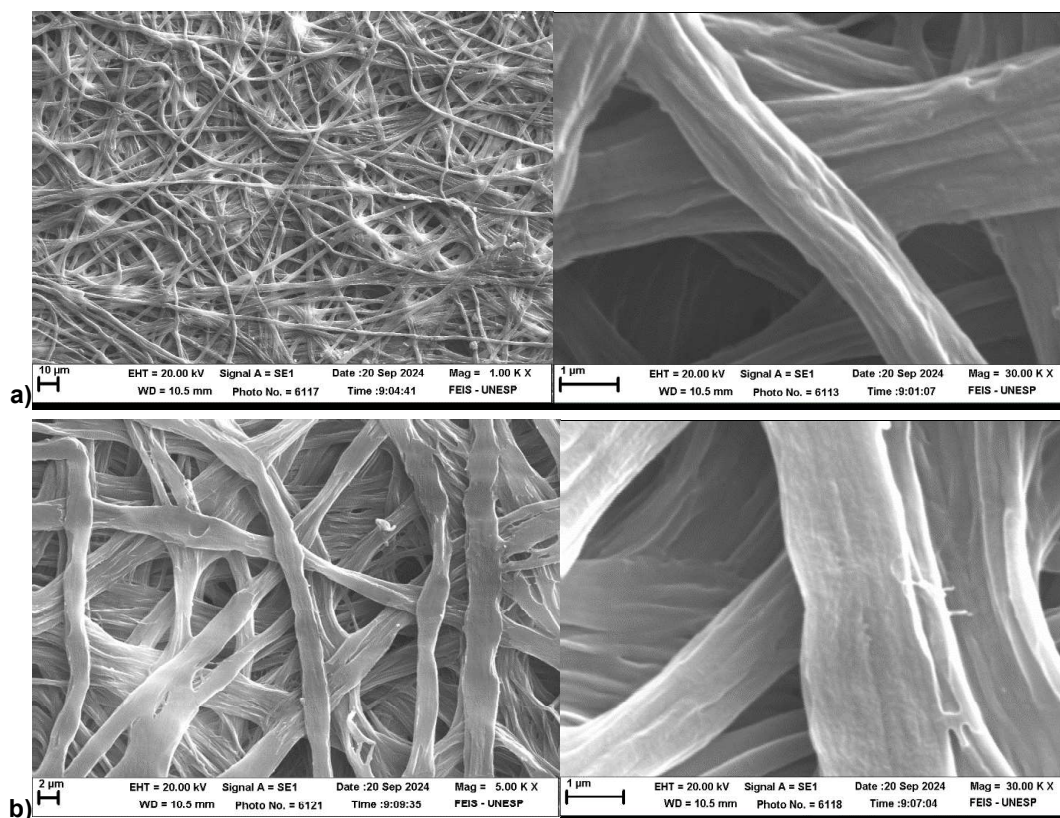


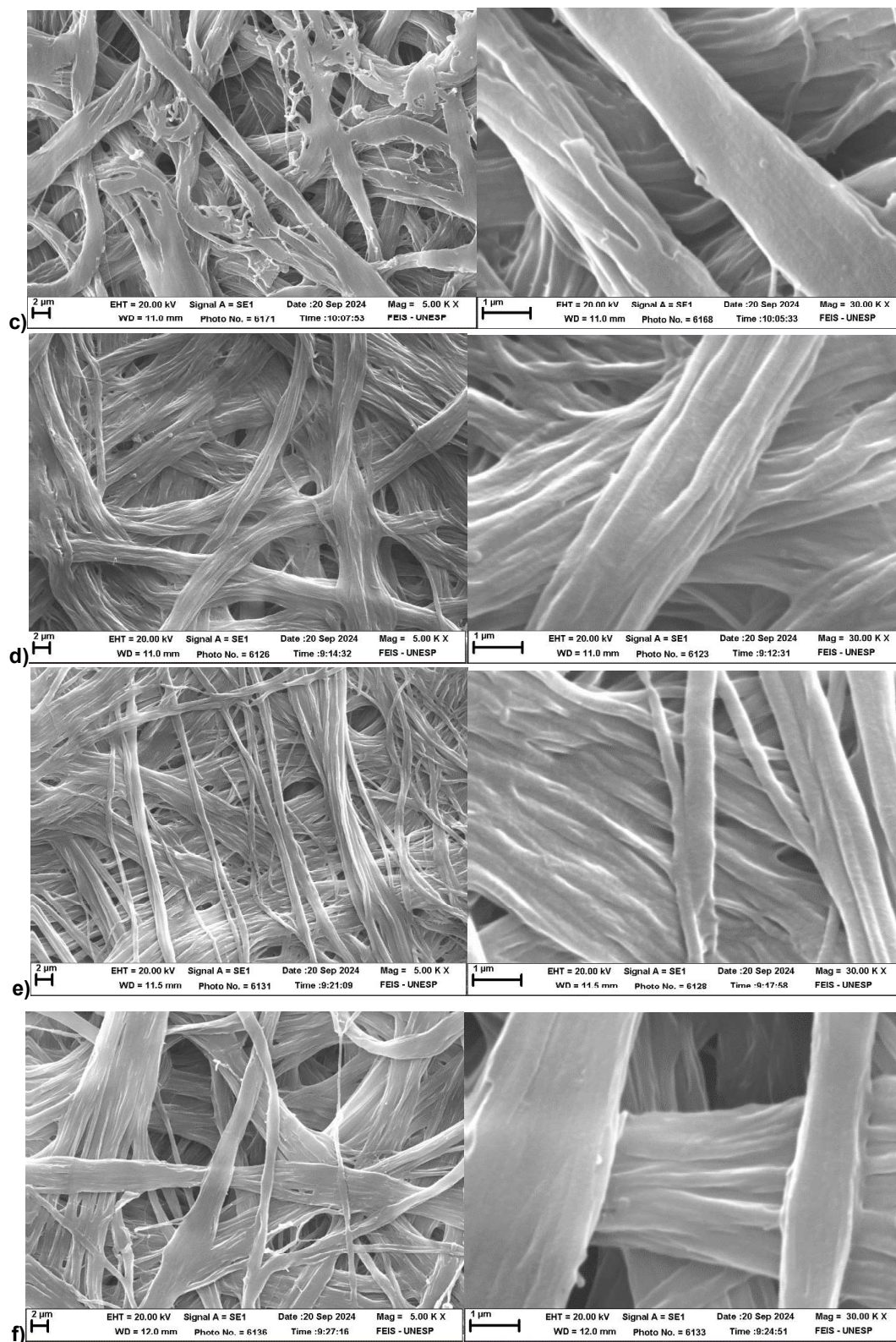




Fonte: Próprio Autor (2024)

Figura 45 - Teste de liberação da blenda contendo própolis marrom, (a) em 30 minutos, (b) 24 horas, (c) 48 horas, (d) 72 horas, (e) 96 horas, (f) 168 horas



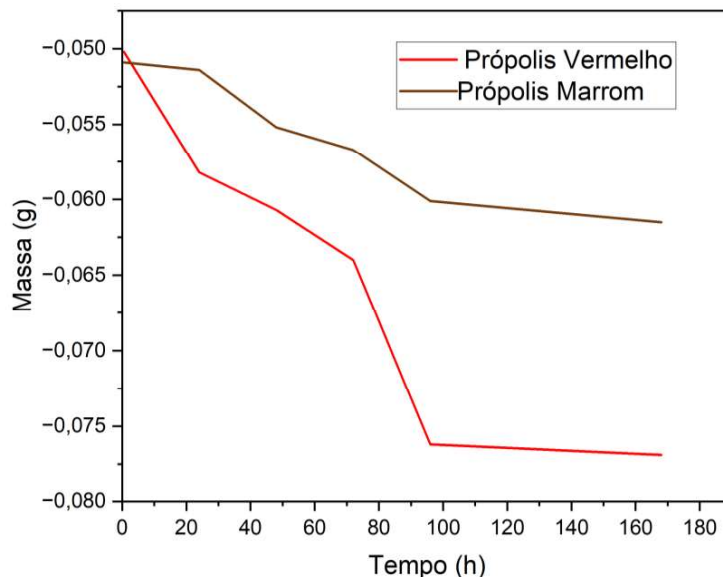


Fonte: Próprio Autor (2024)

As imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das mantas eletrofiadas contendo 75% de PVP/25% de PCL, incorporando própolis vermelha e marrom, estão apresentadas nas Figuras 44 e 45. Nas micrografias dessas figuras, as condições de análise foram realizadas nos seguintes períodos: a) 0,5 horas, b) 24 horas e c) 72 horas. A partir das observações, constatou-se que as mantas apresentam características de rugosidade e formação de interconexões entre as fibras, resultando na criação de poros. De acordo com o estudo de KIM, et al. [37], após 24 horas de repouso, foram formados diversos poros ultrafinos na superfície das fibras, o que levou à dissolução do PVP devido ao contato com o meio de incubação. No mesmo estudo, foi mostrado que a manta eletrofiada composta apenas por PCL não sofreu alterações importantes ao ser submetida à solução. Esse resultado pode ser devido à alta cristalinidade do PCL e a hidrofobicidade relativas [37].

Nas micrografias das amostras apresentadas nas Figuras 44 e 45 (itens c, d, e, f), observa-se a presença de diversas interconexões entre as fibras, com diâmetros superiores aos inicialmente observados. Com o aumento do tempo de incubação, observa-se uma diminuição no número de fibras presentes. Esse efeito pode indicar que o diâmetro das fibras exerceu influência importante na degradação das mesmas. E pode ser explicado pelas diferenças na razão superfície/volume das fibras, ou seja, as fibras mais finas realçam uma razão superfície/volume maior, quando comparadas as mais espessas o que resulta em um contato maior com o meio, favorecendo umas taxas de degradação mais elevadas.

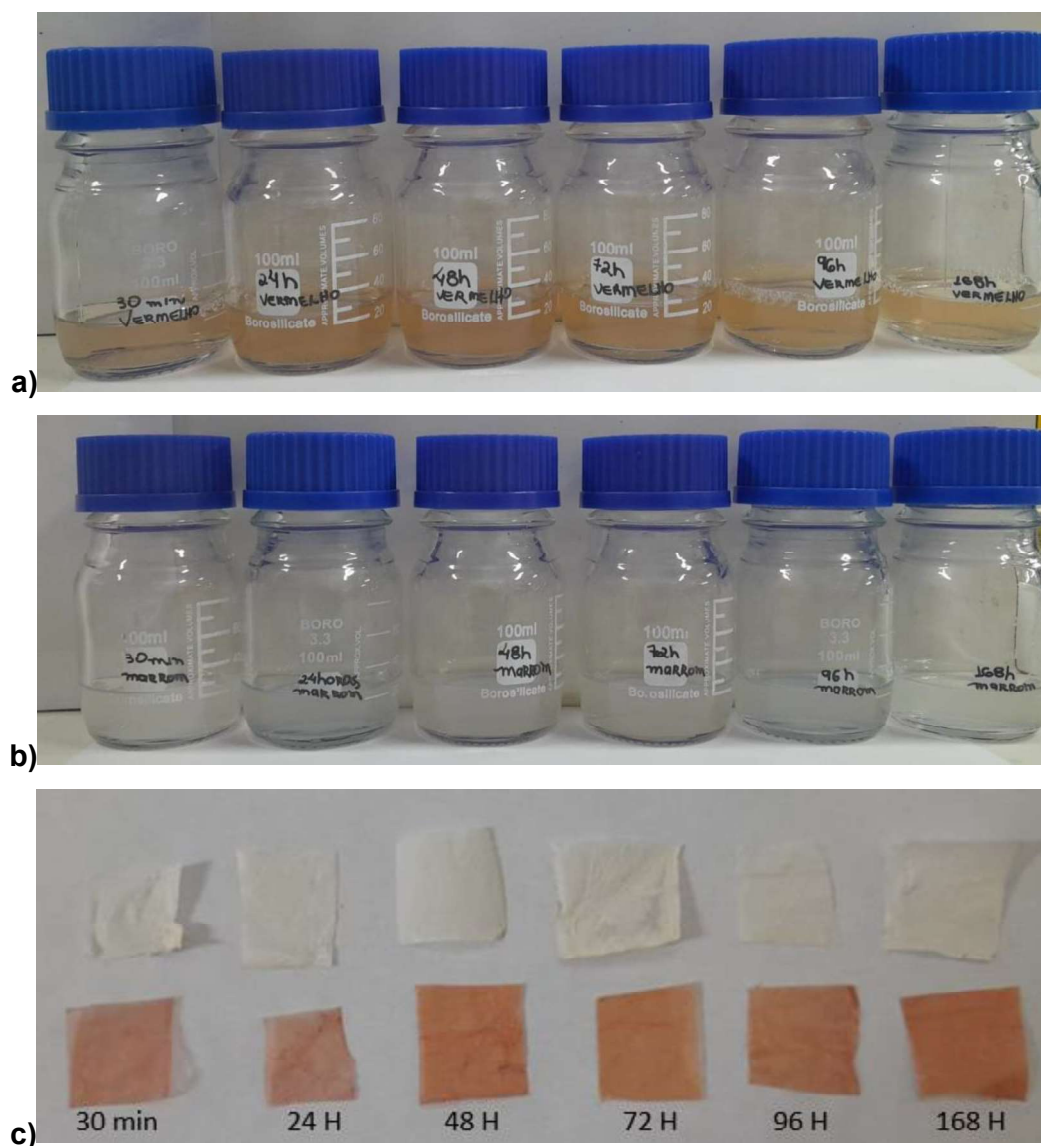
Figura 46 - Gráfico da razão massa final-massa inicial no período de 0,5 a 168h referente ao processo de liberação de própolis vermelho e marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

A Figura 46 exibe o gráfico da perda de massa das blendas no intervalo de tempos de 0,5 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h e 168 h. Para a blenda contendo própolis vermelha, pode ser observado, entre 0,5 h e 96 h, que ocorre a perda, praticamente total, da massa do PVP, conforme estudo de KIM, et al [37], restando apenas em pequenos traços de própolis. Após 96 h, pode ser observado que a curva fica estável de forma quase constante, com uma leve inclinação, o que pode indicar uma liberação residual mínima. O comportamento observado pode ser explicado considerando que o material restante na manta seja composto predominantemente por PCL e com pequenos resquícios de própolis vermelha. As fotos obtidas durante o processo de liberação podem ser vistas na Figura 47.

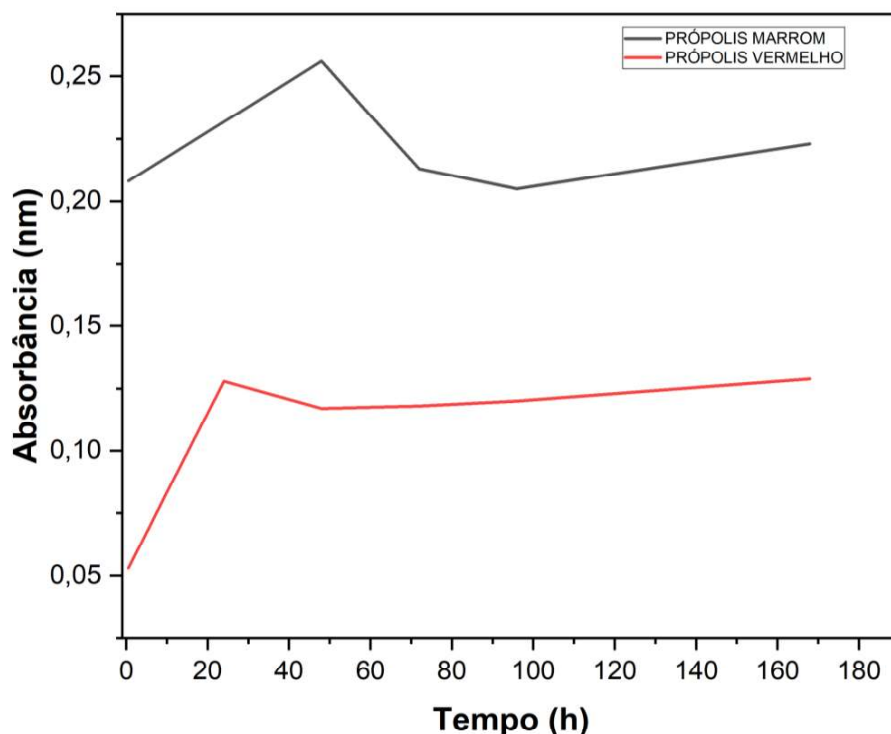
Figura 47 - Produto e subproduto do teste de liberação das mantas poliméricas contendo extrato de própolis vermelho e marrom



Fonte: Próprio Autor (2024)

A Figura 48 ilustra uma maior liberação no intervalo de 0,5 h às 96 h para a blenda contendo própolis marrom. No intervalo de tempo é observado a perda maior de massa, no entanto o processo de liberação continua além desse ponto, exibindo uma inclinação ligeiramente maior do que a observada para a própolis vermelha. Isso indica que a blenda contendo própolis marrom contém um período de liberação mais prolongado em comparação à blenda com própolis vermelha.

Figura 48 - Gráfico do estudo de liberação do líquido sobressalente contendo própolis vermelho, absorbância x tempo



Fonte: Próprio Autor (2024)

As análises de absorbância no líquido sobrenadante foram realizadas a 510 nm, conforme descrito por De Lima, [125]. A Figura 48 evidencia os perfis de liberação para própolis vermelha e marrom. Para a própolis vermelha o pico máximo de liberação ocorre em aproximadamente 24 horas, no entanto para a própolis marrom o pico ocorre em 48 horas. O gráfico 48 pode indicar que a liberação da própolis vermelha em maior quantidade foi em 24 horas, seguida por declínio e posteriormente uma continua liberação de 50 h a 168h. Para a própolis marrom houve redução na liberação após um pico máximo (48 horas), com retorno do processo de liberação após 96 horas, como pode ser observado pela mudança na inclinação da curva. Os mesmos resultados também foram observados por KIM, et al. [37], que demonstrou que os sistemas de liberação baseados em PCL/PVP apresentam uma liberação inicial rápida (explosão), seguida por uma liberação prolongada.

O estudo de KIM, et al. [37] também destaca que o aumento do conteúdo de PVP no sistema resulta em maior liberação inicial. Por exemplo, após 1 hora de incubação, a liberação inicial para misturas PCL/PVP nas proporções 90/10, 80/20 e 50/50 foi de 67%, 75% e 97%, respectivamente. A liberação prolongada lenta foi

monitorada até 24 horas, quando as frações de PVP remanescentes eram de aproximadamente 25%, 10% e 0%, respectivamente. O estudo ainda ressalta que, na mistura PCL/PVP 50/50, o PVP foi quase completamente lixiviado em um dia.

Os dados experimentais indicam que os padrões de liberação observados para a própolis podem ser parcialmente explicados pelo comportamento descrito para sistemas de liberação PCL/PVP, evidenciando semelhanças no fenômeno de liberação, seguido por uma liberação sustentada.

6 CONCLUSÃO

As mantas poliméricas eletrofiadas, incorporadas com o extrato de própolis vermelha e marrom, foram produzidas com êxito. A manta que apresentou a otimização dos extratos foi a que apresentou 15% de concentração de extrato de própolis vermelha e 25% de extrato de própolis marrom.

Durante a caracterização dos extratos, observou-se que o extrato da própolis vermelha apresentou altas concentrações de fenóis totais, flavonoides, o que potencializou sua capacidade antioxidante. Já o extrato de própolis marrom também apresentou resultados elevados, embora inferiores aos obtidos com a própolis vermelha. Isso se deve devido a composição química da própolis vermelha ser rica de fenóis totais e flavonoides, provenientes de uma única fonte botânica e a própolis marrom, de fontes botânicas variadas.

Em termos de atividade antibacteriana, os extratos de própolis vermelha e marrom demonstraram propriedades bacteriostáticas. Contudo o extrato de própolis marrom apresentou melhor resultado para as cepas gram-negativas quando comparado a própolis vermelha que apresentou eficácia para uma gram-positiva *S. aureus*. Para a cepa *K. pneumoniae* ambos apresentaram eficiência, porém em baixa escala.

Quanto à liberação dos bioativos, as mantas apresentaram comportamentos distintos, o que as tornam adequadas para diferentes aplicações. As mantas contendo extrato de própolis vermelha são indicadas para tratamentos que exigem liberação rápida de fármacos, enquanto as mantas contendo extrato de própolis marrom são mais adequadas quando se espera uma liberação mais prolongada, permitindo um controle mais eficiente do processo.

Na estruturação, foi perceptível a importância da formação da blenda de PVP/PCL, pois de um lado, o PVP favoreceu a liberação dos extratos, embora tenha conferido fragilidade aos curativos. Por outro lado, o PCL contribuiu para melhorar a ductilidade da estrutura do curativo.

Portanto, essas características foram determinantes para o desenvolvimento de curativos contendo extratos de própolis vermelha e marrom, que podem ser utilizados de forma específica em tratamentos que demandem diferentes perfis de liberação dos compostos bioativos.

Para etapas futuras sugere-se o avanço deste estudo em testes clínicos em humanos, estudos biológicos de outros microrganismos e resultados de porosidade das microfibras.

REFERÊNCIAS

1. KARISMEH, M. S.; et al. **An in vitro and in vivo study of PCL/chitosan electrospun mat on polyurethane/propolis foam as a bilayer wound dressing.** *Biomaterials Advances*, v. 135, 112667, 2022.
2. DU, P.; et al. **In vivo and in vitro studies of a propolis-enriched silk fibroin-gelatin composite nanofiber wound dressing.** *Heliyon*, v. 9, n. 3, 13506, 2023.
3. CHENG, F.; et al. **Composite chitosan/poly(ethylene oxide) electrospun nanofibers mats as novel wound dressing matrixes for the controlled release of drugs.** *Journal of Applied Polymer Science*, v. 132, n. 24, 2015.
4. KASUYA, A.; TOKURA, Y. **Attempts to accelerate wound healing.** *Journal of Dermatological Science*, v. 76, n. 3, p.169–172, 2014.
5. ARASH, A.; et al. **Polysaccharide base electrospun nanofibrous scaffolds for cartilage tissue engineering: Challenges and opportunities.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 277, 134054, 2024.
6. OLIVEIRA, S. R. P.; et al. **Controlled drug release from polycaprolactone-piperine electrospun scaffold for bone tissue engineering.** *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 91, 105188, 2024.
7. NAJAFIAN, S.; et al. **Biomimetic electroactive nanofibrous hydrogel scaffolds based on polythiophene-grafted tragacanth gum and poly(vinyl alcohol) for skin tissue engineering application.** *Materials Today Communications*, v. 37, 107532, 2023.
8. CHEN, S.; et al. **Recent advances in electrospun nanofibers for wound healing.** *Nanomedicine*, v. 12, n. 11, p. 1335–1352, 2017.
9. ZHOU, Y.; et al. **Photocrosslinked maleited chitosan/methacrylated poly (vinyl alcohol) bicomponent nanofibrous scaffolds for use a potential wound dressings.** *Carbohydrate Polymers*, v. 168, p. 220-226, 2017.
10. ANDRIOLO, J. M.; et al. **Electrospun Fibers for Controlled Release of Nanoparticle Assisted Phage Therapy Treatment of Topical Wounds.** *MRS Advances*, v. 3, n. 50, p. 3019 – 3025, 2018.
11. NEGADAHRI, N.; et al. **Heat-treated alginate-polycaprolactone core-shell nanofibers by emulsion electrospinning process for biomedical applications.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 275, 133709, 2024.
12. BUI, H.T.; et al. **Fabrication and characterization of electrospun curcumin-loaded polycaprolactone-polyethylene glycol nanofibers for enhanced wound healing.** *Macromol. Res*, v. 22, n.12, p.1288–1296, 2014.
13. DOUSTDAR, F.; GHORBANI, M. **ZIF-8 enriched electrospun ethyl cellulose/polyvinylpyrrolidone scaffolds: The key role of polyvinylpyrrolidone molecular weight.** *Carbohydrate Polymers*, v. 291, 119620, 2022.
14. OTA, C.; et al. **Antifungal activity of propolis on different species of Candida.** *Mycoses*, v. 44, p. 375–378, 2001.
15. SALEHI, A.; et al. **Almond gum-sodium caseinate complexes for loading propolis extract: Characterization, antibacterial activity, release, and in-vitro cytotoxicity.** *Food Chemistry*, v. 405, 134801, 2023.
16. ZABAIYOU, N.; et al. **Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product.** *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 207, p. 214-222, 2017.

17. CAO, X. P.; et al. **Mechanisms underlying the wound healing potential of propolis based on its in vitro antioxidant activity.** *Phytomedicine*, v. 34, p. 76–84, 2017.
18. OLIVEIRA, R. D.; et al. **Portuguese Propolis Antitumoral Activity in Melanoma Involves ROS Production and Induction of Apoptosis.** *Molecules*, v. 27, 3533, 2022.
19. PEREIRA, A. dos S.; et al. **Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras.** *Química Nova*, v. 25, n.2, p. 321-326, 2002.
20. MACHADO, C. S.; et al. **Comparative Study of Chemical Composition and Biological Activity of Yellow, Green, Brown, and Red Brazilian Propolis.** *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2016, n. 12, 2016.
21. BANZATO, T. P.; et al. **Antiproliferative Flavanoid Dimers Isolated from Brazilian Red Propolis.** *Journal of Natural Products*, v. 7, 2020.
22. PARK, J.; LAKES, R. **Biomaterials: an Introduction.** 3. ed. New York: Springer Science & Business Media, 2010.
23. DE CASTRO BRAS, L. E.; et al. **Effect of crosslinking on the performance of a collagenGQÉderived biomaterial as an implant for soft tissue repair: A rodent model.** *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 95, p. 239-249, 2010.
24. PIRES, A. L. R.; et al. **Biomateriais: tipos, aplicações e mercado.** *Quim. Nova*, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.
25. NERLICH, A. G.; et al. **Ancient Egyptian prosthesis of the big toe.** *The Lancet*, v. 356, p. 2176-2179, 2000.
26. RATNER, B. D.; et al. **Biomaterials Science – An Introduction to Materials in Medicine.** Cap. Biomaterials Science: An Interdisciplinary Endeavor. Academic Press, 1996. Disponível em: <<https://biomateriali.wordpress.com/wp-content/uploads/2011/10/biopolimeri-dispense.pdf>>. Acesso em: 13. Set. 2024.
27. BERNARDO, M. P.; et al. **Processamento e aplicação de biomateriais poliméricos: avanços recentes e perspectivas.** *Quim. Nova*, v.44, n.10, p.1311-1327, 2021.
28. BRAGUIN, L. N. M. **Caracterização química, eletroquímica e de citotoxicidade do aço inoxidável AISI 316L para uso como biomaterial.** 2021. p. 27. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo, 2021.
29. RIBEIRO, R. **Planejamento e construção de mecanismo para ensaio de desgaste superficial e análise de falhas em tribossistema protético articular de quadril.** 2018. Tese (Doutorado), Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2018.
30. SMITH, W. F.; HASHEMI, J. **Fundamentos de Engenharia e Ciência dos Materiais.** 5ª ed. Porto Alegre: McGrawHill, 2012.
31. CALLISTER, J. W. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução.** 5. ed. São Paulo: LTC, 2002.
32. WU, HAIDONG.; et al. **Design and 3D printing of ceramic maxillofacial prosthesis with gradient pores based on Voronoi-Tessellation principle.** *Materials Today Communications*, v. 33, 104559, 2022.
33. SILVA, V. C. **Desenvolvimento de membrana polimérica impregnada com nanopartículas de PLA (Ácido Lático) carregadas com própolis vermelha: produção e caracterização.** 2019. p. 89.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Programa De Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal De Alagoas, Maceió, 2019.

34. CANEVAROLO, S. V. J. **Ciência dos polímeros**. São Paulo: Artliber, 2002.

35. CASTILHO, R. **Polímeros**. 2017. Disponível em: <<https://www.todamateria.com.br/polimeros/>>. Acesso em: 22 out. 2024.

36. CHAKRABORTY, M.; DEVI, A. **Landscape of scaffolds from advanced synthesis to tissue engineering**. Materials Today Chemistry, v. 40, 102258, 2024.

37. KIM, G-M.; et al. **Electrospinning of PCL/PVP blends for tissue engineering scaffolds**. J Mater Sci: Mater Med, v.24, p. 1425–1442, 2013.

38. LI, Z.; TAN, B. H. **Towards the development of polycaprolactone based amphiphilic block copolymers: molecular design, self-assembly and biomedical applications**. Materials Science and Engineering C, v. 45, p. 620 – 634, 2014.

39. PERSENAIRE, O.; DEGE, P. **Mechanisms and Kinetics of Thermal Degradation of Poly (ϵ -caprolactone)**. Biomacromolecules, v. 2, p. 288–294, 2001.

40. LAM, C. X. F. et al; **Evaluation of the manipulation of the polycaprolactone scaffold for 6 months in vitro and in vivo**. Journal of Biomedical Materials Research. Part A, v. 90,p. 906-919, 2009.

41. WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W.; **The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century**. Progress in Polymer Science, v. 35, p.1217-1256, 2010.

42. SILVA, E. C. S. V. **Síntese, caracterização e estudo das propriedades biocompatíveis do poli (ϵ -caprolactona) com topologia estrela**. 2009. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia. Universidade Federal De Itajubá, Itajubá, 2009.

43. FISCHER, F; BAUER, S. **Polyvinylpyrrolidon. Ein Tausendsassa in der Chemie**. Chem Unserer Zeit, v.43, n.6, p. 376-383, 2009.

44. JUNIOR, Z. J. O. **Desenvolvimento de gel adesivo/condutoivo para dispositivos biomédicos**. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial), Universidade Estadual Da Paraíba, Campina Grande, 2019.

45. XIONG, Y.; et al. **Poly (vinyl pyrrolidone): A dual functional reductant and stabilizer for the facile synthesis of noble metal nanoplates in aqueous solutions**. Langmuir. v.22, n.20, p. 8563-8570, 2006.

46. MANO, E. B.; MENDES, L. C. **Introdução a polímeros**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blüncher, 2001.

47. SILVA, D. F. **Desenvolvimento de Blendas de Poliamida 6/Composto de Borracha Reciclada**. 2011. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.

48. HAGE JR. E.; PESSAN, L. A. **Aperfeiçoamento em tecnologia de plásticos. Módulo 7: blendas poliméricas**. São Carlos: ABPol, 2001.

49. SOHRABI, M. et al. **Evaluation of electrospun nanofibers fabricated using PCL/ PVP and PVA/ β -TCP as potential scaffolds for bone tissue engineering**. Polymer Bulletin, v.79, p. 8397–8413, 2022.

50. PEREIRA, A. S.; et al. **Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras**. Química Nova. v.25, p.321-326, 2002.

51. SAKHAWY, M. E. L.; et al. **Applications of propolis-based materials in wound healing**. Archives of Dermatological Reseach, v.316, n.61, 2024.

52. PANDOLFO, V. Z. **Caracterização e efeito da variação sazonal da própolis orgânica produzida no sul do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –Escola Superior de Agricultura “Luiz de Querioz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2014.
53. BONAMIGO, T. et al. **Antioxidant and citotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Imenoptera, Apidae) from the Brazilian Cerrado biome**. PloS one, v. 12, n. 9, 2017.
54. KUMAZAWA, S. et al. **Chemical and functional characterisation of propolis collected from East Andalusia (Southern Spain)**. Phytochemical analysis, v. 24, n. 6, p. 608-615, 2013.
55. SALGUEIRO, F. B. **Caracterização da própolis verde brasileira: substâncias fenólicas, atividade biológica e análise quimiométrica**. 2016. Tese (doutorado), Programa De Pós-Graduação Em Química, Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro, Seropédica, 2016.
56. PARK, Y. K.; et al. **Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físicoquímicas e propriedades biológicas**. Mensagem Doce, v. 58, n. 1, p. 2-7, 2000.
57. TORETI, V. C.; et al. **Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v.2013, p.1-13, 2013.
58. SOUZA, J. P. L. M. **Estudo da composição química, do potencial antioxidante e da atividade antimicrobiana da própolis marrom brasileira e a aplicação de extratos de própolis em filmes de carboximetilcelulose sódica**. 2019. Tese (Doutorado em Química), Programa De Pós-Graduação Em Química, Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro, Seropédica, 2019.
59. RODRIGUES, L. S. **Mantas de poli(ε-caprolactona) contendo cera e extrato da própolis vermelha de Alagoas para aplicações na área da saúde**. 2023. Tese (Doutorado em Ciências), Programa De Pós-Graduação Em Materiais, Universidade Federal De Alagoas, Maceió, 2023.
60. DAUGSCH, A.; et al. **Brazilian red propolis: Chemical composition and botanical origin**. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 5, n. 4, p. 435–441, 2008.
61. BASÍLIO, J. A. D. **Desenvolvimento e avaliação in vitro da atividade cicatrizante de membranas poliméricas incorporadas com própolis vermelha**. 2018. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação Renorbio, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.
62. SALATINO, A.; et al. **Origin and chemical variation of Brazilian propolis**. Evidence-Based Complementary Alternative Medicine, v.2, n.1, p.33–38, 2005.
63. FISCHER, T. E. **Otimização da extração de compostos fenólicos de brácteas estéreis de *Araucaria angustifolia* baseado nas propriedades químicas e bioatividade**. 2022. Dissertação (Mestrado), Programa de pós-graduação Stricto Sensu em ciência e tecnologia de alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2022.
64. FRANCO, D. M. **Atividade alelopática de *Copaifera Langsdorffii* desf.: abordagem fitoquímica e molecular**. 2013. Dissertação (Mestrado), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2013.
65. SANTOS, M. DE O.; et al. ***Copaifera langsdorffii* Desf.: A chemical and pharmacological review**. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 39, 102262, 2022.
66. ARMSTRONG, L. et. al. ***Baccharis dracunculifolia* DC. A Review of Research Advances From 2004 to 2024, With New Micromorphology and Essential Oil Investigations**. Journal of Herbal Medicine, v. 48, 100952, 2024.
67. DEMBOGURSKI, D. S. O.; et al. **Brown propolis metabolomic innovative approach to determine compounds capable of killing *Staphylococcus aureus* biofilm and *Trichomonas vaginalis***. Food Research International, v.111, p.661-673, 2018.

68. BOGDANOV, S. **Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review**. Bee Product Science, 2017.
69. PETER, C. M.; et al. **Antiviral and virucidal activity of hydroalcoholic extracts of propolis brown, green and jataí bees (*Tetragonisca angustula*) against Bovine Herpesvirus Type-1 (BoHV-1) and Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.37, n.7, p.667-675, 2017.
70. MAGALHÃES, T. V.; et al. **Análise da ação antibacteriana da própolis e padronização de volumes através de antibiograma**. Unimar Ciências-ISSN, v. 25, n.1-2, p. 38-44, 2016.
71. CAMPOS, J. V. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Análise Morfológica por Microscopia de Força Atômica (AFM) da ação de extratos de própolis verde sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli***. 2017. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal De São Carlos, São Carlos, 2017.
72. SHALAK, R.; FOX, C. **Tissue engineering proceedings: Workshop held at Granlibakken**. Lake Tahoe, California, February. p. 26-29, 1988.
73. DE MELO, M. T. **Preparo, caracterização e aplicação em engenharia de tecidos de suportes de alginato/quitosana, associados a processos fotodinâmicos para fotobioestimulação**. 2019. Tese (Doutorado em Química), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.
74. LEOR, J.; COHEN, S. **Myocardial tissue engineering: creating a muscle patch for a wounded heart**. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 1015, p. 312-319, 2004.
75. BIDARRA, S. J.; BARRIAS, C. C.; GRANJA, P. L. **Injectable alginate hydrogels for cell delivery in tissue engineering**. Acta Biomaterialia, v. 10, p. 1646-1662, 2014.
76. SOBRAL, J. M.; et al. **Three-dimensional plotted scaffolds with controlled pore size gradients: Effect of scaffold geometry on mechanical performance and cell seeding efficiency**. Acta Biomaterialia, v. 7, p. 1009-1018, 2011.
77. MIKOS, A. G.; et al. **Espumas biodegradáveis tridimensionais laminadas para uso em engenharia de tecidos**. Biomaterials, v.14, n.5, p.323-330, 1993.
78. ZHENG, K.; et al. **Recent progress of 3D printed vascularized tissues and organs**. Smart Materials in Medicine, v.5, n.2, p.183-195, 2024.
79. MENEZES, F. C. **Eletrofição de nanofibras poliméricas para uso em engenharia tecidual**. 2017. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
80. VENTURELLI, R. B.; GRIPA, S. **Eletrofição: Uma alternativa para a produção de não tecidos**. Revista da UNIFEBE, v. 1, n. 22, p.150-165, 2017.
81. NAJAFIAN, S. et al. **Biomimetic electroactive nanofibrous hydrogel scaffolds based on polythiophene-grafted tragacanth gum and poly(vinyl alcohol) for skin tissue engineering application**. Materials Today Communications, v.37, 107532, 2023.
82. MERCANTE, L.; ANDRE, R.; MACEDO, J.; PAVINATTO, A.; Correa, D. **Nanofibras eletrofiadas e suas aplicações: avanços na última década**. Quim. Nova, v. 44, n. 6, p. 717-736, 2021.
83. GOH, Y.; SHAKIR, I.; HUSSAIN, R. **Electrospun fibers for tissue engineering, drug delivery, and wound dressing**. J Mater Sci, v.48, n.8, p.3027-3054, 2013.
84. HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I-K. **A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology**. Arabian Journal of Chemistry, v.11, n.8, p. 1165-1188, 2018.

85. GHORANI, B.; TUCKER, N. **Food Hydrocolloids Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology**. Food Hydrocoll, v. 51, p. 227-240, 2015.
86. INGAVLE, G. C.; LEACH, J. K. **Advancements in Electrospinning of Polymeric Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering**. Tissue Eng. Part B, v.20, n.4, p. 277-293, 2014.
87. HUANG, Z.M.; ZHANG, Y.Z.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. **A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites**. Compos. Sci. Technol, v. 63, n.15, p. 2223-2253, 2003.
88. DE VRIEZE, S.; et al. **The effect of temperature and humidity on electrospinning**. Journal of materials science, v. 44, n. 5, p. 1357–1362, 2009.
89. LI, Z.; WANG, C. **Effects of Working Parameters on Electrospinning**. In: One Dimensional Nanostructures, p. 15-29, 2013.
90. SEERAM, R.; FUJIHARA, K.; TEO, W-E.; LIM, T-C.; MA, Z. **An Introduction to Electrospinning and Nanofibers**. Singapore: World Scientific Publishing Company. 2005.
91. WOISKY, R. G.; SALATINO, A. **Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control**. Journal of Apicultural Research, v. 37, n. 2, p. 99–105, 1998.
92. BARRETO, A. L. H.; et al. **Controle de qualidade da própolis**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2020.
93. DUARTE, I. F. B. **Estudo dos constituintes voláteis e atividades antioxidante e microbiológica dos extratos de própolis vermelha de Alagoas**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Alagoas, 2020.
94. SUCUPIRA, N. R. et al. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos**. UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde, v. 14, n. 4, p.263-269, 2012.
95. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a bactérias aeróbias**: Norma aprovada. Brasília, DF, 2012. p. 1-19. (CLSI) Documento M07A10. v. 28, n. 15.
96. NCCLS/CLSI.; **Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada – Sexta Edição**.
97. SOUZA, S. O. L. **Desenvolvimento e Caracterização de Nanofibras Obtidas pela Técnica de Eletrofiação Coaxial Visando a Liberação de Bevacizumabe para o Tratamento de Degeneração Macular Relacionada a Idade**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal De Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas. Belo Horizonte, 2016.
98. American Society for Testing Materials. **ASTM D882-10**. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, 2012.
99. TRUSHEVA, B.; et al. **Bioactive constituents of Brazilian red propolis**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v.3, n.2, p.249-254, 2006.
100. SOUZA, C. M. DE M. ; et al. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais**. Quim. Nova, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
101. MINITAB. B. G. **Análise de regressão: Como interpretar o R-quadrado e avaliar a qualidade de ajuste?**, 2019. Disponível em: < <https://blog.minitab.com/pt/analise-de-regressao-como-interpretar-o-r-quadrado-e-avaliar-a-qualidade-de-ajuste>> Acesso em: 09 Fev. 2025.

102. ANDRADE, J. K. S.; et al. **Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region.** Food Research International, v. 101, p. 129–138, 2017.
103. ALENCAR, S. M.; et al. **Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis.** Journal of Ethnopharmacology, v.113, p. 278–283, 2007.
104. ANDRADE, J. K. S.; et al. **Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis.** Food Research International, v. 109, p. 278-287, 2018.
105. ANDRADE, J. K. S. **Extração e microencapsulação de compostos bioativos presentes nas diferentes variedades das própolis brasileiras.** Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2017.
106. POPOVA, M.; et al. **Validated Methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis.** Phytochemical Analysis. V.15, p.235-240, 2004.
107. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, **Instrução Normativa nº3, de 19 de Janeiro de 2001.** ANEXO VI – Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Própolis, DOU de 23/01/01, Seção I, p. 18-23.
108. DE MELO, A. A. M. ; et al. **Capacidade antioxidante da própolis.** Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 44, n. 3, p. 341-348, 2014.
109. RIBEIRO, V. P.; et al. **Brazilian Brown Propolis: an Overview About Its Chemical Composition, Botanical Sources, Quality Control, and Pharmacological Properties.** Revista Brasileira de Farmacognosia. v.33, p. 288–299, 2023.
110. MORAES, G. V.; et al. **Antioxidant potential of flavonoids and therapeutic applications.** Research, Society and Development, v. 11, n. 14, e238111436225, 2022.
111. DOS SANTOS, D. C.; et al. **Composição química, atividade citotóxica e antioxidante de um tipo de própolis da Bahia.** Quim. Nova, v. 40, n. 2, p. 171-175, 2017.
112. DO NASCIMENTO, T. G.; et al. **Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity.** Nanoscale Research Letters, v. 11, n. 1, p. 301, 2016.
113. ELZEIN, T.; et al. **FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces.** Journal of Colloid and Interface Science, v. 273, p. 381–387, 2004.
114. SAMBOU, M.; et al. **Extraction, Antioxidant Capacity, 5-Lipoxygenase Inhibition, and Phytochemical Composition of Propolis from Eastern Canada.** Molecules. v. 25, 2397, 2020.
115. DE VARGAS, A. C.; et al. **Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis.** Ciência Rural, Santa Maria, v.34, n.1, p.159-163, 2004.
116. DA SILVA, D. C. B.; et al. **Activity of Red Propolis in the control of bacteria in the oral cavity** **Actividad del propóleo rojo en el control de bacterias en la cavidad bucal.** Research, Society and Development, v. 10, n. 14, e58101420089, 2021.
117. JUNIOR, W. B.; et al. **Atividade antimicrobiana de frações da própolis vermelha de Alagoas, Brasil.** Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 33, n. 1, p. 03-10, 2012.
118. GOMES, F. F.; et al. **Atividade antibacteriana in vitro da própolis marrom.** Pesq. Vet. Bras. v.36, n.4, p.279-282, 2016.

119. MIRZOEVA, O. K.; et al. **Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bactéria.** Microbiol. Res. v. 152, p. 239-246, 1997.
120. COSTA, L. M. M. **Desenvolvimento e caracterização de membranas eletrofiadas a base de borracha natural e poli(ϵ –caprolactona).** Tese (Doutorado em Nanociências e Materiais Avançados). Universidade Federal do ABC, Santo André, 2014.
121. HERNÁNDEZ, A. R. ; et al. **Poly (ϵ -caprolactone) Degradation Under Acidic and Alkaline Conditions.** American Journal of Polymer Science, v. 3, n. 4, p. 70–75, 2013.
122. FARIA, P.C.; MARTIN, A.A.; ALVES, N. P. **Caracterização no Infravermelho (IV) e Eletrônica de superfície (MEV) de membranas assimétricas à base de Poli (acrilonitrila-co-acetato de vinila).** Revista Matéria, v.22, n.1, 2017.
123. LIU, H.; et al. **Hydrothermal synthesis of monodisperse Ag₂Se nanoparticles in the presence of PVP and KI and their application as oligonucleotide labes.** Journal of Materials Chemistry, v. 18, p. 2573-2580, 2008.
124. SCATOLINI, A. M. **Estudo de hidroxiapatita contendo própolis de origem brasileira: caracterização, atividade antimicrobiana e efeito citotóxico dos materiais.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2017.
125. PERSENAIRE, O.; et al. (2001). **Mechanisms and Kinetics of Thermal Degradation of Poly(ϵ -caprolactone).** Biomacromolecules, v.2, n.1, p. 288-294, 2001.
126. JABLONSKI, A. E.; et al. **Isoconversional kinetics of degradation of polyvinylpyrrolidone used as a matrix for ammonium nitrate stabilization.** Thermochimica Acta, v.474, p. 78–80, 2008.